

BIOLOGICAL CONTROL

Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) Criada em Dois Genótipos de Tomateiro

TERESINHA A. GIUSTOLIN, JOSÉ D. VENDRAMIM, SÉRGIO B. ALVES E SOLANGE A. VIEIRA

Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP
Caixa postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP

Neotropical Entomology 30(3): 417-421 (2001)

Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) Reared on Two Genotypes of Tomato

ABSTRACT - *Tuta absoluta* (Meyrick) larvae were fed on tomato leaves *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417, resistant) and *L. esculentum* (cv. Santa Clara, susceptible) in order to obtain different instar larvae. Bioassays with tomato leaves of both genotypes untreated and treated with *Beauveria bassiana* (Bb) were conducted for each larval instar. Daily mortality was evaluated until the end of the larval phase. Feeding on PI 134417 reduced the larval survival of *T. absoluta*. When Bb was applied to the two genotypes of *Lycopersicon*, mortality occurred in all *T. absoluta* instars. Application of Bb on tomato leaves resulted synergistic or additive effects with the resistant genotype on larval survival. These effects depended on the instar the larvae fed on Bb-treated leaves.

KEY WORDS: Insecta, pinworm, plant resistance, entomopathogenic fungus.

RESUMO - Lagartas de *Tuta absoluta* (Meyrick) foram criadas em folhas de tomateiro *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417, resistente) e *L. esculentum* (cv. Santa Clara, suscetível) até atingirem diferentes ínstares. Para cada um dos ínstares, foi desenvolvido um experimento no qual as lagartas foram alimentadas com folhas dos dois genótipos tratadas com suspensão de conídios de *Beauveria bassiana* (Bb). A mortalidade foi avaliada diariamente até o final da fase larval. A alimentação de *T. absoluta* sobre o genótipo PI 134417 reduziu a sobrevivência larval. A aplicação de Bb nos dois genótipos de *Lycopersicon* provocou mortalidade em todos os ínstares. Entretanto, Bb inoculado no genótipo resistente provocou efeito sinérgico ou aditivo na sobrevivência larval. Este efeito foi dependente do ínstar em que as lagartas foram alimentadas com folhas tratadas com o fungo.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, traça-do-tomateiro, resistência de plantas, fungo entomopatogênico.

Várias alternativas têm sido estudadas para controle da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick), dentre as quais destaca-se a utilização de genótipos de tomateiro (*Lycopersicon* spp.) como fonte de resistência (Lourenção *et al.* 1984, Barona *et al.* 1989, Picanço *et al.* 1995). O material selvagem *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) destaca-se por apresentar resistência a grande número de pragas, incluindo *T. absoluta* (Lourenção *et al.* 1985, Giustolin & Vendramim 1994, Maluf *et al.* 1997, Gontijo-Lebory *et al.* 1999).

A traça-do-tomateiro é suscetível ao fungo *Beauveria bassiana* (Bb) (Giustolin 1996). A eficiência desse fungo, entretanto, pode ser alterada por aleloquímicos presentes na planta hospedeira (Hare & Andreadis 1983, Ramoska & Todd 1985, Costa & Gaugler 1989, Alves *et al.* 1990). Esses efeitos têm sido bastante discutidos na literatura. Hare & Andreadis

(1983), por exemplo, observaram que larvas de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) criadas em *L. esculentum* foram resistentes à infecção, impedindo o desenvolvimento do fungo. Os autores sugeriram que o alcalóide tomatina, presente nas folhas de tomateiro e conhecido por suas propriedades anti-fúngicas, pode ter retardado a infecção por Bb. Este fato também foi comprovado por Costa & Gaugler (1989) que, estudando a ação da tomatina sobre Bb, observaram que esta inibiu a formação e desenvolvimento *in vitro* das colônias do fungo. Gallardo *et al.* (1990) observaram que houve inibição do fungo *Nomuraea rileyi* pela α -tomatina em teste *in vitro* e que a associação deste glicoalcalóide com o fungo provocou efeitos prejudiciais no desenvolvimento larval de *Helicoverpa zea* (Bod.) principalmente sobre o peso das lagartas criadas na concentração maior. Na concentração menor ocorreu o inverso, levando o autor a concluir que o

menor nível de inóculo permitiu que a α -tomatina “protegesse” o hospedeiro da ação do fungo.

Este trabalho teve como objetivo estudar as possíveis alterações da patogenicidade de *B. bassiana* sobre lagartas de diferentes idades de *T. absoluta* criadas em dois genótipos de tomateiro, um resistente e um suscetível ao ataque desse inseto.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido em câmara climatizada ($T = 26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h) utilizando-se lagartas de *T. absoluta* alimentadas com folhas dos genótipos *L. hirsutum* f. *glabratum* (linhagem PI 134417 - resistente) e *L. esculentum* (cv. Santa Clara - suscetível). As folhas foram tratadas com suspensão do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bb).

Folhas dos dois genótipos foram coletadas de plantas com 15 a 20 cm de altura, mantidas em casa de vegetação e colocadas em placas plásticas (6,5 x 2,5 cm) e infestadas com lagartas recém-eclodidas. Visando à obtenção de insetos em diferentes estágios de desenvolvimento, as lagartas foram mantidas alimentando-se de folhas da cv. Santa Clara e PI 134417, pelos seguintes períodos de tempo, respectivamente: a) um dia para o 1º ínstar; b) quatro e cinco dias para atingir o 2º ínstar; c) seis e oito dias para atingir o 3º ínstar, e d) 10 e 12 dias para atingir o 4º ínstar (Giustolin 1996). Ao atingirem as referidas idades, as lagartas foram transferidas para folhas tratadas com suspensão de conídios de Bb. Foi ainda realizado um experimento em que as lagartas não receberam qualquer alimento antes de receberem folhas tratadas. Ao todo foram instalados cinco experimentos, sendo quatro com lagartas previamente alimentadas por diferentes períodos e um com lagartas recém-eclodidas.

O isolado de *B. bassiana* foi cedido pelo laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola (ESALQ/USP). Foi isolado de *Solenopsis invicta* Buren (Cuiabá, MT) e armazenado na micoteca do referido laboratório sob o número 447. A suspensão foi preparada com conídios, 100% viáveis, mais espalhante adesivo (Tween 20@ a 1%), utilizando-se a concentração de $1,0 \times 10^6$ conídios/ml, correspondente a CL_{70} para lagartas recém-eclodidas (Giustolin 1996). Para o

tratamento com Bb, discos foliares (diâmetro de 2,1 cm) dos dois genótipos foram imersos na suspensão de conídios, por cinco segundos, em câmara de fluxo laminar, onde permaneceram até a evaporação do excesso de líquido. Os discos foram transferidos para placas plásticas (6,5 x 2,5 cm) forradas com papel-filtro esterilizado e umedecido e, então, infestados com lagartas nos diferentes estágios de desenvolvimento. Discos dos respectivos genótipos imersos em água foram utilizados como testemunha.

Para cada estágio de desenvolvimento, cada um deles constituindo um experimento, foram utilizados os seguintes tratamentos: Santa Clara + Bb; Santa Clara + água; PI 134417 + Bb e PI 134417 + água. O tratamento com Bb foi feito apenas uma vez no início do experimento, sendo, sempre que necessário, fornecidas novas folhas (não tratadas) às lagartas. Para cada um dos cinco experimentos, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e 20 repetições (com três lagartas cada).

As placas foram observadas diariamente, avaliando-se a mortalidade larval. Os dados de cada um dos experimentos, que correspondeu a cada uma das idades das lagartas, foram submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), adotando-se esquema fatorial, considerando-se os fatores genótipo e patógeno.

Resultados e Discussão

Nos experimentos com lagartas de *T. absoluta* recém-eclodidas (sem alimentação antes do fornecimento de folhas tratadas) e de 4º ínstar, a mortalidade larval deveu-se apenas ao fator patógeno (Bb), constatando-se maior mortalidade nas parcelas tratadas independente dos genótipos (Tabelas 1 e 2). Nesses dois experimentos não foi observada a ocorrência de sinergismo entre os fatores genótipo e patógeno. Quando as lagartas foram alimentadas com folhas tratadas logo após a eclosão, cerca de 25% de mortalidade larval foi constatada já no dia seguinte. Até o 4º dia de avaliação, a mortalidade provocada pelo patógeno foi maior nas lagartas criadas em ‘Santa Clara’ que na PI 134417. A partir do 5º dia, os valores de mortalidade (cerca de 80%) foram semelhantes nos dois genótipos (Fig. 1A). Quando as lagartas receberam folhas tratadas no 4º ínstar, a eficiência do patógeno foi semelhante

Tabela 1. Mortalidade (%) ao final da fase larval de *T. absoluta* criada em *Lycopersicon* spp. e alimentada no 1º ínstar com folhas tratadas com suspensão de conídios de *B. bassiana*.

Tratamentos	Recém-eclodida ¹			1 dia ²		
	Não tratada	Tratada	Média	Não tratada	Tratada	Média
Santa Clara	15,0 ± 5,5	91,7 ± 3,3	53,3 a	6,7 ± 3,1	50,8 ± 6,6	28,8 a
PI 134417	20,0 ± 5,1	98,3 ± 1,7	59,2 a	35,0 ± 6,6	84,4 ± 6,4	59,5 b
Média	17,5 A	95,0 B		20,8 A	67,4 B	

¹ sem alimentação antes do fornecimento de folhas tratadas

² com alimentação por 1 dia antes do fornecimento de folhas tratadas

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna ou maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Tabela 2. Mortalidade (%) ao final da fase larval de *T. absoluta* criada em *Lycopersicon* spp. e alimentada, no 2º, 3º e 4º instares com folhas tratadas com suspensão de conídios de *B. bassiana*.

Tratamentos	2º instar			3º instar			4º instar		
	Não tratada	Tratada	Média	Não tratada	Tratada	Média	Não tratada	Tratada	Média
Santa Clara	5,0± 2,7 aA	46,7± 8,2 aB	25,8	6,7± 3,2 aA	63,3± 6,4 aB	35,0	1,8± 1,7	43,3± 8,1	22,6 a
PI 134417	21,7± 4,4 bA	100,0± 0,0 bB	60,8	13,3± 5,6 aA	98,3± 1,7 bB	55,8	10,4 ± 4,0	33,3± 8,1	21,7 a
Média	13,3	73,3		10,0	80,8		5,7 A	38,7 B	

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna ou maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

nos dois genótipos, ocorrendo aumento gradativo na mortalidade a partir do 4º dia, não chegando, no entanto, a atingir 45%, ao final da fase larval (Fig. 1E). Nesses dois experimentos, quando as lagartas receberam folhas sem Bb, a mortalidade larval, nos dois genótipos, foi relativamente baixa ao longo do período de avaliação (Figs. 1A e 1E).

A alta mortalidade larval no experimento com lagartas recém-eclodidas alimentadas nos genótipos tratados contrastou com os resultados observados nesses mesmos tratamentos no experimento com lagartas de 4º instar. Isso pode ter ocorrido em razão da maior suscetibilidade das lagartas mais jovens e ou devido ao comportamento desse inseto minador que, logo após a eclosão, raspa a folha durante 20 a 45 min. antes de penetrar no mesofilo (Coelho & França 1987), possibilitando um contato mais prolongado com os conídios de Bb. Em relação às lagartas que receberam folhas tratadas apenas no 4º instar, a baixa mortalidade ao final da fase pode ter ocorrido devido a concentração insuficiente de conídios de Bb, considerando-se o maior tamanho do inseto e ou ao fato de o inseto, no último instar, ter liberado a exúvia antes da penetração do tubo germinativo do patógeno. Esta última hipótese é respaldada pelos estudos de Fargues (1972), que mencionou que a liberação da exúvia é um obstáculo natural para a infecção e a contaminação do inseto por Bb.

No experimento em que as lagartas de 1º instar foram alimentadas nos genótipos durante um dia, antes de receberem folhas tratadas, a mortalidade larval deveu-se aos fatores genótipo e patógeno. Assim, aquelas criadas na PI 134417 apresentaram maior mortalidade ao final da fase larval que as criadas na cv. Santa Clara, independente da presença do entomopatógeno. Por outro lado, as lagartas alimentadas com folhas tratadas com Bb apresentaram maior mortalidade que as alimentadas com folhas não tratadas, independente dos genótipos (Tabela 1). Nesse caso, não foi observada interação entre os fatores de resistência com Bb, ocorrendo, portanto, efeitos independentes e aditivos. Os dados de mortalidade acumulada nesse experimento (Fig. 1 B) evidenciam que cerca de 50% das lagartas morreram cinco dias após iniciarem a alimentação na PI 134417 tratada com Bb, enquanto que em 'Santa Clara' esse mesmo percentual ocorreu 11 dias após, indicando maior virulência de Bb na PI 134417. Nos genótipos não tratados, a mortalidade larval foi mais baixa em relação às respectivas parcelas tratadas, principalmente em 'Santa Clara' onde, ao final da fase larval, a mortalidade atingiu apenas 7%, contra 35% na PI 134417.

Nos experimentos em que as lagartas receberam folhas tratadas no 2º e no 3º instar, foi constatada interação significativa dos fatores genótipo e patógeno. A mortalidade larval na PI 134417 foi maior que na cv. Santa Clara, tanto com folhas tratadas com Bb (para os dois instares), como com folhas não tratadas (lagartas de 2º instar) (Tabela 2). O efeito do patógeno foi bastante evidente nos dois instares, com maior mortalidade larval nas folhas tratadas nos dois genótipos (Tabela 2). No tratamento PI 134417 mais Bb, a mortalidade foi maior que o somatório das mortalidades causadas pelos fatores genótipo e Bb isoladamente, ocorrendo, nesse caso, sinergismo dos dois fatores. Com lagartas que receberam folhas tratadas no 2º instar (Fig. 1C), a mortalidade acumulada na PI 134417, no 5º dia após a aplicação do patógeno, já era de 50%, atingindo 100% ao final do experimento. Na cv. Santa Clara, entretanto, a mortalidade não atingiu 50%, mesmo ao final do experimento (10 dias após a aplicação de Bb). Para lagartas cuja alimentação em folhas tratadas ocorreu no 3º instar (Fig. 1D), cerca de 50% de mortalidade nas parcelas tratadas foi observada após quatro dias na PI 134417 e após sete dias em 'Santa Clara'. Nesses dois experimentos (lagartas de 2º e 3º instar), a mortalidade larval nos genótipos não tratados foi relativamente baixa ao longo de todo o período de avaliação (Figs. 1C e 1D).

Nos experimentos com as lagartas alimentadas com folhas tratadas nos 1º, 2º e 3º instares, as altas mortalidades ocorridas no tratamento PI 134417 mais Bb em relação à 'Santa Clara' mais Bb (Tabelas 1 e 2), provavelmente, se deveram aos fatores de resistência da PI 134417, que teriam estressado os insetos, tornando-os mais suscetíveis à doença. Hare & Andreadis (1983) também observaram maior suscetibilidade de *L. decemlineata* a Bb nos genótipos resistentes de *Solanum* spp. e *L. esculentum* em relação aos genótipos suscetíveis. Já, com lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão, essa diferença entre genótipos não ficou caracterizada, pois nos dois genótipos as mortalidades foram bastante elevadas, atingindo índices acima de 90% (Tabela 1).

Em nenhum dos experimentos, foi observada variação na suscetibilidade do inseto em função dos instares em que o mesmo foi submetido ao patógeno. Fargues (1972) observou que larvas de *L. decemlineata* em instares mais avançados são menos suscetíveis ao fungo e que nos primeiros instares elas suprimem ou superam a infecção através da liberação da exúvia antes que as hifas alcancem o hemocele. O mesmo

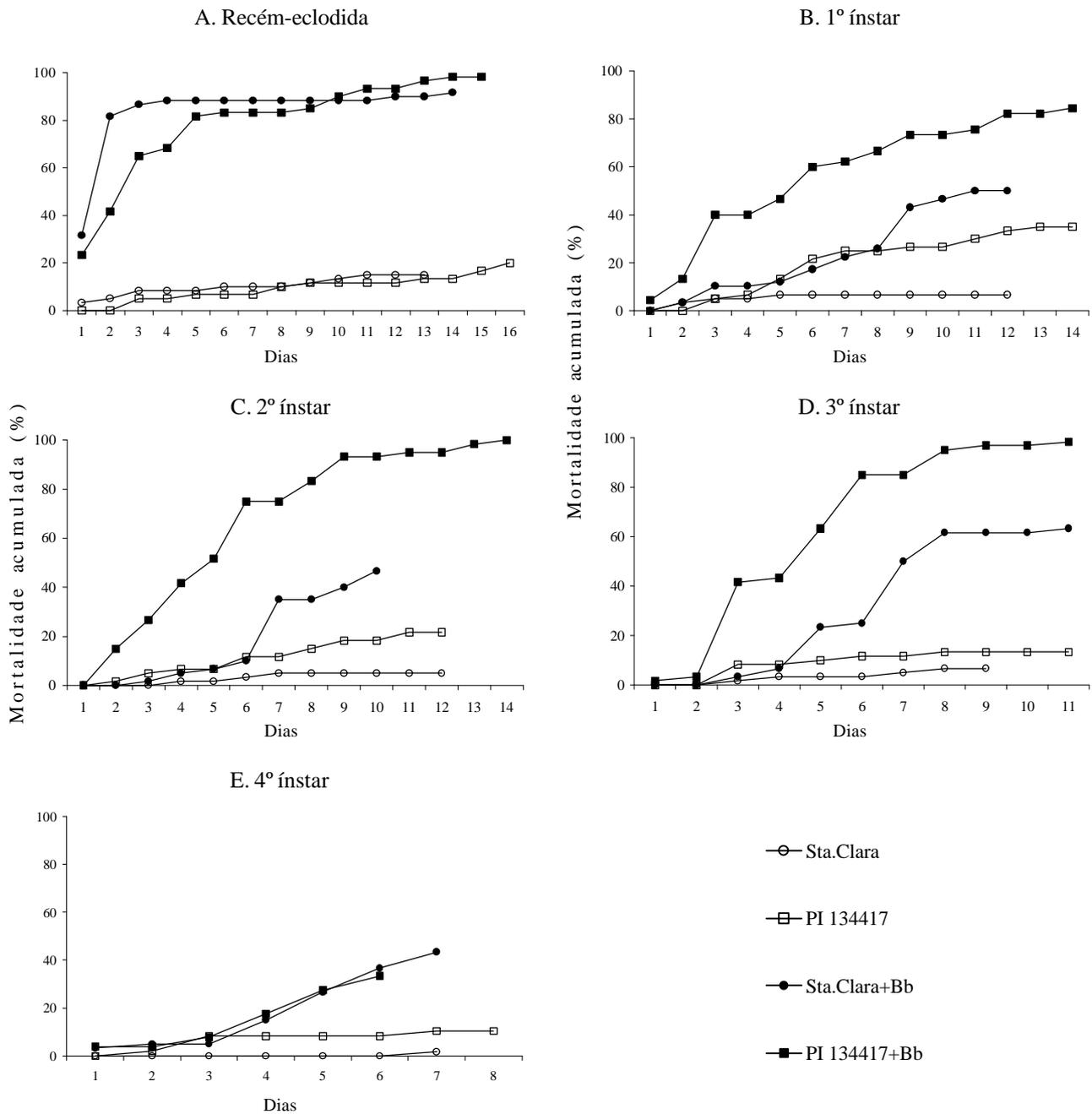


Figura 1. Mortalidade larval acumulada de *T. absoluta* criada em *Lycopersicon* spp. e alimentada, nos diferentes ínstars, com folhas tratadas com suspensão de conídios *B. bassiana* (Bb).

autor observou, ainda, maior mortalidade das larvas tratadas com Bb, três dias antes de sofrerem ecdisse. Li *et al.* (1995) também observaram diferença na suscetibilidade de *Choristoneura rosaceana* (Harris) em diferentes ínstars a *Bacillus thuringiensis*, sendo mais suscetível durante o 4º ínstar e menos no 6º ínstar.

Nos tratamentos sem aplicação de patógeno, observou-se que a linhagem PI 134417 causou maior mortalidade larval que a cv. Santa Clara. A mortalidade causada pela

linhagem foi maior nos primeiros ínstars, diminuindo com o desenvolvimento, demonstrando que o inseto é mais suscetível a esse genótipo no início da fase larval (Tabelas 1 e 2). Estes dados confirmam novamente o efeito prejudicial da linhagem PI 134417 sobre as lagartas de *T. absoluta* e, ao mesmo tempo, indicam que o referido patógeno é promissor no controle do inseto. Entretanto, efeitos adversos dos fatores químicos dos genótipos sobre Bb, não foram observados em nenhum dos experimentos.

Literatura Citada

- Alves, S.B., P.S.M. Botelho & R. Salomão. 1990.** Influência de diferentes tipos de alimento na suscetibilidade de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) aos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. An. Soc. Entomol. Brasil. 19: 383-391.
- Barona, H.G., A.S. Parra & F.A.C. Vallejo. 1989.** Evaluación de espécies silvestres de *Lycopersicon* sp., como fuente de resistencia a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) y su intento de transferencia a *Lycopersicon esculentum* Mill. Acta Agron. 39: 34-45.
- Coelho, M.C.F. & F.H. França. 1987.** Biología e quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. Pesq. Agropec. Bras. 22: 129-135.
- Costa, S.D. & R. Gaugler. 1989.** Sensitivity of *Beauveria bassiana* to solanine and tomatine: plant defensive chemicals inhibit an insect pathogen. J. Chem. Ecol. 15: 697-707.
- Fargues, J. 1972.** Étude des conditions d'infection des larves de doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* Say, par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. [Fungi Imperfecti]. Entomophaga, 17: 319-337.
- Gallardo, F., D.J. Boethel, J.R. Fuxa & A. Richter. 1990.** Susceptibility of *Heliothis zea* (Boddie) larvae to *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson effects of α -tomatine at the third trophic level. J. Chem. Ecol. 16: 1751-1759.
- Giustolin, T.A. & J.D. Vendramim. 1994.** Efeito de duas espécies de tomateiro na biologia de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick). An. Soc. Entomol. Brasil. 23: 511-517.
- Giustolin T.A. 1996.** Efeito de dois genótipos de *Lycopersicon* spp. associados aos entomopatógenos *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* e *Beauveria bassiana* no desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lep., Gelechiidae). Piracicaba, 1996. 99p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- Gontijo-Labory, C.R., L.V.C. Santa-Cecília, W.R. Maluf, M. das G. Cardoso, E. Bearzotti & J.C. de Souza. 1999.** Seleção indireta para teor de 2-tridecanona em tomateiros segregantes e sua relação com a resistência à traça-do-tomateiro. Pesq. Agropec. Bras. 34: 733-740.
- Hare, J.D. & T.G. Andreadis. 1983.** Variation in susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. Environ. Entomol. 12: 1892-1897.
- Li, S.Y., S.M. Fitzpatrick & M.B. Isman. 1995.** Susceptibility of different instars of the obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. J. Econ. Entomol. 88: 610-614.
- Lourenção, A.L., H. Nagai & M.A.T. Zullo. 1984.** Fontes de resistência a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. Bragantia 43: 569-577.
- Lourenção, A.L., H. Nagai, W.J. Siqueira & M.I.S. Fonseca. 1985.** Seleção de linhagens de tomateiro resistentes a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick). Hortic. Bras. 3: 77.
- Maluf, W.R., L.V. Barbosa & L.V.C. Santa Cecília. 1997.** 2-tridecanone-mediated of mechanisms of resistance to the South American tomato pinworm *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera – Gelechiidae) in *Lycopersicon* spp. Euphytica 93: 189-194.
- Picanço, M.C., D.J.H. da Silva, G.L.D. Leite, A.C. da Mata & G.N. Jham. 1995.** Intensidade de ataque de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) ao dossel de três espécies de tomateiro. Pesq. Agropec. Bras. 30: 429-433.
- Ramoska, W.A. & T. Todd. 1985.** Variation in efficacy and viability of *Beauveria bassiana* in the chinch bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a result of feeding activity on selected host plants. Environ. Entomol. 14: 146-148.

Received 14/IV/00. Accepted 10/VI/01.