

Revigoração e Patogenicidade do Isolado CPATC 032 do Fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana*

Yasmim Nunes Carvalho¹; Francisco José dos Santos²; Adenir Vieira Teodoro³

Resumo

O coqueiro é atacado por diversas pragas, dentre as quais a broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum*, responsável por redução de produtividade. Uma forma de controlar essa praga é a utilização de agentes biológicos como o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* que tem demonstrado excelente potencial de controle do *R. palmarum*. O presente trabalho teve como objetivo a revigoração e determinação da viabilidade e patogenicidade do isolado CPATC 032 de *B. bassiana* à broca-do-coqueiro com vistas ao seu uso posterior em estudos de formulação de bioinseticidas. A viabilidade estimada por meio da contagem do número de conídios germinados e não germinados após período de 24 horas. As concentrações letais (CLs) foram estimadas por análise de Probit a partir de dados de mortalidade de adultos de *R. palmarum* submetidos a concentrações crescentes de *B. bassiana* utilizando uma torre de Potter. A CL₅₀, concentração letal de conídios necessários para matar 50% da população, e um importante parâmetro de toxicidade foi estimada em $2,3 \times 10^8$ enquanto que a concentração $4,6 \times 10^{10}$ foi suficiente para causar a morte de 95% dos insetos pulverizados (CL₉₅). A curva de concentração-mortalidade seguiu uma sigmoide com o aumento da mortalidade de *R. palmarum* com a concentração de conídios do fungo *B. bassiana*. O isolado CPATC 032 do fungo entomopatogênico *B. bassiana* apresenta alta viabilidade de conídios e patogenicidade à broca-do-coqueiro *R. palmarum* e portanto pode ser usado no controle biológico dessa praga.

¹ Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe, bolsista da FAPITEC/PIBITI, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, yasmimncarvalho@gmail.com.

² Analista A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, francisco.j.santos@embrapa.br.

³ Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador A da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, adenir.teodoro@embrapa.br.

Introdução

O coqueiro *Cocos nucifera* é uma importante cultura do Norte e Nordeste do Brasil no contexto socioeconômico e ambiental dessas regiões. A broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas do coqueiro no Brasil e tem provocado perdas na produção (FERREIRA et al., 1998; FERREIRA; MICHEREFF FILHO 2002; EPPO 2005). A fêmea da broca-do-coqueiro penetra as partes mais tenras da planta, onde coloca os seus ovos. As larvas desenvolvem-se no interior da planta formando galerias no meristema apical resultando em sua morte enquanto os besouros adultos são vetores de nematoides que causam a doença conhecida como anel vermelho (FERREIRA et al., 1998; EPPO 2005). O controle químico ainda é uma das principais formas de combate de pragas do coqueiro, causando aumento no custo de produção e problemas como surtos de novas pragas, surgimento de resistência aos produtos químicos utilizados, intoxicações dos operários e animais, danos ambientais e riscos à saúde dos consumidores (FERREIRA et al., 1998; GEIGER et al., 2011). O controle microbiano de pragas com fungos entomopatogênicos, como *Beauveria bassiana*, é uma alternativa que auxilia na recuperação do equilíbrio do agroecossistema e contribui para manter a população da praga abaixo do nível de dano econômico (ALVES 1998; GALLO et al., 2002; DALZOTO; UHRY 2009). O controle de pragas com agentes biológicos possibilita a redução e/ou eliminação de pesticidas sintéticos nas lavouras, aumentando assim a proteção ambiental (AHMED et al., 1994; MICHEREFF FILHO et al., 2009; MORAES et al., 2010). Nesse contexto, esse trabalho objetivou a revigoração e determinação da viabilidade e patogenicidade do isolado CPATC 032 do fungo *B. bassiana* sobre a broca-do-coqueiro com vistas ao seu uso posterior em estudos de formulação de bioinseticidas.

Material e Métodos

Coletas periódicas de adultos de *R. palmarum* foram realizadas em coqueirais da região de Neópolis – SE. Os insetos foram levados ao laboratório e mantidos em recipientes plásticos com pedaços de cana-de-açúcar como alimento. O isolado CPATC 032 do fungo *B. bassiana* foi cultivado em meio BDA por isolamento monospórico, e produções de matrizes e massal foram realizadas em substrato de arroz parboilizado. O substrato colonizado foi desumidificado em ambiente climatizado a aproximadamente 26 °C e 30% de umidade relativa, e os conídios foram obtidos por separação mecânica, sendo submetidos em seguida à

dessecação e logo após análise microscópica de rendimento e germinação. Para a determinação da viabilidade, suspensões de conídios contendo Tween a 0,05% foram preparadas. Posteriormente foram preparadas diluições seriadas da suspensão (10^{-1} a 10^{-3}). Uma gota de cada suspensão foi espalhada em placa de Petri com meio BDA e as placas foram colocadas em BOD a 26 °C para posterior contagem do número de conídios germinados e não germinados após 24 horas para determinação da viabilidade. Os bioensaios de patogenicidade foram realizados em laboratório para determinação de concentrações letais (CLs) de *B. bassiana* a adultos de *R. palmarum*. Os insetos adultos foram pulverizados utilizando uma torre de Potter (Potter 1952) com concentrações crescentes do isolado CPATC 032 de *B. bassiana* e diariamente avaliados quanto à mortalidade ao longo de três semanas. Foram realizadas cinco concentrações com dez repetições cada uma. Os adultos de *R. palmarum* foram colocados em recipientes plásticos, contendo um casal em cada recipiente, e alimentados com pedaços de cana-de-açúcar. Os dados de mortalidade em função da concentração de *B. bassiana* foram submetidos à análise de Probit por meio do procedimento PROC PROBIT (SAS INSTITUTE 2002). A infecção foi confirmada em câmara úmida.

Resultados e Discussão

A viabilidade de conídios do isolado CPATC 032 foi de 99,2% em condições padronizadas de laboratório. As concentrações letais de conídios de *B. bassiana* a adultos da broca-do-coqueiro são apresentadas na Tabela 1 e na Figura 1. A CL_{50} , concentração letal de conídios necessários para matar 50% da população, e um importante parâmetro de toxicidade (OLIVEIRA et al., 2010) foi estimada em $2,3 \times 10^8$ enquanto que a concentração $4,6 \times 10^{10}$ foi suficiente para causar a morte de 95% dos insetos pulverizados (CL_{95}) (Tabela 1, Figura 1). A curva de concentração-mortalidade seguiu uma sigmoide com o aumento da mortalidade de *R. palmarum* com a concentração de conídios do fungo *B. bassiana* (Figura 1).

Tabela 1. Toxicidade de conídios do fungo *Beauveria bassiana* à broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* ($n = 34$, $\chi^2 = 0,22$, $P = 0,89$). Concentrações letais (CLs) estimadas com base em bioensaios de concentração-mortalidade usando análises de Probit. IC = Intervalo de Confiança.

CL_5 (95% IC)	CL_{10} (95% IC)	CL_{25} (95% IC)	CL_{50} (95% IC)
$1,1 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$2,6 \times 10^7$	$2,3 \times 10^8$
($1,9 \times 10^4$ - 80×10^6)	($1,3 \times 10^5$ - $1,9 \times 10^7$)	($2,8 \times 10^6$ - $9,5 \times 10^7$)	($6,1 \times 10^7$ - $7,8 \times 10^8$)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

CL ₇₅ (95% IC)	CL ₉₀ (95% IC)	CL ₉₅ (95% IC)
2x10 ⁹	1,4x10 ¹⁰	4,6x10 ¹⁰
(6,2x10 ⁸ -1,3x10 ¹⁰)	(3,2x10 ⁹ -2,7x10 ¹¹)	(8,1x10 ⁹ -1,8x10 ¹²)

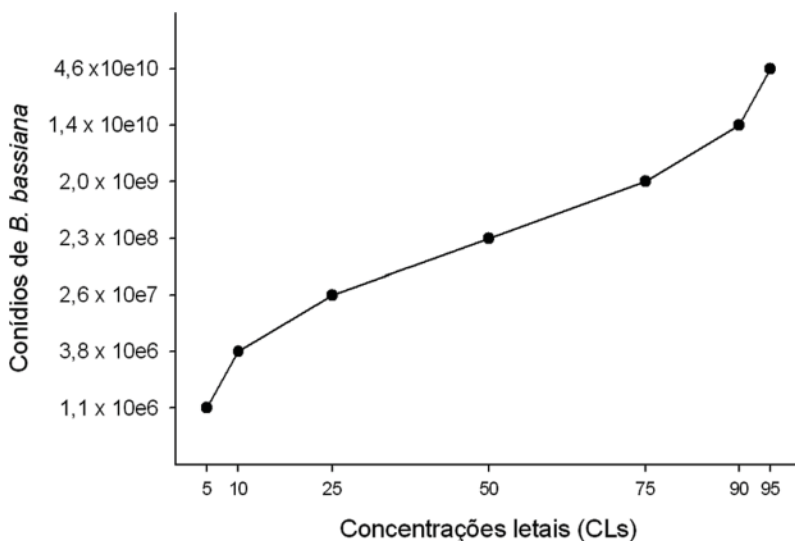


Figura 1. Curva de concentração letal de conídios do fungo *Beauveria bassiana* à broca-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* de acordo com análises de Probit.

Conclusões

O isolado CPATC 032 do fungo entomopatogênico *B. bassiana* apresenta alta viabilidade de conídios e patogenicidade à broca-do-coqueiro *R. palmarum* e portanto pode ser usado no controle biológico dessa praga.

Referências

AHMED, S. I.; LEATHER, S. R. Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management – some points for consideration. *International Journal of Pest Management*, London, v. 40, p. 287-292, 1994.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba, SP: FEALQ, 1998. p. 289-370.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). *Rhinchophorus palmarum*. **Bulletin OEPP/EPPO**, Paris, v. 35, p. 468-471, 2005.

FERREIRA, J. M. S.; MICHEREFF FILHO, M. (Ed.). **Produção integrada do coco: práticas fitossanitárias**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 107 p.

GALLO, D.; NAKANO O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VEDRAMIN, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2002. . 649 p.

GEIGER, F.; BENGTTSSON, J.; WEISSER, W. W.; EMMERSON, M.; MORALES, M. B.; CERYGIER, P.; LIIRA, J.; TSCHARNTKE, T.; WINQVIST, C.; EGGERS, S.; BOMMARCO, R.; PAERT, T.; BRETAGNOLLE, V.; PLANTEGEEST, M.; CLEMENT, L. W.; DENNIS, C.; PALMER, C.; OÑATE, J. J.; GUERRERO, I.; HAWRO, V.; AAVIK, T.; THIES, C.; FLOHRE, A.; HAENKE, S.; FISCHER, C.; GOEDHART, P. W.; INCHAUSTI, P.W. **Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland**. Basic and Applied Ecology 11: 97-105, 2011.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M. R.; OLIVEIRA, S. O. D.; SOUZA, R. E. T.; ALLAM, T. D.; BAROM, E. B.; PLIVEIRA, M. W. M.; GUIMARÃES, J. A.; LIZ, R. S.; SCHIMIDT, F. G. V. **Desenvolvimento de biopesticida à base de *Beauveria bassiana* para controle de *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)**. Brasília, EMBRAPA Hortaliças, 2009.

MORAES, A. P. R.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; BITTENCOURT, A. J. **Patogenicidade de *Beauveria bassiana* sobre estágios imaturos de *Stomoxys calcitrans***. Ciência Rural 40: 1802-1807, 2010.

OLIVEIRA, F. Q.; BATISTA, J. L.; MALAQUIAS, J. B.; ALMEIDA, D. M.; OLIVEIRA, R. **Determination of the median lethal concentration (CL₅₀) of mycoinsecticides for the control os *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)**. Revista Colombiana de Entomologia 36: 213-216, 2010.

POTTER, C. **An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray films.**

Annals of Applied Biology 39: 1-29, 1952.

SAS Institute. **SAS/STAT User's guide.** Version 8. SAS Institute, Cary, NC, USA. 2002.