

4.06- EFICIÊNCIA DE *Beauveria bassiana* (BALS) VUILL FORMULADO EM ÓLEO NO CONTROLE DE *Hedypathes betulinus* (KLUG) (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE) EM CAMPO.

Maria S. P. Leite¹ Edson T. Iede², Susete R.C. Penteado², Scheila R. M. Zaleski², Joelma M. M. Camargo³ e Rodrigo D. Ribeiro³

Resumo

Hedypathes betulinus, é a principal praga da cultura da erva-mate. Para o seu controle, avaliou-se em campo, a utilização de diferentes formulados do fungo *Beauveria bassiana* em óleo emulsionado. O experimento foi instalado em um erval com intenso ataque da praga, com delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo, duas concentrações de óleo (0,5 e 1%), três concentrações de conídios de *B. bassiana* (10^6 ; 10^7 ; 10^8 conídios ml^{-1}) e a testemunha. Os formulados foram aplicados no tronco da erva e após cinco dias da aplicação, as ervas tratadas foram inspecionadas e todos os insetos encontrados foram coletados e transportados para o laboratório, para o registro da mortalidade. O formulado 10^7 conídios ml^{-1} na concentração de 0,5% de óleo foi o que obteve o melhor desempenho causando infectividade de 76 %, apresentando resultados promissores para a utilização no Manejo Integrado de *H. betulinus*.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*, broca-da-erva-mate, controle biológico, fungo entomopatogênico, erva-mate.

EFFICIENCY OF *Beauveria bassiana* (BALS) VUILL IN OIL FORMULATIONS FOR THE CONTROL OF *Hedypathes betulinus* (KLUG) (COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE) IN FIELD.

Abstracts

Hedypathes betulinus, is the main pest of yerba mate. For its control, the use of the fungus *Beauveria bassiana* formulated in emulsified oil was tested in the field. The experiment was installed in a plantation with intense attack of the pest, establishing blocks with six treatments and four repetitions, where two oil concentrations (0.5 and 1%), three concentrations of conidia of *B. bassiana* (10^6 ; 10^7 ; 10^8 conidia ml^{-1}) and the control was tested. The fungus formulated were applied in the plant's log and after five days the treated plants were inspected and all insects found were collected and transported to the laboratory, for the mortality's record. The fungus formulated with 10^7 conidia ml^{-1} in the concentration of 0.5% of oil, presented the best performance, causing infectivity of 76% of the pest, presenting promising results for the use in the Integrated Management of *H. betulinus*.

key words: *Ilex paraguariensis*, erva-mate borer, biological control, entomopathogenic fungus, yerba mate.

Introdução

Na condição de árvore nativa, a erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) apresenta uma ampla gama de artrópodes associados. Iede & Machado (1989), citaram a ocorrência de 86 espécies de insetos alimentando-se de diferentes partes da erva, entretanto, a broca-da-erva-mate, *Hedypathes betulinus*, (Klug, 1825), (Coleoptera: Cerambycidae) é uma das espécies que têm apresentado maior importância. No Brasil, ocorre em toda a região de distribuição da erva-mate. Moretti (1985), citado por Cassanello (1992) refere-se a este inseto como uma séria praga dos ervaais do Paraguai. Segundo Diaz (1997), na Argentina, a broca-da-erva-mate distribuiu-se desde o centro até o norte da Província de Misiones.

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill tem sido testada em diversos cerambycídeos, adultos de *Plectrodera scalator* (Coleoptera: Cerambycidae), praga de *Populus deltoides* no Kentucky, Estados Unidos, atingindo porcentagens de mortalidade superiores a 60%

(Forschler & Nordin, 1989). No Paquistão, Arshad & Hafiz (1983), testaram *B. bassiana* em *Aeolesthes sarta* Solsky (Coleoptera: Cerambycidae), no laboratório, apresentando mortalidade, induzida pelo fungo de 94%. Na China, *B. bassiana* tem sido produzida em larga escala e utilizada no controle de mais de 30 espécies de pragas florestais e agrícolas (Feng *et al.* 1994).

A possibilidade de utilização de fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok para o controle dessa praga foi citada por Soares *et al.* (1995) e Soares & Iede (1997), os quais acrescentaram que quando estes organismos são utilizados adequadamente, possivelmente implicarão em baixo impacto ambiental, não deixando resíduos nos produtos, sendo remotas as chances de intoxicação de trabalhadores. O fungo *B. bassiana* foi testado em laboratório por Pagliosa *et al.* (1994), apresentando infectividade de 73,4% (isolado CG 152), sendo indicado pelos autores como a mais eficiente para o controle de *H. betulinus*. Leite *et al.* (2000) isolaram uma cepa de *B. bassiana* de adultos de *H. betulinus* coletados em campo, a qual foi incorporada e catalogada na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, como CG716. Este isolado foi comparado com outros de *Beauveria* spp. e um de *M. anisopliae*, apresentando-se como o mais eficiente, com infectividade de 94,1% em laboratório e 100% no campo. Wilcken *et al.* (2002) relataram a ocorrência no Brasil dos fungos entomopatogênicos *B. brongniartii* e *Hirsutella* sp. infectando adultos de *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae).

Como estes microorganismos são muito sensíveis quando utilizados em condições de campo, é de extrema importância que sejam formulados para se obter uma maior sobrevivência no ambiente. Entende-se como formulação do fungo quando um fungo entomopatogênico é misturado com outro ingrediente que contribui para a viabilidade, virulência, eficácia e proteção do agente de controle microbiano e aceitação do produto para ser usado (Couch & Ignoffo, 1981). Vários trabalhos demonstram que a formulação de fungos entomopatogênicos à base de óleo é superior às suspensões à base de água, especialmente locais onde teores de umidade são baixos (Bateman *et al.*, 1993). Formulações em óleo prolongam a sobrevivência do conídio e diminuem a sensibilidade a radiações UV, quando comparados com suspensões aquosas (Inglis *et al.*, 1995). O óleo favorece a adesão dos conídios em substratos de armadilhas e superfícies hidrofóbicas da cutícula dos insetos e das plantas (Johnson & Goettel, 1993; Prior & Jollands, 1988). Vários estudos vêm sendo realizados com formulações de fungos à base de óleo no controle de gafanhotos e grilos, sendo a aplicação normalmente com pulverizador de ultra-baixo-volume. (Bateman *et al.*, 1993; Bateman *et al.*, 1994).

Diante do grande potencial de controle de *H. betulinus* com fungos entomopatogênicos, realizou-se o presente estudo com o objetivo de avaliar a eficiência de formulados em óleo emulsionado à base de *B. bassiana* em campo.

Material e Métodos

O experimento foi instalado em um erval comercial com cinco anos de idade, com espaçamento de 1,4 x 2,7 m, 2958 plantas ha⁻¹, com intenso ataque da praga, apresentando média de dois adultos de *H. betulinus* por erveira. A área experimental era de 6.986 m², contendo 1.848 plantas.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições. Duas concentrações de óleo emulsionado e três concentrações de conídios do isolado CG 716 de *B. bassiana* foram testados a campo. Os tratamentos foram os seguintes: T1-10⁶ conídios ml⁻¹ e 0,5% de óleo; T2-10⁶ conídios ml⁻¹ e 1,0% de óleo; T3-10⁷ conídios ml⁻¹ e 0,5% de óleo; T4-10⁷ conídios ml⁻¹ e 1,0 % de óleo; T5-10⁸ conídios ml⁻¹ e 0,5% de óleo e T6-testemunha. Antes da aplicação foram colocados três adultos de *H. betulinus* em cada erveira, os quais foram marcados nos élitros com caneta de retrojato com diferentes cores indicando o tratamento.

Os formulados foram diluídos em água e aplicados no tronco da erveira, com um pulverizador costal, durante 15 segundos, utilizando-se 150 ml planta⁻¹. A aplicação foi realizada, nas parcelas, em todas as plantas (77 erveiras), porém a avaliação foi conduzida em apenas nove erveiras, as demais serviram como bordadura, totalizando 216 erveiras avaliadas. No Tratamento testemunha não foi realizado nenhuma aplicação, pois testes preliminares não indicaram diferenças no percentual de mortalidade dos tratamentos sem aplicação, 0,5 % e 1% de óleo. Após cinco dias da aplicação, as erveiras tratadas foram inspecionadas e todos os insetos encontrados foram coletados e transportados para o laboratório, para o registro da mortalidade.

Os insetos foram individualizados em copos plásticos, sendo ofertado como alimento ramos de erva-mate e mantidos em salas com temperatura ambiente. As avaliações foram diárias, durante 90

dias. Após morte dos insetos, estes foram imersos em álcool 70% e água destilada e posteriormente individualizados em câmara úmida, para se observar a extrusão do fungo e a confirmação do agente causal. O experimento foi conduzido em sala climatizada, com médias de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A análise estatística foi baseada na comparação de médias e intervalo de confiança.

Resultados e Discussão

A eficiência dos formulados foi avaliada mediante a porcentagem de mortalidade de adultos de *H. betulinus* infectados por *B. bassiana*. Os tratamentos com os formulados obtiveram infectividade de 44,0 a 76,6% em adultos de *H. betulinus* (Figura 1). A testemunha apresentou 2,7 % de infectividade natural de diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Comparando-se a eficiência na concentração de óleos dos formulados os tratamentos T1- 10^6 -0,5% e T2- 10^6 -1,0% não diferiram estatisticamente apresentando infectividades de 44 e 52,3 %, respectivamente. Os tratamentos T3- 10^7 -0,5% e T4- 10^7 -1,0% também não diferiram estatisticamente entre si apresentando infectividades de 76 e 62,5 %, respectivamente.

Quando se compara a infectividade dos formulados em relação à concentração de conídios (Figura 1), pode se observar que o tratamento T2- 10^6 -1%, que infectou 52,3%, diferiu estatisticamente dos tratamentos T3- 10^7 -0,5% e T5- 10^8 -0,5% que infectaram 76 e 76,6%, respectivamente. Os dados indicam que maiores concentrações de conídios causaram infectividades superiores, o tratamento T2 apenas não diferiu estatisticamente do tratamento T4- 10^7 -1% (62,5%), porém apresentou porcentagem de mortalidade superior. Não houve diferença significativa entre o tratamento T3- 10^7 -0,5% e o T5- 10^8 -0,5%, apresentando 76,0 e 76,6% de infectividade, respectivamente. Neste caso quando se aumentou a concentração de conídios a infectividade não foi superior indicando que a concentração de 10^7 conídios/ ml^{-1} é suficiente para causar níveis satisfatórios de redução populacional da praga.

Leite *et al.* (2000) testaram este mesmo isolado de *B. bassiana* sem formulação na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} em campo e obtiveram um percentual de mortalidade de 100%. Este resultado pode ser atribuído ao fato do fungo ter sido aplicado em toda a erva (300 ml/erva), e não apenas no tronco da erva, como utilizado neste experimento, restringindo a área de contato do fungo com os insetos, bem como a concentração de conídios por erva. Como os adultos de *H. betulinus* têm o hábito de caminhar e ovipositar no tronco da erva a aplicação do fungo direcionada a esse local é estratégico para atingir o inseto.

Este tipo de aplicação também limita a infecção de outros insetos associados às folhas e galhos da erva-mate, principalmente aos inimigos naturais, além de não deixar resíduos nas folhas. O objetivo do controle microbiano é o controle da praga a um nível populacional que não chegue a ponto de ser prejudicial, pois a presença destes insetos é favorável para o desenvolvimento de predadores, parasitóides e patógenos que estão presentes no agroecossistema (Alves *et al.*, 1998).

O T3 causou 76% de infectividade, tendo sido aplicado apenas no tronco das erva, esta infectividade pode ser atribuída a vários fatores, principalmente à formulação do fungo em óleo que auxilia na sobrevivência do conídio e sua aderência na cutícula do inseto. A adição de 10% do óleo emulsionado Codacide® e Natur'l oil® também aumentou a eficiência de *Metarhizium anisopliae* em formulações para larvas de *Tenebrio molitor* quando comparada com formulações convencionais à base de água mais 0,05 % de Tween 80 (Moore *et al.*, 1993).

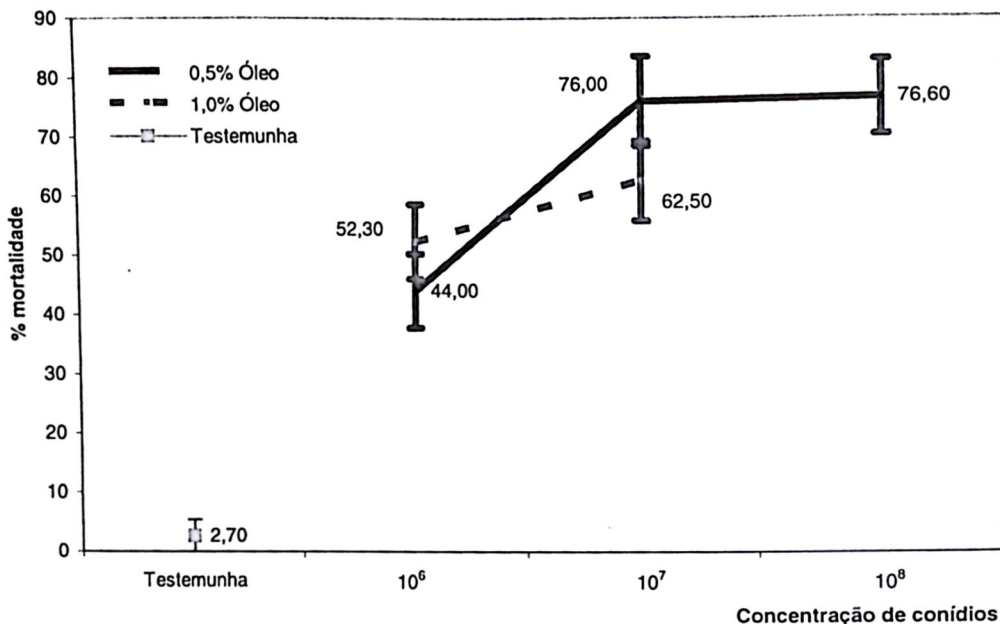


Figura 1: Eficiência de formulados à base *Beauveria bassiana* sobre adultos de *Hedypathes betulinus* em um plantio comercial de erva-mate.

Conclusão

O aumento na concentração de óleo de 0,5 para 1% não influenciou na eficiência dos formulados.

O formulado T3 (10^7 conídios/ml⁻¹ e 0,5% de óleo) foi o mais eficiente no controle de *H. betulinus*, infectando 76% dos insetos avaliados, além de ser uma formulação produtivamente mais viável.

Devido ao grande potencial de regulação populacional, o bioiseticida à base de *B. bassiana*, apresenta uma alternativa promissora para a utilização no Manejo Integrado de *H. betulinus* na cultura da erva-mate.

Agradecimentos

A Sr. Paulo Corrêa pela concessão da área experimental na região de Campo Alegre, SC.

Referências bibliográficas

- Alves, S.B. Microorganismos associados a insetos. In: S.B. Alves, Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba, Fealq, p.75-96, 1998.
- Arshad, M. & Hafiz, I.A. Microbial trials of a pathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the adults of *Aeolesthes sarta*. Pakistan Journal of Zoology 15, 213-215, 1983.
- Bateman, R. P.; Carey, M.; Moore, D.; Prior, C. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locust at low humites. Annals of Applied Biology 122, 145-152, 1993.

- Bateman, R. P.; Price, R. E., Muller, E. J.; Brown, H.D. Controlling brown locust hopper bands in South Africa with a myco-insecticide spray. In: Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference. Pest and Diseases - 1994, ed. BCPC. BCPC, Farnham. Surrey, pp. 609-616, 1994.
- Cassanello, A.L. Ciclo de vida e aspectos morfológicos de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae, Lamiinae) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill). UFPR. Curitiba. Tese de mestrado, 1992.
- Couch, T. L.; Ignoffo, C.M. Formulation of insect pathogens. In Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. ed. Burges, H. D. Academic Press, London. Pp. 621-634, 1981.
- Diaz, C. Y. F. Perspectivas del manejo integrado de plagas en hierba mate. In: Congresso sul-americano da erva-mate; reunião técnica do cone sul sobre a cultura do da erva-mate (1: 1997: Curitiba). Anais. Colombo: Embrapa CNPF, 371-390, 1997.
- Feng, M. G.; Poprawski, T.J.; Khachatourians, G.G. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. **Biocontrol Science and Tecnology 4,3-34, 1994.**
- Forschler B.T.; Nordin G.L. Comparative pathogenicity of selected entomogenous nematodes to the hardwood borers, *Prionoxystus robiniae* (Lepidoptera: Cossidae) and *Megacyllene robiniae* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Invertebrate Pathology*. 52: (2) 343-347, 1988.
- Iede, E.T.; Machado, D. Pragas da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e seu controle. *Boletim de Pesquisa Florestal, EMBRAPA, Colombo*, 18/19: 51-60, 1989.
- Inglis, G. D.; Johnson, D. L.; Goettel, M.S. Effects of simulated rain on the persistence of *Beauveria bassiana* on leaves of alfafa and wheat. *Biocontrol Science and Technology* 5: 365-369, 1995.
- Johnson, D.L.; Goettel, M.S. Reduction of grasshopper populations following field application of the fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology* 3: 165-175, 1993.
- Leite, M. S. P.; Soares, C.M.S.; Iede, E.T.; Penteado, S.R.C.; Castellano, C. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae) em laboratório e eficiência do isolado selecionado em campo. In: Congresso Sul-americano da erva-mate; reunião técnica do cone sul sobre a cultura do da erva-mate. Anais, 2000.
- Moore, D.; Bridge P. D.; Higgins P. M.; Bateman R. P.; Prior C. Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Ann. Appl. Biol.* 122: 605-616, 1993.
- Pagliosa, M. M. R.; Dos Santos. H.R.; Diodato, M.A. Patogenicidade do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., em *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) praga da erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hill. *Agrárias, Curitiba*, 13 (12):229-231, 1994.
- Prior, C., Jollands, P. & Le Patourel, G. Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 52, 66-72, 1988.
- Soares, C. M. S.; Iede, E. T.; Santos, H. R. Levantamento de insetos predadores de adultos da broca-da-erva (*Hedypathes betulinus*) (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae). In: V SICONBIOL., Simposio de Controle Biológico. (Anais) p.80, 1995.
- Soares, C. M. S.; Iede, E.T. Perspectivas para o controle da broca da erva-mate *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Col.: Cerambycidae) In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate: Reunião Técnica do Cone Sul sobre a Cultura da Erva-Mate 91: 1997: Curitiba). Anais. Colombo-EMBRAPA-CNPF, 391-400, 1997.
- Soares, C. M. S. Flutuação populacional, aspectos comportamentais e levantamento de inimigos naturais de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae) em um povoamento puro de erva-mate (*Ilex paraguariensis* ST. Hil.). UFPR, Curitiba. Tese de Doutorado. 1998.
- Wileken, C. F.; Berti Filho, E.; Ottati, A. L. T.; Firmino, D. C.; Couto, E. B. Ocorrência de *Phoracantha recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) em eucalipto no Estado de São Paulo, Brasil. *Scientia Forestalis, Piracicaba, IPEF*, n. 62, p. 149-153, 2002.