

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *BEAUVERIA BASSIANA* PARA O CONTROLE DE *COSMOPOLITES SORDIDUS* (GERMAR, 1824) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

A.M.B. de Almeida, A. Batista Filho, F.M. Tavares, L.G. Leite

Instituto Biológico, Centro Experimental Central, CP 70, CEP 13001-970, Campinas, SP, Brasil. E-mail: amb_almeida@yahoo.com.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. mais virulentos aos adultos de *Cosmopolites sordidus*. Para tal, o experimento foi composto de onze tratamentos, sendo dez isolados e uma testemunha. Cada tratamento conteve 50 insetos divididos em cinco repetições. Os besouros foram imersos em suspensão fúngica na concentração de $1,12 \times 10^9$ conídios/mL e os da testemunha em água estéril. Definidos os melhores isolados, eles foram produzidos em arroz por meio do método de bandejas, para identificar qual deles produz maior número de conídios por grama de substrato. Os isolados que causaram maior mortalidade dos insetos foram: IBCB 74, IBCB 87 e IBCB 146, com 58%, 54% e 66% de mortalidade confirmada, respectivamente. Quanto ao teste de produção, não houve diferença significativa na esporulação dos três isolados testados.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, cultura da banana, broca-do-rizoma da bananeira.

ABSTRACT

SCREENING OF *BEAUVERIA BASSIANA* FOR THE CONTROL OF *COSMOPOLITES SORDIDUS* (GERMAR, 1824) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). The present study was carried out with the aim of selecting strains of *B. bassiana* against *Cosmopolites sordidus* adults. The experiment involved 11 treatments: 10 strains and 1 control. Each treatment had 5 repetitions with 50 insects. The beetles were immersed in a fungal suspension in the concentration of 1.12×10^9 conidia/mL, with only sterile water for the control. When the best strains were identified, they were produced in rice using the tray method, to identify which of them produced the most number of conidia per gram of the substrate. The strains that caused the highest levels of mortality were: IBCB 74, IBCB 87 and IBCB 146, with 58%, 54% and 66% of confirmed mortality, respectively. In regard to the production, there was no significant difference in the sporulation of the three strains.

KEY WORDS: Microbial control, banana crop, banana weevil borer.

A grande maioria dos países latinos produz banana visando a exportação. No caso do Brasil, a maior parte da produção é voltada para o mercado interno, sendo considerado um dos maiores consumidores dessa fruta, que é importante na complementação alimentar da população de baixa renda (FIGUEIREDO, 2001).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento BRASIL (2005), o Brasil produz em média 5.616.000 toneladas, mas exporta apenas cerca de 3,77% de sua produção, que correspondem a 212.176 toneladas. Alguns fatores corroboram para essa situação, entre os quais o baixo nível tecnológico (exceção feita para algumas regiões) e a alta incidência de pragas. A consequência é a baixa produtividade e o alto índice de perdas. Portanto, a manutenção de um bananal em boas condições sanitárias contribui para melhorar a qualidade do produto e regularizar a oferta (MASCARENHAS, 1999).

Na cultura da banana ocorre o ataque de inúmeras doenças e pragas, dentre as quais se destaca *C. sordidus*, popularmente conhecido como "moleque-da-bananeira" ou "broca-da-bananeira". As larvas deste inseto constroem galerias em todas as direções do rizoma das plantas, causando inicialmente o amarelecimento das folhas e a redução do tamanho dos cachos. As galerias são portas de entrada de fitopatógenos como o fungo *Fusarium oxysporum* que é o causador do mal-do-Panamá. Assim, é comum no bananal a queda de plantas que já lançaram cachos, e essas não possuem mais um sistema radicular vivo, suficiente para agüentar o peso dos mesmos (BATISTA FILHO *et al.*, 2005a).

A principal forma de controle desta praga é o controle químico, com a utilização de inseticidas sistêmicos que demandam cuidados especiais durante a aplicação. Além disso, o fato do princípio ativo desses inseticidas se deslocar até os frutos, que são

comercializados quase na sua totalidade “in natura”, pode trazer problemas de resíduo (LARA *et al.*, 2000).

Na tentativa de redução dos resíduos, vários estudos com entomopatógenos para o controle de *C. sordidus* foram realizados, com destaque para o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (BATISTA FILHO *et al.*, 1995a; CARBALLO, 1998; JORDÃO *et al.*, 1999; NANKINGA; MOORE, 2000), que também apresentou bons resultados de controle da praga em campo (BATISTA FILHO *et al.*, 1991; BATISTA FILHO *et al.*, 1995b; GONODOU *et al.*, 2000).

Os fungos entomopatogênicos são patógenos bastante usados no controle de insetos, já que são capazes de atacar um grande número deles em praticamente todos os estágios de desenvolvimento. Possuem uma grande variabilidade genética, permitindo estudos de seleção de cepas ou isolados e avaliação dos mais virulentos para o controle de pragas (ALMEIDA; MACHADO, 2006). Além disso, os fungos entomopatogênicos podem afetar as gerações seguintes, diminuindo a oviposição, a viabilidade de ovos e aumentando a sensibilidade da população a outros agentes biológicos e químicos (ALVES, 1998).

Esse estudo teve o objetivo de avaliar isolados de *B. bassiana* contra adultos do broca-da-bananeira *C. sordidus* e a produção de conídios daqueles mais virulentos em arroz pré-cozido.

Os insetos foram capturados em plantações comerciais de banana, localizadas nos municípios de Miracatu e Pariquera-Açú, São Paulo. Os adultos de *C. sordidus* foram coletados com o auxílio de armadilhas do tipo “telha” confeccionadas a partir de pseudocaules de bananeiras que já produziram frutos. Em seguida, os insetos coletados foram acondicionados em recipientes plásticos e transportados para o laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico em Campinas, SP. Esse procedimento foi realizado mensalmente, entre os meses de abril a julho de 2006.

O bioensaio de patogenicidade foi composto de onze tratamentos, representados pelos isolados citados na Tabela 1, além de uma testemunha. Esses

isolados foram provenientes do Banco de Entomopatógenos “Odemar Cardim de Abreu” do Laboratório de Controle Biológico. Cada tratamento conteve cinco repetições, cada qual com dez adultos.

Os insetos foram imersos em 20 mL de suspensão fúngica na concentração de $1,12 \times 10^9$ conídios/mL. O fungo foi obtido por meio de raspagem da colônia crescida na superfície do meio B.D.A. (Batata Dextrose Agar) em placas de Petri (9 cm de diâmetro). Os insetos do tratamento testemunha foram imersos em água estéril.

Os adultos foram colocados em recipientes plásticos contendo pedaços do pseudocaulo de banana como fonte de alimento os quais foram mantidos em sala climatizada a 25° C e fotofase de doze horas. As avaliações ocorreram a cada dois dias, e os insetos mortos foram transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro) com um pedaço de algodão umedecido com água destilada, mantidas em B.O.D. a $25,0 \pm 0,5^\circ$ C, para a confirmação da morte causada pelo patógeno.

Dos dez isolados testados, foram selecionados os que proporcionaram mortalidade superior a 50% dos insetos para realizar-se o estudo de produção em arroz que foi executado conforme a metodologia de bandejas proposta por ALVES (1998). Após o período final de produção nas bandejas, foram retiradas cinco amostras de 1 g de arroz que foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de suspensão com água destilada e espalhante adesivo Tween 80® a 0,1%. Os tubos foram agitados e posteriormente retirou-se 1 mL desta suspensão para quantificação dos conídios em câmara de Neubauer. Um volume de 0,1 mL de cada suspensão foi plaqueado em placas contendo B.D.A., as quais foram em seguida incubadas em B.O.D. por 15 horas. Após esse período as placas foram levadas ao microscópio óptico onde foram contados conídios germinados e não germinados, estabelecendo-se uma proporção de viabilidade. Cada isolado foi produzido em cinco sacos contendo 100 g de arroz cozido que foram considerados as repetições do experimento.

Tabela 1 - Isolados utilizados nos experimentos, assim como seus hospedeiros e locais de origem.

Isolado	Hospedeiro	Local de coleta
IBCB 01	solo	Cascavel, PR
IBCB 17	<i>Anthonomus grandis</i>	Cosmópolis, SP
IBCB 18	<i>Hypothenemus hampei</i>	Tapiratiba, SP
IBCB 33	Material da nota científica	
IBCB 35	<i>Cosmopolites sordidus</i>	Cruz das Almas, BA
IBCB 66	<i>Hypothenemus hampei</i>	São José do Rio Pardo, PR
IBCB 74	<i>Lissorhoptus oryzophilus</i>	Japão
IBCB 87	<i>Cosmopolites sordidus</i>	Goiânia, GO
IBCB 146	solo	Cascavel, PR
IBCB 165	solo	Cascavel, PR

Todos os dados foram analisados pelo teste F a 5% e na significância deste foi feito o teste de Tukey para comparação entre as médias.

No teste de patogenicidade os isolados IBCB 74, IBCB 87 e IBCB 146 não diferiram estatisticamente entre si e causaram respectivamente 58%, 54% e 66% de mortalidade confirmada dos adultos de *C. sordidus*. Os isolados IBCB 01, IBCB 18, IBCB 33, IBCB 66 e IBCB 165 não diferiram dos anteriores, mas a mortalidade confirmada dos insetos causada por esses isolados não atingiu 50% (Fig. 1).

Os isolados IBCB 17 e IBCB 35 não diferiram estatisticamente de nenhum tratamento com exceção do isolado IBCB 146, apresentando respectivamente 16% e 22% de mortalidade dos insetos. Na testemunha não houve mortalidade confirmada, somente mortalidade total de 6% da broca (Fig. 1).

A diferença de mortalidade dos adultos causada pelo entomopatógeno é observada com frequência em ensaios de seleção, podendo estar associada com a variabilidade genética existente na espécie *B. bassiana*, com a baixa virulência do isolado e com a especificidade e tolerância ao hospedeiro (ALVES, 1998).

Resultados semelhantes aos deste estudo foram obtidos por TAKADA (2002) que constatou 54,7% de mortalidade de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936)

(Coleoptera: Curculionidae) causada pelo isolado IBCB 74.

BATISTA FILHO *et al.* (2005b) selecionaram o isolado IBCB 74 como o mais patogênico à adultos do curculionídeo *Rhynchophorus palmarum* (L., 1758) (Coleoptera: Curculionidae) causando 43,7% de mortalidade dos insetos. Por outro lado, os autores verificaram que o isolado IBCB 87 proporcionou somente 15% de mortalidade dos adultos. A contradição, com o presente estudo, pode ser decorrente da diferença da espécie, do tamanho dos insetos ou pela suscetibilidade deles ao entomopatógeno.

O isolado IBCB 66, bastante utilizado em experimentos com a broca do rizoma (BATISTA FILHO *et al.*, 1991; BATISTA FILHO *et al.*, 1995a, BATISTA FILHO *et al.*, 1996), apresentou valores em média de 40% de mortalidade confirmada. Esses dados se assemelham com os de JORDÃO *et al.* (1999) que, ao selecionarem isolados de *B. bassiana*, observaram que o isolado em questão causou 45% de mortalidade da broca.

BATISTA FILHO *et al.* (1991), utilizando os isolados IBCB 17 e IBCB 18 na concentração de 1×10^8 conídios/mL, observaram uma redução de, respectivamente, 2,0% e 6,0% dos insetos, enquanto que no presente estudo foi observada mortalidade confirmada de 16% e 42% dos besouros pelos isolados, respectivamente, mas em concentração dez vezes maior.

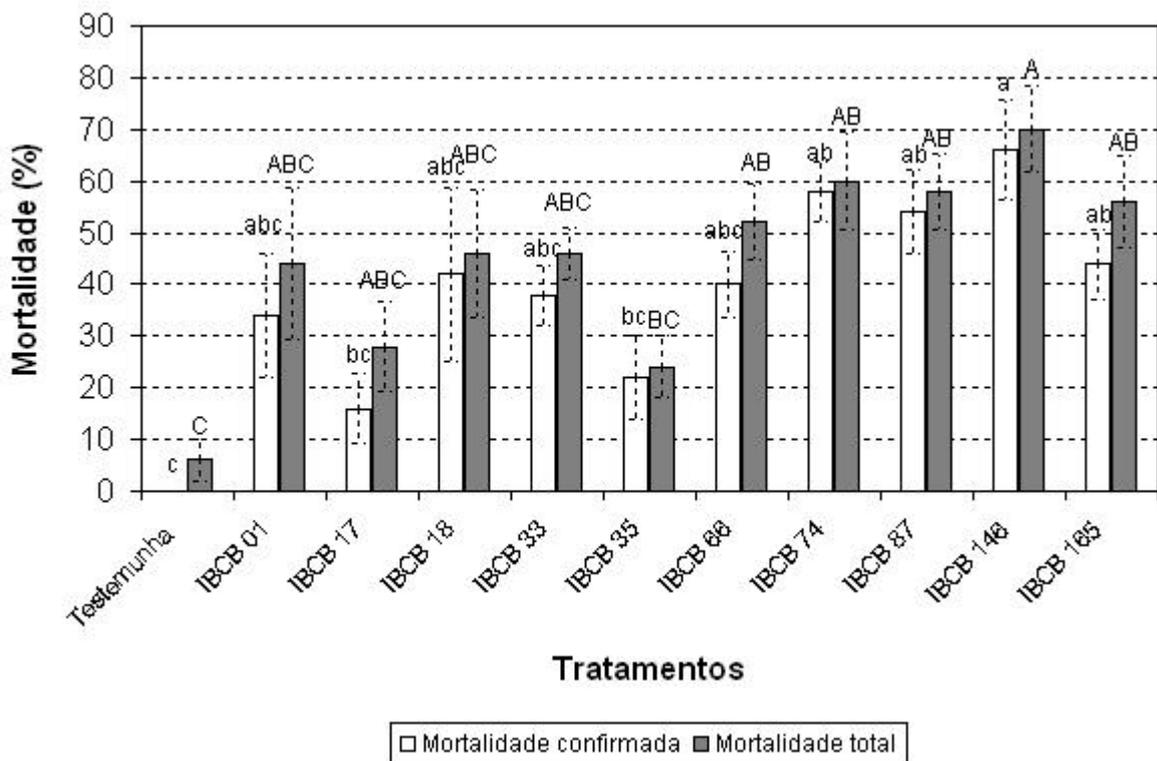


Fig. 1 - Mortalidades confirmada e total de adultos de *Cosmopolites sordidus*, causadas por diferentes isolados de *Beauveria bassiana*. Médias seguidas da mesma letra, entre minúsculas e maiúsculas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (barras correspondem ao erro padrão).

O isolado IBCB 33 proporcionou 38% de mortalidade confirmada dos insetos, sendo esses dados semelhantes aos de BATISTA FILHO *et al.* (2005b) no controle de *R. palmarum*.

O período que os fungos entomopatogênicos levam para provocar a morte de uma determinada espécie varia em função de fatores como a espécie do hospedeiro e seu nível de desenvolvimento dentro de uma mesma família (LOUREIRO, 2004).

Observou-se que os isolados que proporcionaram maior mortalidade de *C. sordidus* nem sempre têm como hospedeiro original essa espécie de broca. Esse comportamento também foi observado por BATISTA FILHO *et al.* (1989) que ao utilizarem um isolado originário de Miracatu, SP, atacando *C. sordidus*, encontraram desempenho inferior ao do isolado IBCB 66 (originado da broca-do-café) no controle da praga em questão. JORDÃO *et al.* (1999) também observaram diferenças de virulência para diferentes isolados.

Não ocorreu diferença significativa na esporulação e viabilidade entre os isolados selecionados para o ensaio de produção no arroz, sendo que IBCB 74, IBCB 87 e IBCB 146 tiveram produção de $1,27 \times 10^9$, $1,19 \times 10^9$ e $1,29 \times 10^9$ conídios/mL, respectivamente. Observou-se média superior a 95% de viabilidade nos três tratamentos (Tabela 2). Normalmente, em estudos dessa natureza, a viabilidade de fungos entomopatogênicos não é afetada (TAKADA, 2002; LOUREIRO *et al.*, 2005).

Tabela 2 - Esporulação e viabilidade dos diferentes isolados de *Beauveria bassiana*, produzidos em arroz tipo I, a \pm T = 25° C e fotoperíodo de 12 horas.

Isolado	Esporulação ($\times 10^9$ conídios/mL)	Viabilidade (%)
IBCB 74	1,27	95,4
IBCB 87	1,19	93,6
IBCB 146	1,29	93,0
Teste F	0,24 ^{ns}	2,29 ^{ns}
CV*(%)	18,61	1,96

*Coeficiente de variação

^{ns} Não significativo pelo Teste de F

Esses valores estão de acordo com o encontrado por outros autores para o entomopatógeno em questão, como ZAPPELINI *et al.* (2005) que obtiveram esporulação de 5×10^8 conídios/mL do isolado IBCB 66 de *B. bassiana* com o método bifásico de produção, e como ZAPPELINI *et al.* (2006) que produziram $3,03 \times 10^9$ conídios/g do mesmo isolado com a adição de glicerina e extrato de levedura ao substrato. Já SANTORO *et al.* (2005), utilizando o processo bifásico de produ-

ção, obtiveram rendimento acima de 2×10^9 conídios/g de arroz colonizado, quando diferentes substratos foram adicionados ao arroz tipo I.

Essa diferença de produção entre os diversos estudos, pode se dar devido à dificuldade de reproduzir-se a cada ensaio as condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento do patógeno (TAMAI, 1997) e também às diferenças entre os processos industriais, as variedades de arroz e os tempos de avaliação (ALVES, 1998).

Dessa forma, conclui-se que os isolados IBCB 74, IBCB 87 e IBCB 146 apresentam potencial com vistas ao controle microbiano de *Cosmopolites sordidus*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.E.M.; MACHADO, L.A. Fungos entomopatogênicos. *Boletim Técnico: Controle Biológico de Insetos e Ácaros*, Instituto Biológico, São Paulo, n. 15, p. 13-27, 2006.

ALVES, S.B. (Ed.) *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E. Virulência de diferentes isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. à *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2., 1989, São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.56, p.46, 1989. Suplemento 1.

BATISTA FILHO, A.; SATO, M.E.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; PRADA, W.A. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle do moleque da bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.13, n.4, p.35-40, 1991.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.24, n.2, p.405-408, 1995a.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E.; OLIVEIRA, J. A. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no manejo de *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824, em Miracatu, SP. *O Biológico*, São Paulo, v.57, n.1/2, p.17-19, 1995b.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALVES, E.B.; AGUIAR, J.C. Controle de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) por Fipronil e seu Efeito sobre *Beauveria bassiana*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.63, n.2, p.47-51, 1996.

BATISTA FILHO, A.; TAKADA, H.M.; RAGA, A.; SATO, M.E.; CARVALHO, A.G. Controle Biológico da Broca da Bananeira. In: REUNIÃO ITINERANTE DE

FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 8., 2005, Registro, SP. *Anais*. Registro: 2005a. p.1-9.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, A.M.B.; LEITE, L.G.; TAKADA, H.M.; WENZEL, I.M.; ALMEIDA, J.E.M.; ZAPPELINI, L.O.; CARVALHO, A.G. Patogenicidade de diferentes isolados de *Beauveria bassiana* à *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife, PE. *Anais*. Recife: 2005b. p.110.

CARBALLO, M.V. Mortalidad de *Cosmopolites sordidus* com diferentes formulaciones de *Beauveria bassiana*. *Manejo Integrado de Plagas*, n.48, p.45-48, 1998.

FIGUEIREDO, M.B. Doenças fúngicas emergentes em grandes culturas. *O Biológico*, São Paulo, v.63, n.1, p.29-32, 2001

GODONOU, E.; GREEN, K.R.; ODURO, K.A.; LOMER, C.J.; AFREH-NUAMAH, K. Field Evaluation of Selected Formulations of *Beauveria bassiana* for the Management of the Banana Weevil (*Cosmopolites sordidus*) on Plantain (*Musa spp.*, AAB Group). *Biocontrol Science and Technology*, v.6, n.10, p.779-788, 2000.

JORDÃO, A.L.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; BERIAM, L.O.S.; ALMEIDA, J.E.M. Caracterização e Eficiência de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no Controle de *Cosmopolites sordidus*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.66, n.2, p.107-111, 1999.

LARA, F.M.; SARGO, H.L.B.; CAMPOS, A.R.; BARBOSA, J.C. Preferência de *Cosmopolites sordidus* Germ. (Coleoptera: Curculionidae) por Genótipos de Bananeira, em Condições de Laboratório. *Ecossistema*, v.25, n.1, p.35-38, 2000.

LOUREIRO, E.S. Seleção e avaliação de campo de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Para o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). 2004. 91f. Tese (Doutorado em Agronomia - Área de Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2004.

LOUREIRO, E. S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; PESSOA, L. G. A. Produção de Isolados de *Metarhizium anisopliae*, selecionados para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, n.4, p.469-472, 2005.

MASCARENHAS, G.C.C. Pragas da bananeira. *Informe Agropecuário EPAMIG*, v.20, n.196, p.97-108, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Agricultura Brasileira em Números, Anuário 2005*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 8 dez. 2006.

NANKINGA, C.M.; MOORE, D. Reduction of Banana Weevil Populations Using Different Formulations of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*, v.10, n.5, p.645-657, 2000.

SANTORO, P.H.; NEVES, P.M.O.J.; SILVA, R.Z.; AKIMI, S.; ZORZETTI, J. Produção de esporos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. num processo bifásico utilizando diferentes meios líquidos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.26, n.3, p.313-320, 2005.

TAKADA, H. M. Patogenicidade e seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae). 2002. 75f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2002.

TAMAI, M.A. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch. 1997. 86p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Área de Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

ZAPPELINI, L.O.; ALMEIDA, J.E.M.; GASSEN, M.H.; BATISTA FILHO, A. Produção de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* a partir do método bifásico. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, p.74, 2005. Suplemento 2. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 18., 2005, São Paulo. Resumo 112.

ZAPPELINI, L.O.; ALMEIDA, J.E.M.; GASSEN, M.H. Produção de *Beauveria bassiana* em arroz a partir do método bifásico. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS, 4., 2006, São Paulo. *Resumos*. São Paulo: IB, 2006, resumo 085. CD_ROM.

Recebido em 1/3/07

Aceito em 27/3/09