

Efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre adultos de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae)

Hugo José Gonçalves dos Santos Júnior¹, Edmilson Jacinto Marques^{2*}, Reginaldo Barros², Manoel Guedes Correa Gondim Junior², Hugo Bolsoni Zago¹ e Cinthia Conceição Matias da Silva³

¹Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). ²Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Av. D. Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil. ³Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). *Autor para correspondência. e-mail: emar@ufrpe.br

RESUMO. Avaliou-se a seletividade dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre adultos do parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov). Foram utilizados os isolados Esalq 447 de *B. bassiana* e E9 de *M. anisopliae*, na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹. Os resultados mostraram que *B. bassiana* e *M. anisopliae* não reduziram a longevidade média do parasitóide. *B. bassiana* proporcionou porcentagem de mortalidade total de 26% e porcentagem de mortalidade confirmada de 21%, já *M. anisopliae* causou mortalidade total de 15% e confirmada de 9%, demonstrando que *M. anisopliae* foi menos agressivo. Portanto, em função dos resultados apresentados, a implementação no manejo integrado de *P. xylostella* com *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *O. sokolowskii* pode ser uma excelente alternativa para otimizar o sistema produtivo das brássicas.

Palavras-chave: fungos entomopatogênicos, controle biológico, parasitóide.

ABSTRACT. Effect of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on adults of *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae). The selectivity of the fungi *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to adults of the parasitoid *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) was evaluated. The isolates E9 of *M. anisopliae* and Esalq 447 of *B. bassiana* were used at the concentration of 10^7 conidia mL⁻¹. The results showed that *B. bassiana* and *M. anisopliae* reduced significantly the mean longevity of the adults about 6.7 and 4.7 days respectively. *B. bassiana* induced 26% and 21% of total and confirmed mortalities, respectively, while *M. anisopliae* caused 15% and 9% of total and confirmed mortalities, showing that the isolate of *M. anisopliae* was less aggressive. Therefore, in function of the presented results the combination of *M. anisopliae*, *B. bassiana*, and *O. sokolowskii* in the integrated management of *P. xylostella* may be an excellent alternative for optimizing the cabbage growing system.

Key words: entomopathogenic fungi, biological control, parasitoid.

Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus), originária do continente europeu e atualmente com distribuição cosmopolita, é considerada a principal praga em todas as regiões que cultivam espécies da família das brassicáceas (Castelo Branco e Gatehouse, 2001).

Entre os inimigos naturais de *P. xylostella*, são conhecidas algumas espécies de fungos entomopatogênicos, como *Zoophthora radicans* (Brefeld) (Riethmacher *et al.*, 1992), *Metarhizium*

anisopliae (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Masuda, 2000; Silva *et al.*, 2003), das quais as duas últimas espécies são amplamente utilizadas como biocontroladores de insetos praga em diversas regiões do mundo (Alves, 1998).

Um amplo complexo de himenópteros parasitóides tem sido relacionado como agente biológico que atua na redução populacional de *P. xylostella* (Kfir, 1997). Dentre esses agentes, o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) é considerado um importante inimigo natural em algumas regiões produtoras de brássicas (Talekar e

Hu, 1996; Castelo Branco e Medeiros, 2001; Mahmood *et al.*, 2004), como na região Nordeste do Brasil (Loges, 1996; Ferreira *et al.*, 2003).

O controle de *P. xylostella* através de inseticidas de amplo espectro tem resultado no desenvolvimento de resistência pela praga e eliminação de inimigos naturais; entretanto essa medida de controle ainda é a mais utilizada pelos produtores mundialmente (Castelo Branco *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2004).

Portanto medidas alternativas tornaram-se necessárias para minimizar os efeitos negativos advindos do uso intensivo desses produtos, a exemplo da associação de fungos entomopatogênicos e parasitóides. No entanto devido à possibilidade de ocorrência de competição interespecífica entre esses agentes biológicos, com morte prematura dos parasitóides pela colonização do entomopatógeno (Magalhães *et al.*, 1998), pesquisas que possibilitem melhor entendimento nas interações resultantes da utilização desses inimigos naturais, isoladamente ou associados, são necessárias para viabilizar a utilização no manejo de *P. xylostella*.

Estudos de seletividade de fungos entomopatogênicos a parasitóides têm demonstrado a possibilidade de coexistência desses agentes dentro de um mesmo ambiente (Furlong e Pell, 2000; Lacey e Mesquita, 2002; Stolz *et al.*, 2002).

Apesar da ocorrência de *O. sokolowskii* em algumas regiões produtoras de brássicas no mundo, inclusive no Brasil, as pesquisas realizadas se restringem a aspectos biológicos (Ferreira *et al.*, 2003) e os relatos são limitados à seletividade a inseticidas químicos (Guo *et al.*, 1998) ou a substâncias biológicas, como alguns extratos aquosos de espécies vegetais que não influenciaram o parasitismo de *P. xylostella* por *O. sokolowskii* (Torres, 2004). O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos causados por isolados dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* aos adultos do parasitóide *O. sokolowskii*.

Material e métodos

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Patologia e Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade, Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em Recife, Estado de Pernambuco.

Obtenção e criação de *Oomyzus sokolowskii*

Os parasitóides foram obtidos de larvas e pupas de *P. xylostella*, coletadas em plantios de brássicas no município de Chã Grande, estado de Pernambuco, e criados em lagartas da traça-das-crucíferas, a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 horas de fotofase e UR $75 \pm 10\%$, no

Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A criação de *O. sokolowskii* foi conduzida por meio do confinamento de lagartas de *P. xylostella* de 3º instar, em pedaços de folhas de couve Manteiga, previamente lavadas em água corrente e dispostas verticalmente em gaiolas plásticas circulares (12,5 x 13,0 x 14,0 cm). Essas gaiolas foram fechadas com tampas as quais contém aberturas vedadas com tecido tipo 'voil', para possibilitar aeração, e alfinetes para fixar as folhas. Posteriormente, fêmeas de *O. sokolowskii*, com um dia de idade e previamente acasaladas por 24 horas, foram introduzidas nas gaiolas e alimentadas com gotículas de mel. Diariamente, foi feita reposição dos substratos alimentares para ambos os insetos e, quando as larvas atingiam a fase de pupa, eram transferidas individualmente para 'células' de placas de Elisa, cobertas com filme plástico de PVC transparente. Após a emergência, os adultos da traça ou do parasitóide foram coletados e removidos para as gaiolas de criação.

Obtenção e produção dos isolados dos fungos

Os isolados E9 de *M. anisopliae* e Esalq 447 de *B. bassiana* foram provenientes da coleção do Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE. A seleção desses isolados foi baseada em Silva *et al.* (2003), que verificaram, em laboratório, maior patogenicidade deles à *P. xylostella*. Os isolados foram revigorados em lagartas de 3º instar de *Diatraea saccharalis* (Fabricius). Por ocasião dos bioensaios, foram repicados em BDA + A (Batata-dextrose-ágar + Sulfato de estreptomicina) e, após 7 dias, o isolado de *M. anisopliae* foi multiplicado em BDA + A, e o isolado de *B. bassiana*, em meio completo (MC), e incubados em câmara climatizada tipo B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas, onde permaneceram por um período de 10 dias.

Viabilidade dos isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana*

A viabilidade dos isolados foi avaliada por meio de duas placas de Petri contendo BDA + A, nas quais foram colocados 0,1 mL de suspensão contendo 10^7 conídios mL⁻¹, espalhando-se com alça de Drigaslky. As placas foram incubadas em câmara climatizada tipo B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase por 24 horas. As leituras foram efetuadas em microscópio óptico, mediante a determinação do percentual de conídios germinados e não-germinados, contando-se 100 conídios por placa 24 horas após o plaqueamento, totalizando 200 conídios em cada avaliação.

Efeito dos isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre adultos de *O. sokolowskii*

As suspensões foram preparadas a partir de placas de Petri contendo meio de cultura com os entomopatógenos, adicionando-se 15 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween® 80 a 0,01% (ADE+E). As suspensões foram filtradas em gaze esterilizada e aferidas mediante quantificação em câmara de Neubauer, com o auxílio de um microscópio óptico; posteriormente, foram ajustadas para 10^7 conídios mL⁻¹. A testemunha foi tratada com água destilada esterilizada contendo espalhante adesivo Tween 80® a 0,01%.

Gaiolas plásticas circulares (6,5 cm de diâmetro x 7,5 cm de altura), com duas aberturas laterais (2,5 cm de diâmetro) vedadas com tecido tipo 'voil', foram pulverizadas internamente com 2 mL da suspensão fúngica na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹, com auxílio de um microatomizador da marca Paasche "VL" e colocadas para secar na câmara de fluxo laminar. Posteriormente, 10 adultos do parasitóide com um dia de idade foram introduzidos em cada gaiola e alimentados com gotículas de mel, dispostas na parte lateral interna da gaiola. Em seguida, as gaiolas plásticas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 12h de fotofase e UR $75 \pm 5\%$. As avaliações foram feitas diariamente, de forma que a patogenicidade foi aferida nos primeiros 10 dias; após esse período, os adultos foram mantidos para estudo da longevidade. Os insetos mortos foram transferidos para câmaras úmidas e mantidos à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $75 \pm 5\%$ de UR e fotofase de 12 horas para confirmação do agente causal.

O experimento foi efetuado em delineamento inteiramente casualizado, constando de 3 tratamentos com 10 repetições. Cada parcela foi composta por 10 parasitóides, totalizando 100 parasitóides por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância, na qual foi empregado o programa Sanest versão 3.0, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p=0,05$).

Resultados e discussão

A viabilidade dos conídios dos isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* utilizados nos experimentos foram superiores a 95%. A mortalidade total de adultos de *O. sokolowskii* foi de 26 e 15% promovida por *B. bassiana* e *M. anisopliae*, respectivamente, apresentando diferença ($F= 15,3310$; $P= 0,0001$) entre os fungos (Tabela 1). A mortalidade confirmada foi de 9 e 21% ocasionada por *M. anisopliae* e *B. bassiana*, respectivamente, não diferindo significativamente entre si ($F= 15,0979$; $P= 0,0000$). Os resultados

demonstram que o isolado de *B. bassiana* foi mais patogênico aos adultos de *O. sokolowskii* que o isolado de *M. anisopliae* (Tabela 1). De La Rosa *et al.* (2000) verificaram que o isolado Bb4 de *B. bassiana* e Ma4 de *M. anisopliae* foram patogênicos ao parasitóide da broca do café *Prorops nasuta* Waterston, na qual o *B. bassiana* ocasionou 71,9% de mortalidade, e *M. anisopliae* proporcionou 45%.

Tabela 1. Mortalidade total (%) e confirmada de adultos de *O. sokolowskii* após a exposição a *B. bassiana* e *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹. Temp.: $26 \pm 1^\circ\text{C}$; UR: $75 \pm 5\%$ e fotofase: 12 horas.

Tratamentos	Mortalidade (%)	
	Total	Confirmada
<i>B. bassiana</i>	26,0 \pm 0,49 a	21,0 \pm 0,39 a
<i>M. anisopliae</i>	15,0 \pm 0,42 b	9,0 \pm 0,23 b
Testemunha	8,0 \pm 0,25 b	0,0 \pm 0,00 c
Coefficiente de variação	24,86%	21,08%

¹Médias (\pm EP) seguidas por letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0,05$).

A longevidade de *O. sokolowskii* variou entre 3 e 46 dias e a longevidade média foi de 16,4; 18,4 e 23,1 dias, quando confinados em gaiolas pulverizadas com *B. bassiana*, *M. anisopliae* e ADE + E, respectivamente; não houve, contudo, diferença ($F= 1,0000$; $P= 0,5000$) (Figura 1).

Ferronato (1984), estudando a biologia de *O. sokolowskii*, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $75 \pm 5\%$ e 14 horas de fotofase, verificou resultado semelhante, constatando que a longevidade média de fêmeas do parasitóide na ausência de hospedeiros alcançou $23,1 \pm 1,7$ dias. Tounou *et al.* (2003) verificaram que a longevidade do parasitóide de ovos *Anagrus atomus* Linnaeus não foi influenciada pelos isolados Ma43 de *M. anisopliae* e Pfr12 de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown e Smith.

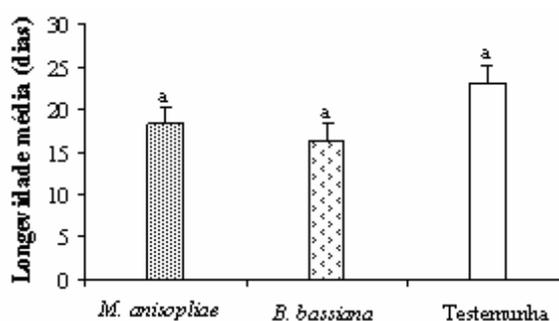


Figura 1. Longevidade média de adultos de *O. sokolowskii*, após exposição a *B. bassiana* e *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹. Temp.: $26 \pm 1^\circ\text{C}$; UR: $75 \pm 5\%$ e fotofase: 12 horas. (Tratamentos com a mesma letra na barra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p=0,05$)).

As pesquisas citadas evidenciam os diferentes resultados quanto à seletividade de fungos

entomopatogênicos aos parasitóides e essa variabilidade é relacionada ao isolado, à concentração e às condições experimentais utilizadas, porém, para evitar ou minimizar esses efeitos negativos, torna-se necessário selecionar patógenos específicos (Goettel e Hajek, 2001).

Os resultados obtidos demonstram que os isolados testados não reduziram a longevidade média de *O. sokolowskii*, apesar de patogênicos na concentração testada. De acordo com Ferronato (1984), a capacidade de parasitismo é maior na primeira semana de vida. Como não houve diferença entre os tratamentos, acredita-se que os isolados não serão prejudiciais a *O. sokolowskii* no período de maior capacidade de parasitismo. Portanto a implementação no manejo integrado de *P. xylostella* com *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *O. sokolowskii* pode ser uma excelente alternativa para favorecer o sistema produtivo das brássicas. Entretanto, para que se lance mão desses inimigos naturais de forma conjunta, é necessário aprofundar esse estudo mediante o conhecimento de novos isolados e concentrações mais adequadas, favorecendo a sua utilização no controle da traça-das-crucíferas.

Conclusão

Conclui-se que os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* não reduzem a longevidade média de *O. sokolowskii* e que o isolado Esalq 447 de *B. bassiana* é mais patogênico que o isolado E9 de *M. anisopliae* para *O. sokolowskii*.

Referências

- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 11, p. 289-370.
- CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A.G. A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. *Neotrop. Entomol.*, Londrina, v. 30, n. 2, p. 327-332, 2001.
- CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A. Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v. 36, n. 1, p. 7-13, 2001.
- CASTELO BRANCO, M. et al. Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. *Hortic. Bras.*, Brasília, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.
- DE LA ROSA, W. et al. Laboratory evaluation of the impact of entomopathogenic fungi on *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae), a parasitoid of the coffee berry borer. *Environ. Entomol.*, College Park, v. 29, n. 1, p. 126-131, 2000.
- FERRONATTO, S.W.J. et al. Exigências térmicas e estimativa

de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. *Neotrop. Entomol.*, Londrina, v. 32, n. 3, p. 407-411, 2003.

FERRONATTO, E.M.O. *Abundância de larvas e pupas de Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C., mortalidade causada por parasitóides e biologia de *Tetrastichus sokolowskii* Kurdjumov, 1912 (Hymenoptera: Eulophidae). 1984. Dissertação (Mestrado em Ecologia)—Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1984.

FURLONG, M.J.; PELL, J.K. Conflicts between a fungal entomopathogen, *Zoophthora radicans*, and two larval parasitoids of the diamondback moth. *J. Invert. Pathol.*, San Diego, v. 76, n. 2, p. 85-94, 2000.

GOETTEL, M.S.; HAJEK, A.E. Evaluation of non-target effects of pathogens used for management of arthropods. In: WAJNBERG, E. et al. (Ed.). *Evaluating indirect ecological effects of biological control*. New York: CAB, 2001. cap. 5, p. 81-97.

GUO, S.J. et al. Toxicity of insecticides to *Oomyzus sokolowskii*, a parasitoid of diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Chinese J. Biolog. Control*, Beijing, v. 14, n. 3, p. 97-100, 1998.

KFIR, R. Parasitoids of *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in South Africa: an annotated list. *Entomophaga*, Paris, v. 42, n. 4, p. 517-523, 1997.

LACEY, L.A.; MESQUITA, A.L. Interaction of entomopathogenic fungi, insect parasitoids and their hosts. *Embrapa Soja. Documentos*, n. 184, p. 31-35, 2002.

LOGES, V. Danos causados pela traça das crucíferas, *P. xylostella* (Linnaeus, 1758) em cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) e efeito sobre populações da praga e do parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912) em condições de campo. 1996. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)—Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1996.

MAGALHÃES, B.P. et al. Interações entre entomopatogênicos, parasitóides e predadores, p.195-216. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. cap. 7, p. 195-216.

MAHMOOD, A.R. et al. Lack of intraspecific biological variation between two geographical populations of *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae), a gregarious larval-pupal parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bull. Entomol. Res.*, Farnham Royal, v. 94, n. 2, p. 169-177, 2004.

MASUDA, T. Microbial control of diamondback moth, *Plutella xylostella*, by an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. II. Effects of temperature on mycoses and conidial invasion time. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.*, Tokyo, v. 44, n. 3, p. 177-182, 2000.

PEREIRA, F.F. et al. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotrop. Entomol.*, Londrina, v. 33, n. 2, p. 231-236, 2004.

RIETHMACHER, G.W. et al. Epizootics of *Pandora*

blunckii and *Zoophthora radicans* (Entomophthoraceae: Zygomycotina) in diamondback moth populations in the Philippines, In: TALEKAR, N.S. (Ed.). *Diamondback moth management: proceedings of the second international workshop*. Taiwan: AVRDC, 1992.

SILVA, V.C.A. *et al.* Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotrop. Entomol.*, Londrina, v. 32, n. 4, p. 653-658, 2003.

STOLZ, I. *et al.* Susceptibility of the hymenopteran parasitoids *Apoanagyrus* (= *Epidinocarsis*) *lopezi* (Encyrtidae) and *Phanerotoma* sp. (Braconidae) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Bioc. Sci. Technol.*, Oxford, v. 12, n. 3, p. 349-360, 2002.

TALEKAR, N.S.; HU, W.J. Characteristics of parasitism of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) by *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae). *Entomophaga*, Paris, v. 41, n. 1, p. 45-52, 1996.

TORRES, A.L. *Efeitos de cultivares de repolho e extratos vegetais na biologia de Plutella xylostella* (L.) e no parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov). 2004. Tese (Doutorado)–Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

TOUNOU, A.K. *et al.* Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of the green leafhopper *Empoasca decipiens* (Homoptera: Cicadellidae) and potential side effects on the egg parasitoid *Anagrus atomus* (Hymenoptera: Mymaridae). *Bioc. Sci. Technol.*, Oxford, v. 13, n. 8, p. 715-728, 2003.

Received on October 04, 2005.

Accepted on April 24, 2006.