

**PATOGENICIDADE DO FUNGO *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.,
EM LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)
(LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE) SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO***

LILIANE LOPES FERREIRA DE FARIA

Bióloga da Secretaria de Agricultura do Estado de Pernambuco. Bolsista do CNPq.

JOSÉ VARGAS DE OLIVEIRA

Prof. Adjunto do Depto. de Agronomia da UFRPE. Bolsista do CNPq.

REGINALDO BARROS

Prof. Assistente do Depto. de Agronomia da UFRPE.

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Teve como principal objetivo o estudo da patogenicidade do fungo entomógeno *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). Na primeira etapa do trabalho foram testados os isolados IPA-144, PL-196, PL-246 e PL-252, nas concentrações de $1,0 \times 10^6$, 10×10^8 e $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, em condições ambientais, utilizando-se o método de inoculação por imersão. Na segunda etapa foi observada a eficiência dos quatro isolados na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, sob temperatura de $28,71 \pm 2,45\%$ e umidade relativa do ar de $69,37 \pm 2,45\%$, utilizando a mesma técnica de inoculação, em face dos resultados nos experimentos anteriores. De acordo com os resultados, a maior mortalidade foi obtida para o isolado PL-246 seguindo-se em ordem decrescente os isolados PL-252, IPA-144 e PL-196, nas três concentrações. Quando os quatro isolados foram testados na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, apresentaram uma eficiência superior a 70%, não diferindo estatisticamente entre si, apenas da testemunha.

* Monografia apresentada pelo primeiro autor ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Trabalho apresentado no XIII Congresso Brasileiro de Entomologia, Recife, 1991.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mais* L.) é um cereal de grande importância no mundo em virtude do seu valor nutricional para o homem. No que diz respeito à alimentação animal, além de consumido diretamente como grão, é também amplamente empregado como componente energético em rações para suínos, aves e bovinos.

De acordo com o Levantamento Sistemático de Produção Agrícola da Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), referente a dezembro de 1990, a produção nacional do milho, na primeira safra, foi de 20.934.634 toneladas e um rendimento médio de 1901 kg/ha; esses valores para a Região Nordeste e Estado de Pernambuco foram de 610.407 toneladas e 314 kg/ha e de 79.376 toneladas e 390 kg/ha, respectivamente. .

Dentre as pragas que danificam a cultura do milho no campo, assume relevada importância a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lep., Noctuidae), que na opinião de Carvalho (1970) é responsável pela redução de 34% na produção deste cereal no Brasil.

Atualmente, devido aos efeitos colaterais decorrentes do uso incorreto de inseticidas químicos em produtos vegetais, esforços se concentram na busca de métodos alternativos de controle às pragas, no sentido de preservar o meio ambiente, os produtores, e finalmente, os próprios consumidores, destacando-se entre estes, com um número crescente, os trabalhos de controle biológico, notadamente aqueles utilizando fungos entomógenos.

Entre os fungos mais citados como patogênicos a insetos-pragas encontram-se espécies do gênero *Beauveria* (De Bach, 1975; Camargo, Batista Filho e Bastos Cruz, 1984). Gardner, Sutton e Noblet (1979), Gardner e Fuxa (1980), França et al. (1989) e Rodrigues e Pratissoli (1989) demonstraram que *B. bassiana* foi um patógeno eficiente no controle da lagarta do cartucho, podendo ser utilizado em pesquisas visando manter a população da praga, em níveis que não causam danos econômicos.

Em face do exposto e em virtude de existir um número reduzido de pesquisas sobre o controle microbiológico da lagarta do cartucho, o presente trabalho teve como objetivo, estudar a patogenicidade de *B. bassiana* sobre lagarta de *S. frugiperda* em condições de laboratório. Os resultados fornecerão subsídios básicos, visando o controle posterior da praga, em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Ru-

ral de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, onde desenvolveram-se as seguintes etapas:

Utilização de Isolados de *B. bassiana*, sob Diferentes Concentrações, em Lagartas de *S. frugiperda*

Foram utilizados quatro isolados do patógeno, obtidos da micoteca do laboratório, com a seguinte procedência:

- IPA-144 - cedida pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Recife-PE, isolado de *Metamasius hemipterus* no Estado de Pernambuco.
- PL-196 - cedida pelo Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-Açúcar (Planalsucar), PE, isolado de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), no Estado de Pernambuco.
- PL-246 - cedida pelo Planalsucar-PE, isolado de *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), no Estado da Bahia.
- PL-252 - cedida pelo Planalsucar-PE, isolado de *Stenomoma decora* (Zeller, 1854), no Estado de São Paulo.

O fungo foi isolado em tubos de ensaio e placas de Petri com meio de cultura à base de Batata Dextrose e Ágar (BDA).

A primeira geração de *S. frugiperda*, utilizada nos experimentos, foi proveniente de lagartas coletadas em cultura de milho, sem tratamento com inseticidas, do Campo Experimental do Departamento de Agronomia da (UFRPE). Em seguida, as lagartas foram conduzidas para o laboratório e criadas, individualmente, em placas de Petri de 9 cm de diâmetro e alimentadas com folhas de milho, trocadas diariamente e previamente lavadas com água destilada esterilizada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constando de quatro tratamentos (três concentrações do patógeno mais uma testemunha) e 25 repetições, para cada isolado, sendo a parcela constituída de uma placa de Petri, contendo uma lagarta com oito dias de idade. Utilizou-se os quatro isolados do patógeno em experimentos separados, nas concentrações de $1,0 \times 10^6$, $1,0 \times 10^8$ e $1,0 \times 10^9$, conídios/ml, sob condições ambientais.

Inicialmente foi obtida uma suspensão de esporos através de lavagem de 20 placas de Petri com o fungo repicado em BDA. A lavagem foi efetuada quando o entomopatógeno atingiu oito dias de crescimento, correspondendo ao pico da patogenidade, utilizando-se 5 ml de água destilada e esterilizada por placas com o auxílio de um pincel para recolher os esporos. O material recolhido foi submetido a um processo de coagem com gaze esterilizada. Em seguida, foi colocada uma gota de espalhante adesivo na suspensão para facilitar a contagem dos conídios em câmara de Neubauer. Após o preparo das três concentrações e distribuição em Beckers de 500 ml, foi realizada a imersão das lagartas durante

um minuto. A testemunha foi imersa em água destilada esterilizada. Após a imersão as lagartas foram colocadas individualmente em placas de Petri, contendo folhas de milho desinfectadas e trocadas por novas folhas a cada 24 horas. Observações diárias foram registradas visando verificar não somente os sintomas apresentados pelas lagartas, mas também, a ocorrência de mortalidade durante dez dias após imersão. As lagartas mortas foram desinfectadas superficialmente com solução de Hipoclorito de Sódio a 2% e o patógeno isolado em tubos de ensaio corr. BDA, com a finalidade de confirmar o parasitismo.

Utilização de Isolados de *B. bassiana*, na Concentração de $1,0 \times 10^9$ Conídios/ml, em Lagartas de *S. frugiperda*

A partir dos resultados obtidos no experimento anterior, foram utilizados os mesmos isolados do fungo na única concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, sob temperatura de $28,71 \pm 0,51^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar de $69,37 \pm 2,45\%$.

O experimento foi instalado segundo delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (quatro isolados e uma testemunha) e três repetições, constituídas de dez lagartas cada, e os dados posteriormente submetidos a análise estatística.

O procedimento de inoculação do patógeno foi o mesmo adotado no experimento anterior.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilização de Isolados de *B. bassiana*, sob Diferentes Concentrações, em Lagartas de *S. frugiperda*

Independente do isolado do patógeno inoculado, as lagartas apresentaram um quadro sintomatológico semelhante. Em todos os experimentos, aquelas destinadas como testemunha não demonstraram nenhum sintoma que caracterizasse anormalidade em sua fisiologia (Figura 1) porém, as que foram inoculadas, notadamente, nas duas concentrações mais altas, decorridos de dois a três dias, exteriorizaram os sintomas iniciais da doença: mudança na coloração, presença de pontos escuros ao longo do corpo (Figura 2), alimentação e movimentos reduzidos e morte. Dois a três dias após a ocorrência da morte, as lagartas apresentaram o corpo quase que completamente colonizado, coberto de conídios (Figura 3), confirmando o descrito por Alves et al. (1985). Através do isolamento das áreas contaminadas com BDA, confirmou-se o parasitismo de *B. bassiana*.

Os resultados da mortalidade das lagartas inoculadas com os isolados do fungo IPA-144, PL-196, PL-246 e PL-252, constam nas Tabelas 1, 2, 3 e 4, respectivamente. De acordo com os números expressos nestas Tabelas, verificou-

se que, para todos os isolados, houve um aumento crescente na mortalidade à medida que a concentração do fungo também era elevada.

Dentre os quatro isolados, o PL-246 e PL-252 expressaram uma mortalidade de 64% na concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios/ml (Tabelas 3 e 4), que vem corroborar os resultados de Rodrigues e Pratissoli (1989) que registraram uma mortalidade de 40% das lagartas, quando inoculadas com o fungo a uma concentração de 10^7 esporos/ml.

Os isolados PL-246 e PL-252 nas duas concentrações mais altas (Tabelas 3 e 4) e os isolados IPA-144 e o PL-196, apenas na maior concentração (Tabelas 1 e 2), atingiram um percentual de mortalidade superior a 60%. Não obstante todos os isolados terem atingido este nível de mortalidade, observou-se que o PL-246 e PL-252 mostraram-se mais eficientes em relação aos demais, em todas as concentrações, notadamente na mais alta, onde a mortalidade elevou-se para 92 e 88%, respectivamente (Tabelas 3 e 3).

Ressalta-se que, mesmo nas concentrações mais baixas, todos os isolados foram patogênicos ao inseto, fato este que vem confirmar os dados obtidos nas pesquisas de Gardner, Sutton e Noblet (1979), Gardner e Fuxa (1980), França et al. (1989) e Rodrigues e Pratissoli (1989), que demonstraram se, esta praga, suscetível ao fungo, o que pode torná-lo uma alternativa viável para o controle da mesma.

Utilização de Isolados de *B. bassiana*, na Concentração de $1,0 \times 10^9$ Conídios/ml, em Lagartas de *S. frugiperda*

Em face dos resultados obtidos no experimento anterior, foram testados os quatro isolados, na concentração mais alta, $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, sob mesmas condições, a fim de se obter a maximização de sua virulência.

As médias de mortalidade da lagarta-do-cartucho em relação aos isolados do patógeno na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, estão apresentadas na Tabela 5.

Verificou-se, à luz da análise de variância, que houve diferença significativa, entre os tratamentos, pelo teste de distribuição de F ($F > 1$) ao nível de 1% de probabilidade.

Em observância aos dados constantes na Tabela 6, todos os isolados estudados foram igualmente eficientes quando consideradas as percentagens de mortalidade, diferindo estatisticamente, apenas da testemunha, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

A despeito dos resultados alcançados, torna-se imprescindível a realização de pesquisas com os quatro isolados testados, em laboratório, visando o controle da lagarta do cartucho em condições de casa-de-vegetação campo.



FIGURA 1 - Lagarta do cartucho com ausência de parasitismo



FIGURA 2 - Lagarta do cartucho em estágio inicial de parasitismo com *Beauveria bassiana*

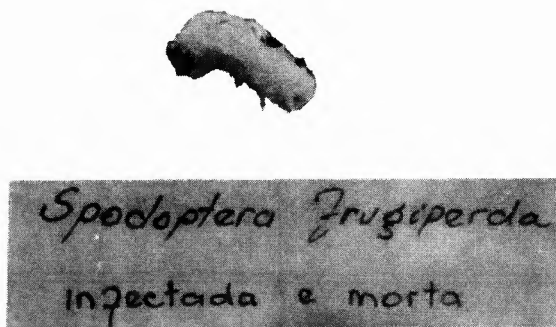


FIGURA 3 - Lagarta do cartucho morta, em estágio avançado de parasitismo com *Beauveria bassiana*

TABELA 1 - Percentagens de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, submetidas ao isolado IPA-144 de *B. bassiana*, dez dias após a inoculação

TRATAMENTO	NÚMERO DE LAGARTAS INOCULADAS	NÚMERO DE LAGARTAS MORTAS	%
$1,0 \times 10^6$ conídios/ml	25	06	24
$1,0 \times 10^8$ conídios/ml	25	12	44
$1,0 \times 10^9$ conídios/ml	25	19	76
Testemunha	25	01	2,5

TABELA 2 - Percentagens de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, submetidas ao isolado IPA-196 de *B. bassiana*, dez dias após a inoculação

TRATAMENTO	NÚMERO DE LAGARTAS INOCULADAS	NÚMERO DE LAGARTAS MORTAS	%
$1,0 \times 10^6$ conídios/ml	25	02	8
$1,0 \times 10^8$ conídios/ml	25	12	44
$1,0 \times 10^9$ conídios/ml	25	18	72
Testemunha	25	00	0

TABELA 3 - Percentagens de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, submetidas ao isolado PL-246 de *B. bassiana*, dez dias após a inoculação

TRATAMENTO	NÚMERO DE LAGARTAS INOCULADAS	NÚMERO DE LAGARTAS MORTAS	%
1,0 x 10 ⁶ conídios/ml	25	08	32
1,0 x 10 ⁸ conídios/ml	25	16	64
1,0 x 10 ⁹ conídios/ml	25	23	92
Testemunha	25	02	8

TABELA 4 - Percentagens de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, submetidas ao isolado PL-252 de *B. bassiana*, dez dias após a inoculação

TRATAMENTO	NÚMERO DE LAGARTAS INOCULADAS	NÚMERO DE LAGARTAS MORTAS	%
1,0 x 10 ⁶ conídios/ml	25	07	28
1,0 x 10 ⁸ conídios/ml	25	16	64
1,0 x 10 ⁹ conídios/ml	25	22	88
Testemunha	25	01	2,5

TABELA 5 - Número de lagartas inoculadas, total e média de lagartas mortas de *S. frugiperda*, submetida a quatro isolados de *B. bassiana*, na concentração de 1,0 x 10⁹ conídios/ml, dez dias após a inoculação

TRATAMEN-TO	Nº DE LA-GARTAS INOCULADAS	Nº DE LA-GARTAS MORTAS	REPETIÇÕES			MÉDIAS
			I	II	III	
IPA-144	30	23	8	7	8	7,67
PL-196	30	23	8	7	8	7,67
PL-246	30	26	9	9	8	8,67
PL-252	30	24	9	7	8	8,00
Testemunha	30	03	1	1	1	1,00

TABELA 6 - Comparação das médias de percentagens de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, submetidas a quatro isolados de *B. bassiana*, na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, dez dias após a inoculação

TRATAMENTO	% LAGARTAS MORTAS			
	I	II	III	¹ MÉDIAS
IPA-144	80	70	80	76,67 a
PL-196	80	70	80	76,67 a
PL-246	90	90	80	86,67 a
PL-252	90	70	80	80,00 a
Testemunha	10	10	10	10,00 b

C.V. = 9,58

D.M.S. = 22,41

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

CONCLUSÕES

- o fungo entomógeno *B. bassiana* mostrou-se patogênico a lagartas de *S. frugiperda* sob condições de laboratório;
- os sintomas de parasitismo, bem como a mortalidade foram evidentes dois a três dias após a inoculação do fungo, principalmente nas concentrações de $1,0 \times 10^8$ e $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, independentemente do isolado testado;
- a eficiência dos isolados, consideradas as percentagens de mortalidade, em termos de virulência, nas duas maiores concentrações, obedeceram a seguinte ordem decrescente: PL-246 > PL-252 > IPA-144 > PL-196;
- a mortalidade das lagartas foi crescente em função do aumento da concentração do patógeno;
- todos os isolados na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/ml, foram igualmente eficientes, apresentando um percentual de mortalidade superior a 70%, diferindo estatisticamente, apenas, da testemunha.

ABSTRACT

The research was conducted at Insect Pathology of the Plant Protection Area, Agronomy Department of the Universidade Federal Rural de Pernambuco. Its main objective was to study the pathogenicity of entomogenous fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., on larvae of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). In the first part of the work, the isolates IPA-144, PL-196, PL-246 and PL-252 were tested at concentrations of $1,0 \times 10^6$, $1,0 \times 10^8$, and $1,0 \times 10^9$ conidia/ml, under ambiental conditions, using the inoculation method of immersion. In the second part, it was observed the efficiency of the four isolates at concentration of $1,0 \times 10^9$ conidia/ml, tested at $28,71 \pm 0,510$ C, and relative humidity of $69,37 \pm 2,45\%$, using the same inoculation method, based on the previous experiments. According to the results, the highest mortality was obtained for the isolate PL-246, followed, in a decrescent order, by PL-252, IPA-144, and PL-196, considering the three concentrations. When the four isolates were tested at concentration $1,0 \times 10^9$ conidia/ml, they showed an efficiency superior to 70% and had not differed statistically among them, but were different from the test control.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALVES, S. B.; MOURA PÁDUA, L. E. de.; AZEVEDO, E. M. V. M. et al. al. Controle da broca da cana-de-açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 4, p. 403-406, abr. 1985.
- 2 CAMARGO, L. M. P. C. de A.; BATISTA FILHO, A.; BASTOS CRUZ, B. P. Ocorrência do fungo *Beauveria* sp. patogênico ao bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman, 1843) na região de Campinas, Estado de São Paulo. *O Biológico*, São Paulo, v. 50, n. 3, p. 65-68, mar. 1984.
- 3 CARVALHO, R. P. L. Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. smith, 1797) e suscetibilidade de diferentes genótipos de milho em condições de campo. Piracicaba, 1970. 170 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, 1970.
- 4 DE BACH, P. *Control biologico de las plagas de insectos y malas hierbas*. 3. ed. México: Continental, 1975. 950 p.
- 5 FRANÇA, M. M.; TIGANO, M. S.; CARVALHO, R. S. et al. Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* aos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Nomuraea rileyi*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12., 1989, Belo Horizonte. *Resumos...* Belo Horizonte : Sociedade Entomológica do Brasil, 1989. p. 254.
- 6 GARDNER, W. A.; FUXA, J. R. Pathogens for the supression of the fall armyworm. *Florida Entomologist*, Gainesville, v. 63, n. 4, p. 439-447, dec. 1980.
- 7 GARDNER, W. A.; SUTTON, R. M.; NOBLET, R. Effects of infection by *Beauveria bassiana* on hemolymph proteins of noctuidae larval. *Annals of the Entomological Society of America*, College Park, v. 72, n. 2, p. 224-228, Mar. 1979.
- 8 LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA. Rio de Janeiro : IBGE, v. 12, n. 12, 1990. 70 p.

- 9 RODRIGUES, C.; PRATISSOLI, D. Avaliação de patogenicidade dos fungos entomógenos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre *Spodoptera frugiperda* (lagarta-do-cartucho do milho). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12., 1989, Belo Horizonte. *Resumos...* Belo Horizonte : Sociedade Entomológica do Brasil, 1989. p. 223.

Recebido para publicação em 15 de julho de 1992