

EFEITO DE *Beauveria bassiana* SOBRE *Cerotoma arcuata*
(OLIVIER, 1791) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) APÓS EXPOSIÇÃO DE
ESPOROS DO FUNGO A TUBÉRCULOS DE TAIUIÁ
(*Ceratosanthes hilariana*)¹

Bonifácio P. Magalhães²

Jeffrey C. Lord^{2,3}

Richard A. Daoust³

Donald W. Roberts³

ABSTRACT

Effect of *Beauveria bassiana* on *Cerotoma arcuata*
(Olivier, 1791) (Coleoptera: Chrysomelidae) after exposure of
spores to taiuiá tubers (*Ceratosanthes hilariana*)

The effects of exposure to the chrysomelid attracting tuber *Ceratosanthes hilariana* and bean leaves on the viability and pathogenicity of *Beauveria bassiana* were evaluated. Neither the bean surface nor slices of the tuber significantly affected the fungus viability or mortality of adult *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791) and subsequent sporulation on treated insects in the laboratory.

Recebido em 10/09/86

¹ Pesquisa realizada sob o convênio existente entre a EMBRAPA/CNPAF e o Instituto Boyce Thompson AID/CRSP/TITLE XII.

² Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF), EMBRAPA, Caixa Postal 179, 74000 Goiânia, GO.

³ Boyce Thompson Institute, Cornell University, Tower Road, Ithaca, NY 14853.

INTRODUÇÃO

Isolados do fungo entomógeno *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes, Moniliales), provenientes de várias regiões do Brasil (CONTROLE... 1984), têm demonstrado, através de bioensaios, alta patogenicidade a adultos de *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791), importante praga de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e caupi (*Vigna unguiculata*).

A cucurbitácea *Ceratosanthes hilariana*, vulgarmente conhecida como taiuiá, possui uma substância chamada cucurbitacina, com propriedades arrestantes e estimulantes de alimentação de *C. arcuata* e *Diabrotica speciosa* (NISHIDA *et al.*, 1986). Esta substância está presente também em outras espécies de cucurbitáceas que possuem características atrativas a outras espécies de crisomelídeos (METCALF *et al.*, 1980 e METCALF *et al.*, 1982). Assim, admite-se que foi devido ao cucurbitacina que tubérculos de taiuiá tratados com o inseticida metomil evidenciaram grande atratividade a *C. arcuata* e *D. speciosa* (YOKOYAMA *et al.*, 1982).

O taiuiá tem sido associado também com o fungo *B. bassiana* (DAOUST *et al.*, 1984), de modo que os insetos, além de se infectarem, passem também a disseminar o patógeno na área. Neste sentido, foi estudada a estabilidade de *B. bassiana* em taiuiá, demonstrando-se que fatias do tubérculo dessa planta oferecem melhores condições para manutenção da viabilidade dos esporos do fungo que cadáveres de *C. arcuata* e folhagem de caupi, mantidos em diferentes ambientes (DAOUST *et al.*, 1985).

Um aspecto importante, mas ainda não esclarecido, é a possível perda da patogenicidade de *B. bassiana* após certo tempo de exposição a tubérculos de taiuiá.

MATERIAL E METODOS

A manutenção da patogenicidade de *B. bassiana*, quando associado ao taiuiá, foi estudada através de um experimento (repetido três vezes) realizado de janeiro a setembro de 1985, no Centro Nacional de Arroz e Feijão (CNPAF), em Goiânia, Goiás.

Foi utilizado o isolado CP 5 de *B. bassiana*, originalmente isolado de *C. arcuata*, coletado no Estado do Amazonas e atualmente mantido na coleção de entomopatógenos do CNPAF. Este isolado apresentou a maior patogenicidade a *C. arcuata* entre os 11 isolados testados (CONTROLE... 1984). A multiplica-

ção do fungo foi feita em meio de cultura à base de batata, dextrose e ágar.

Os esporos de *B. bassiana* foram expostos a quatro diferentes condições (tratamentos): 1) sobre 20 fatias circulares de tubérculos de taiuiá, de 2,5 cm de diâmetro por 0,5 cm de espessura, que foram submersas numa suspensão de 50 ml, contendo 2 gramas de esporos, ou seja, cerca de 2×10^{11} esporos, mais Tween 80 (0,5%) e, em seguida, fixadas por alfinetes a um suporte de isopor; 2) sobre 6 plantas de feijão cultivadas em vasos de plástico, com cerca de 30 dias de idade, que foram pulverizadas com uma suspensão de cerca de 10^{11} esporos/ml, na base de 1 ml por trifolíolo, por meio de um micropulverizador adaptado a partir de um pincel a ar, marca Paasche, tipo H, com 13 litros de fluxo de ar/minuto, de modo a permitir a recuperação de quantidade suficiente de esporos; 3) esporos puros, em pó (apenas nos 2 primeiros experimentos); 4) suspensão contendo 1 g de esporos em forma de pó/50 ml de água + Tween 80 (0,5%).

As fatias de taiuiá e as plantas de feijão foram mantidas em incubadora a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, durante quatro dias, enquanto os esporos, em forma de pó e em suspensão, foram mantidos em recipientes de vidro, pelo mesmo período, em refrigerador, a 4°C .

Os esporos foram recuperados com o auxílio de um becker, com capacidade para 50 ml, contendo 10 ml de água destilada e Tween 80 (0,5%), mergulhando-se as fatias de taiuiá na água, e removendo-se os esporos com um pincel. Em cada experimento o material recuperado de 10 fatias, em 10 ml de água, proporcionou uma concentração de 10^9 esporos/ml. Procedimento semelhante foi adotado para recuperação dos esporos das folhas (cerca de $1,4 \times 10^9$ /ml), sendo que, para a remoção, ao invés de pincel, foi utilizado um cotonete de algodão. O cotonete permitiu uma recuperação mais eficiente que o pincel, em relação ao número de esporos.

Após a exposição e recuperação dos esporos, foram feitos, para os 4 tratamentos, um teste de viabilidade e uma padronização de dosagem para 5×10^8 esporos viáveis/ml. Foi adotado o delineamento de tratamentos inteiramente casualizados, com 10 repetições. A parcela constituiu-se de uma placa de Petri, de 9 cm de diâmetro por 2 cm de altura, contendo 5 insetos. O fungo foi pulverizado diretamente numa suspensão de 0,3 ml (cerca de 14.300 esporos/ mm^2) por grupo de 5 adultos de *C. arcuata*, previamente anestesiados com CO_2 , utilizando do uma torre calibrada para 13 litros de fluxo de ar por minuto.

Foi registrado o número de insetos mortos aos 3,6/7 e 9/10 dias após a aplicação dos tratamentos. A confirmação de infecção foi feita através da observação de esporulação externa.

na do fungo em cadáveres mantidos em placas de Petri com papel de filtro umedecido. A análise estatística dos dados de mortalidade de insetos foi feita individualmente por experimento, enquanto que com os dados de insetos infectados foi feita uma análise conjunta. As médias de mortalidade foram ajustadas de acordo com o número de repetições, usando-se o processo dos quadrados mínimos (RAY, 1982) e comparados pelo teste t. As médias de infecção foram comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade dos esporos de *B. bassiana* praticamente não se alterou (Quadro 1), em função da exposição sob diferentes condições. Nos experimentos 1 e 2, os esporos expostos sobre fatias de taiuiá apresentaram valores superiores aos encontrados inicialmente antes da exposição, enquanto que sobre folhas de feijão os valores foram mais reduzidos nos ensaios 1 e 3. A causa mais provável deste resultado pode estar relacionada com a natureza dos componentes químicos da folhagem, que afetariam a viabilidade, muito embora as informações sobre o assunto sejam bastante escassas (ROBERTS & CAMPBELL, 1977).

QUADRO 1 - Viabilidade de esporos de *Beauveria bassiana* antes e após exposição, durante quatro dias, sob diferentes condições.

Condições de exposição	Viabilidade (%)		
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
<u>Antes da exposição</u>	97	86	99
<u>Após a exposição em</u>			
Folhas de feijão	72	91	84
Fatias de tubérculos de taiuiá	99	96	94
Esporos puros em pó	100	98	-
Esporos puros em suspensão	100	94	98

A comparação das porcentagens médias de mortalidade e infecção (Quadros 2 e 3), considerando os diferentes dias de avaliação, demonstra que as diferenças entre os tratamentos, com exceção da testemunha, são mínimas. Em quase todos os levantamentos, foi constatado que os esporos expostos ao taiuiá provocaram mortalidade e infecção confirmadas, significativamente iguais aos esporos em folhas de feijão. Inclusive, aos 9/10 dias (último levantamento), a mortalidade e infecção, confirmadas em taiuiá, mantiveram-se significativamente maiores que na testemunha, em que, também, observou-se uma alta mortalidade. Entretanto, este alto índice de mortalidade na testemunha provavelmente não foi relacionado com a doença provocada pelo patógeno, mas, sim, com o efeito do stress decorrente da manipulação e anestesia dos insetos com CO₂, especialmente no experimento 3, onde, mesmo com valores inferiores, a testemunha não diferiu significativamente dos demais tratamentos, exceto taiuiá, aos 9/10 dias.

Os resultados permitem concluir que a exposição de esporos de *B. bassiana* a tubérculos de taiuiá, nas condições do experimento, não afetou a viabilidade nem a patogenicidade do fungo. Considerando que o fungo, associado ao taiuiá para controle de *C. arcuata*, deve ficar exposto no campo, pesquisas sobre sua patogenicidade, nestas condições, são ainda necessárias.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. José Francisco da Silva Martins, pela revisão do texto e sugestões apresentadas, ao Dr. Francisco José P. Zimmermann, pela análise estatística e ao Técnico de Laboratório Sebastião Martins dos Santos, pela ajuda na condução dos experimentos.

QUADRO 2 - Mortalidade (%) de adultos de *Ceratomyxa arcuata* tratados com *Beauveria bassiana* cujos esporos foram expostos durante quatro dias sob diferentes condições.

Condições de exposição ¹	Dias		
	3	6/7	9/10
EXPERIMENTO 1			
Folhas de feijão	21 a	44 b	87 a
Fatias de tubérculos de taiuiã	24 a	85 a	98 a
Esporos puros em pó	34 a	74 ab	94 a
Esporos puros em suspensão	36 a	85 a	92 a
Testemunha	0 b	4 c	37 b
EXPERIMENTO 2			
Folhas de feijão	11 a	87 a	96 ab
Fatias de tubérculos de taiuiã	7 a	60 a	91 ab
Esporos puros em pó	4 a	63 a	82 b
Esporos puros em suspensão	9 a	83 a	100 a
Testemunha	2 a	23 b	57 c
EXPERIMENTO 3			
Folhas de feijão	9 a	71 a	96 ab
Fatias de tubérculos de taiuiã	14 a	47 a	100 a
Esporos puros em suspensão	12 a	61 a	96 ab
Testemunhas	3 a	35 a	77 b

¹ As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de t, ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 3 - Infecção (%) confirmada, em adultos de *Cerotoma arcuata*, causada por *Beauveria bassiana* cujos esporos foram expostos durante quatro dias sob diferentes condições.

Condições de exposição	Experimentos ¹		
	1	2	3
Folhas de feijão	10 a	53 ab	16 a
Fatias de tubérculos de taiuiã	9 a	62 a	12 a
Esporos puros em pó	7 a	40 b	-
Esporos puros em suspensão	14 a	36 b	12 a
Testemunha	0 b	0 b	0 b

¹ As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

LITERATURA CITADA

- CONTROLE microbiológico de pragas. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Arroz e Feijão, Goiânia, GO. *Relatório Científico-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão*. Goiânia, 1984. p.354-372.
- DAOUST, R.A.; FERNANDES, P.M.; MAGALHÃES, B.P.; YOKOYAMA, M. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* applied to cowpea foliage and cucurbitacid tubers, *Cayaponia* sp., to adult *Dia brotica speciosa* and *Cerotoma* sp. (Coleoptera, Chrysomelidae) in Brazil. In: SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY ANNUAL MEETING, 17., Davis, California, USA, 1984. p.40-41. (Abstract).
- DAOUST, R.A.; PEREIRA, R.M.; ROBERTS, D.W. The survival of conidia of entomogenous fungi on insect cadavers, cowpea foliage and beetle-attracting tubers in Brazil. In: SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY ANNUAL MEETING, 18. Sault Ste. Marie, Ontario, Canada, 1985. p.32 (Abstract).

- METCALF, R.L.; METCALF, R.A.; RHODES, A.M. Cucurbitacins as kairomones for diabroticite beetles. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 77(7): 3769-3772, 1980.
- METCALF, R.L.; RHODES, A.M.; METCALF, R.A.; FERGUSON, J.; METCALF, E.R.; PO-YUNG LU. Cucurbitacin contents and disbroctite (Coleoptera: Chrysomelidae) feeding upon *Cucurbita* spp. *Environ. Ent.* 11(4): 931-937, 1982.
- NISHIDA, R.; FUKAN, H.; TANAKA, Y.; MAGALHÃES, B.P.; YOKOYAMA, M.; BLUMENSCHIEIN, A. Isolation of feeding stimulants of Brazilian leaf beetles (*Diabrotica speciosa* and *Cerotoma arcuata*) from the root of *Ceratostanthes hilariana* (Mimeografado). 1986.
- RAY, A.A., ed. *SAS user's guide; statistics*. Cary, North Carolina, SAS Institute, 1982. 584p.
- ROBERTS, D.W. & CAMPBELL, A.S. Stability of entomopathogenic fungi. *Ent. Soc. Am. Misc. Publ.* 10(3): 19-76, 1977.
- YOKOYAMA, M.; FERREIRA, E.; CARVALHO, J.R.P. de. Combinação de métodos no controle de vaquinhas *Diabrotica speciosa* e *Cerotoma* sp. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1., Goiânia, Goiás, 1982. *Anais...* Goiânia, EMBRAPA/CNPAF, 1982. p.269-270 (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 1).

RESUMO

Os efeitos da exposição de esporos de *Beauveria bassiana*, por um período de quatro dias, a tubérculos de taiuiã (*Ceratostanthes hilariana*) e folhas de feijão, foram avaliados com relação à viabilidade dos esporos e à patogenicidade a adultos de *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791). O taiuiã e a folhagem de feijão não diferiram significativamente quanto à viabilidade, patogenicidade e subsequente esporulação do fungo em insetos tratados e mantidos em laboratório.