

## Determinação de Concentrações de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o Controle de Insetos-Pragas de Grãos Armazenados

Alcides Moino Jr.<sup>1</sup> e Sérgio B. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ESALQ/USP, Departamento de Entomologia, Caixa postal 9, 13418-900, Piracicaba/SP.

---

An. Soc. Entomol. Brasil (26) 1: 15-20 (1997)

Determination of Dosages of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. for Stored Grain Pests Control

**ABSTRACT** - The susceptibility of two isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against *Sitophilus oryzae* (L.), *S. zeamais* (Motsch.) and *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) was determined. Boxes containing stored rice previously inoculated with conidia of two *B. bassiana* isolates were infested with the three insect species and maintained at  $26 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  of RH, and photophase of 12 hours. All three species were susceptible to both fungal isolates. Both isolates were efficient against *S. oryzae*, at the concentration of 0.5 g conidia/100 g of grain. The isolate 604 was the most efficient against *S. zeamais*, at the concentration of 0.1 g conidia/100 g of grain. Dosages of 0.01 g (isolate 476) and 0.05 g (isolate 604)/100 g of grain provided high mortality levels of *R. dominica*, confirming the higher susceptibility of this species to the pathogen.

**KEY WORDS:** Insecta, stored grain pests, entomopathogenic fungi, microbial control.

**RESUMO** - Determinou-se a suscetibilidade de *Sitophilus oryzae* (L.), *S. zeamais* (Motsch.) e *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) a dois isolados do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Para isso foram usados recipientes contendo arroz beneficiado, inoculado previamente com conídios dos isolados, infestados com as três espécies de insetos. Esses recipientes foram mantidos a  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de UR e fotofase de 12 horas. As três espécies foram suscetíveis aos dois isolados do patógeno. Os dois isolados foram eficientes para o controle de *S. oryzae*, na concentração de 0,5 g de conídios/100 g de grãos. Para *S. zeamais*, o isolado 604 foi mais eficiente na concentração de 0,1 g de conídios/100 g de grãos. Com relação a *R. dominica*, foram suficientes dosagens de 0,01 g (isolado 476) e 0,05 g (isolado 604)/100 g de grãos, confirmando a maior suscetibilidade desta espécie ao patógeno.

**PALAVRAS-CHAVE:** Insecta, pragas de grãos armazenados, fungos entomopatogênicos, controle microbiano.

---

A utilização contínua de inseticidas para o controle das pragas de grãos armazenados vem causando problemas sérios, como o surgimento de resistência das pragas aos pro-

duto utilizados e a presença de resíduos tóxicos em grãos, rações e outros (Pacheco *et al.* 1990, Sartori *et al.* 1990). Dessa forma, há a necessidade de pesquisas com outros mé-

todos de controle, dentre os quais o controle biológico por entomopatógenos, método que mais se assemelha aos produtos químicos, quanto à facilidade de produção, aplicação e eficácia.

A determinação de dosagens ou concentrações de um determinado patógeno para o controle de insetos é importante na escolha da estratégia para sua utilização. Alguns trabalhos têm sido realizados visando o controle de pragas de grãos armazenados por fungos entomopatogênicos. Ferron & Robert (1975) efetuaram estudos com o caruncho-do-feijão, *Acanthoscelides obtectus* (Say), expondo-o a diferentes concentrações de conídios de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *B. tenella* (Delacroix) Siemaszko, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Vassiljevski, verificando a ocorrência de infecção pelos quatro patógenos. Hluchy & Samsinakova (1989) estudaram a suscetibilidade de larvas do 3º ínstar de *Galleria mellonella* (L.) e adultos de *Sitophilus granarius* (L.) a *B. bassiana*, na formulação "Boverosil". B. Frydocva *et al.* (dados não publicados) constataram que "Boverosil" foi eficiente no controle de *S. granarius* e *Oryzaephilus surinamensis* (L.). Searle & Doberski (1984), Ferron (1977), Rodrigues & Pratisoli (1990), Lourenção *et al.* (1993) e Adane *et al.* (1996) também trabalharam com fungos entomopatogênicos para o controle de pragas de grãos armazenados, estudando fatores que afetam o processo de doença nas condições ambientais específicas do armazenamento de grãos, bem como determinando dosagens necessárias para o controle eficiente dessas pragas. Esta pesquisa teve por objetivo determinar as concentrações dos isolados 476 e 604 de *B. bassiana* a serem aplicadas em grãos armazenados para o controle de *Sitophilus oryzae* (L.), *S. zeamais* Mots. e *Rhyzopertha dominica* (Fabr.).

### Material e Métodos

Os isolados de *B. bassiana* utilizados foram o 476 e o 604, selecionados de um total

de 72 isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Esses isolados foram inoculados em adultos de *S. oryzae*, *S. zeamais* e *R. dominica*, em concentrações de 0,001 a 1,0 g de conídios/100 g de grãos de arroz beneficiado. A produção do inóculo foi feita em arroz pré-cozido pelo método de bandejas (Alves 1986). Foram utilizados recipientes de plástico (250 ml), com 100 g de arroz beneficiado por recipiente, em cinco repetições por tratamento. Posteriormente, os recipientes com o arroz inoculado foram infestados com 20 insetos adultos de cada espécie e mantidos a  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  U.R. e fotofase de 12 horas, por 10 dias. Foram usadas as concentrações de 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 g de conídios/100 g de grãos para cada espécie de praga e uma testemunha (sem aplicação do fungo).

A avaliação da mortalidade foi feita 10 dias após a inoculação, sendo os insetos mortos lavados com álcool puro e água destilada para a desinfestação superficial e, em seguida, acondicionados individualmente em placas de poliestireno, as quais permaneceram em câmara úmida para a confirmação da mortalidade pelo patógeno. As mortalidades totais foram comparadas por meio da análise de variância e teste de Tukey, e as concentrações letais medianas ( $CL_{50}$ ) obtidas por meio da análise de Probit, com a utilização do programa MOBAE (M.L. Haddad & R.C.B. Moraes, não publicado).

### Resultados e Discussão

Analisando-se os valores de CL obtidos pelo método de Probit, não foi verificada diferença, com relação a *S. oryzae* entre o isolado 476 e o isolado 604 (Tabela 1). Com relação a *S. zeamais*, houve maior eficiência do isolado 604, a uma concentração menor, provocando a morte do mesmo número de insetos que o causado pelo isolado 476. Para *R. dominica*, foi possível constatar a sua maior sensibilidade aos isolados 476 e 604 quando comparada às outras duas espécies de insetos estudadas, já que usando concentrações da ordem de 10 a 100 vezes mais elevadas, é pos-

Tabela 1. Concentrações letais medianas (g conídios/100 g de grãos), intervalo de confiança (IC), coeficiente angular da reta (b) e valores de  $\chi^2$  obtidos pela análise de Probit para *Beuveria bassiana*, isolados 476 e 604, sobre as três espécies de insetos.

Inseto/isolado	CL <sub>50</sub>	IC	Valor de b	$\chi^2$
<i>S. oryzae</i> /476	0,0678	(0,0470;0,0979)	0,96004	5,71
<i>S. oryzae</i> /604	0,0915	(0,0511;0,1638)	0,84160	11,22
<i>S. zeamais</i> /476	0,0177	(0,0120;0,0261)	0,66895	3,36
<i>S. zeamais</i> /604	0,0067	(0,0039;0,0115)	0,99607	9,98
<i>R. dominica</i> /476	0,0004	(0,0001;0,0023)	0,99967	17,98
<i>R. dominica</i> /604	0,0013	(0,0006;0,0028)	0,99882	8,37

sível matar o mesmo número de insetos. Também pode-se observar, pela inclinação das retas demortalidade, com valores de 7,8 e 8,3, respectivamente, para os isolados 604 e 476, que esses isolados foram mais virulentos para *R. dominica* que para as outras duas espécies de *Sitophilus*.

Com relação à determinação da melhor concentração, observou-se, para *S. oryzae*, que as concentrações de 0,5 e 1,0 g de conídios/ 100 g de grãos, nos dois isolados, causaram maiores mortalidades após 10 dias da inoculação (Tabela 2). Assim, 0,5 g de conídios/ 100 g de grãos pode ser considerada como a concentração mínima indicada para o controle desta praga por meio da utilização dos dois isolados de *B. bassiana*. A concentração que melhor discriminou os dois isolados testados em *S. zeamais*, foi a de 0,1 g de conídios/ 100 g de grãos, indicando maior suscetibilidade deste inseto ao fungo *B. bassiana*, quando comparado com *S. oryzae*. Com relação a *R. dominica*, houve uma melhor discriminação a partir da concentração de 0,01 g de conídios/ 100 g de grãos para o isolado 476. Para o isolado 604, foram obtidas maiores mortalidades a partir da concentração de 0,05 g de conídios/100 g de grãos, sendo este inseto mais suscetível ao fungo que as duas espécies anteriormente mencionadas.

A maioria dos trabalhos realizados visando a determinação de concentrações de fungos

entomopatogênicos necessárias para o controle de pragas de grãos armazenados tem como base a metodologia que implica na pulverização de suspensões aquosas dos propágulos do patógeno sobre os insetos (Searle & Doberski 1984, Hluchy & Samsinakova 1989), o que dificulta a comparação com os dados obtidos neste trabalho, onde procurou-se uma melhor aproximação com o que seria uma aplicação viável do microrganismo no ambiente de armazenamento. Nessa linha, Lourenção *et al.* (1993) avaliaram a eficiência de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e pirimifós-metil quando adicionados a grãos de milho para o controle de *S. zeamais*. Foram estudadas duas concentrações, sendo 1,25 e 2,5 g de arroz (substrato da produção) + fungo por 125 g de grãos de milho, correspondendo a  $1,0 \times 10^{10}$  e  $2,0 \times 10^{10}$  conídios/100 g de grãos, semelhantes àquelas obtidas neste trabalho como eficientes para o controle da praga. Esses autores obtiveram com *B. bassiana*, 100 e 98,4% de mortalidade nas duas concentrações, respectivamente, sendo que *M. anisopliae* promoveu 86,5% de mortalidade dos insetos na maior concentração. Esses resultados confirmam a maior eficiência de *B. bassiana* em relação a *M. anisopliae*, que caracterizou-se como um patógeno menos agressivo, fato também observado na fase de seleção dos isolados que foram avaliados no presente trabalho.

Tabela 2. Percentagens médias de mortalidade de adultos de *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais* e *Rhyzopertha dominica* inoculados com os isolados 476 e 604 de *Beauveria bassiana* nas diferentes concentrações, 10 dias após a inoculação.

Concentração (g conídios/100 g grãos)	Isolado 476 <sup>1</sup>	Isolado 604 <sup>1</sup>
	<i>S. oryzae</i>	
Testemunha	0 a	0 a
0,001	7,0±2,00 ab	7,0±2,55 a
0,005	10,0±3,53 ab	17,0±3,39 a
0,01	22,0±5,14 b	10,0±1,58 a
0,05	44,0±8,57 c	44,0±1,87 b
0,1	52,0±2,55 c	55,0±6,89 b
0,5	84,0±2,45 d	77,0±5,38 c
1,0	87,0±2,55 d	77,0±4,35 c
CV	25,52 %	25,55 %
	<i>S. zeamais</i>	
Testemunha	8,0±2,55 a	8,0±2,55 a
0,001	26,0±3,00 ab	29,0±7,64 b
0,005	41,0±7,97 b	54,0±4,30 c
0,01	45,0±7,41 b	56,0±4,84 c
0,05	66,0±3,67 c	78,0±4,63 d
0,1	78,0±2,00 cd	85,0±0,00 de
0,5	83,0±2,55 cd	99,0±1,00 e
1,0	87,0±3,39 d	100,0±0,00 e
CV	20,40 %	15,27 %
	<i>R. dominica</i>	
Testemunha	0 a	0 a
0,001	69,0±4,84 b	49,0±3,31 b
0,005	75,0±5,24 b	68,0±4,06 c
0,01	99,0±1,00 c	80,0±2,23 d
0,05	98,0±1,22 c	90,0±3,53 de
0,1	99,0±1,00 c	100,0±0,00 e
0,5	100,0±0,00 c	100,0±0,00 e
1,0	100,0±0,00 c	100,0±0,00 e
CV	7,74 %	7,67 %

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

Também visando a utilização de *B. bassiana* para o controle de *S. zeamais*, Adane *et al.* (1996) estudaram 10 isolados deste

fungo, verificando variações nos níveis de virulência entre os mesmos. Após a seleção de um isolado mais eficiente (190-520), os

estudos da relação concentração-mortalidade foram realizados com conídios puros, utilizando concentrações de 0,1; 0,5 e 1,0 g de conídios de *B. bassiana* por 25 g de grãos de milho, obtendo 100% de mortalidade nas três concentrações após 14 dias. Estas concentrações corresponderiam a 0,4; 2,0 e 4,0 g de conídios por 100 g de grãos, sendo superiores às testadas neste trabalho, onde índices de mortalidade próximos a 100% foram obtidos com concentrações que variaram de 0,1 a 1,0 g de conídios por 100 g de grãos, no período de dez dias de avaliação. Esta comparação demonstra a importância de um programa inicial de seleção, através do qual pode-se avaliar várias características do patógeno, tais como virulência, persistência, capacidade de reprodução, as quais contribuem para a obtenção de um isolado eficiente em concentrações mais baixas, viabilizando a aplicação do controle microbiano, inclusive em condições de armazenamento em larga escala. Deve-se ressaltar também, que os isolados selecionados em condições de laboratório, no caso dos grãos armazenados, tendem a manifestar seu potencial de controle de forma bem semelhante no ambiente de armazenamento, onde as condições são bem estáveis, não diferenciando daquelas em que o patógeno foi selecionado.

### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de estudos que tornou possível a realização desta pesquisa.

### Literatura Citada

- Adane, K., D. Moore & S.A. Archer. 1996.** Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. J. Stored Prod. Res. 32: 105-113.
- Alves, S.B. 1986.** Produção de fungos entomopatogênicos. In: S.B. Alves, (coord.). Controle microbiano de insetos. São Paulo, Ed. Manole, 407 p.
- Ferron, P. 1977.** Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* in imagines of *Acanthoscelides obtectus*. Entomophaga 22: 393-396.
- Ferron, P. & P.H. Robert. 1975.** Virulence of entomopathogenic fungi for the adults of *Acanthoscelides obtectus*. J. Invertebr. Pathol. 25: 379-388.
- Hluchy, M. & A. Samsinakova. 1989.** Comparative study on the susceptibility of adult *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and larval *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) to the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. J. Stor. Prod. Res. 25: 61-64.
- Lourenção, A.L., S. Komatsu & S.B. Alves. 1993.** Aplicação de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e pirimifósmetil em milho para controle de *Sitophilus zeamais*. Ecosystema 18: 69-74.
- Pacheco, L.A., M.R. Sartori & R.W.D. Taylor. 1990.** Levantamento de resistência de insetos-pragas de grãos armazenados à fosfina, no Estado de São Paulo. Coletânea do ITAL 20: 144-154.
- Sartori, M.R., I.A. Pacheco, M. Iaderosa & R.W.D. Taylor. 1990.** Ocorrência e especificidade de resistência ao inseticida malation em insetos-pragas de grãos armazenados no Estado de São Paulo. Coletânea do ITAL 20: 194-209.

- Rodrigues, C. & D. Pratissoli. 1990.** Patogenicidade de *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e seu efeito sobre o gorgulho do milho e caruncho do feijão. An. Soc. Entomol. Brasil 19: 301-306.
- Searle, T. & J. Doberski. 1984.** An investigation on the entomogenous fungus *Beauveria hassiana* as a potential biological control agent for *Oryzaephilus surinamensis*. J. Stor. Prod. Res. 20: 17-24.

Recebido em 09/02/96. Aceito em 9/12/96.

---