

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

PATOGENICIDADE DO ISOLADO IBCB 66 DE *BEAUVERIA BASSIANA* À BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR *DIATRAEA SACCHARALIS* EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIOI.M. Wenzel<sup>1</sup>, F.H.C. Giometti<sup>2\*</sup>, J.E.M. Almeida<sup>3</sup><sup>1</sup>Toyobo do Brasil, Rua Padre Bento, 858, CEP 13326-400, Salto, SP, Brasil. E-mail: iawenzel@yahoo.com.br

## RESUMO

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* já vem sendo utilizado no controle de várias pragas de importância econômica no Brasil, sendo patogênico à broca da cana de açúcar *Diatraea saccharalis*, que é considerada como uma das principais pragas que atingem esta cultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das concentrações:  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $5 \times 10^8$  con./mL do isolado IBCB 66 de *B. bassiana* à esta broca. Com auxílio de uma torre de Potter foi aplicado 1 mL das suspensões fúngicas nas lagartas de *D. saccharalis* que posteriormente foram colocadas individualmente em tubos de criação com um pedaço de colmo jovem de cana. Estes tubos foram mantidos em câmara climatizada a  $25,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$  e UR em torno de 70% e as avaliações da mortalidade foram feitas diariamente até o sexto dia. As lagartas mortas foram colocadas em câmaras úmidas para a confirmação da morte pelo entomopatógeno. O fungo foi patogênico à *D. saccharalis* em todas as concentrações avaliadas e a  $CL_{50}$  determinada para o 6º dia foi de  $1,58 \times 10^7$  con./mL.

PALAVRAS-CHAVE: *Beauveria bassiana*, *Diatraea saccharalis*, patogenicidade, controle microbiano.

## ABSTRACT

PATHOGENICITY OF IBCB 66 STRAIN OF *BEAUVERIA BASSIANA* TO THE SUGAR CANE WEEVIL *DIATRAEA SACCHARALIS* UNDER LABORATORY CONDITIONS. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* has been used in the control of many pests affecting important crops in Brazil. It is pathogenic to the sugar cane borer *Diatraea saccharalis* which is considered one of the major pests of this crop. The objective of this work was to evaluate the effect of the concentrations:  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  and  $5 \times 10^8$  conidia/mL of the IBCB 66 strain of *Beauveria bassiana* to this borer. With the support of a Potter tower 1 mL of the fungus suspension was applied on the larvae of *D. saccharalis* that later were put individually in tubes with a piece of young sugar cane. These tubes were kept in a climated room at  $25.5 \pm 0.5^\circ \text{C}$  and RH around 70% and the evaluations of mortality were done daily until the sixth day. The dead larvae were put in humid chamber in order to confirm their death by the entomopathogen. The fungus was pathogenic to *D. saccharalis* in all the concentrations evaluated and the  $LC_{50}$  for the sixth day was determined in  $1.58 \times 10^7$  con./mL.

KEY WORDS: *Beauveria bassiana*, *Diatraea saccharalis*, pathogenicity, microbial control.

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e o setor sucroalcooleiro movimenta milhões de reais todos os anos com a produção de açúcar e álcool. A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) é uma das principais pragas desta cultura e causa prejuízos diretos como abertura de galerias que vão ocasionar perda de peso na cana e provocar a morte das gemas, causando falhas na germinação. Nas canas novas, a broca produz o secamento dos ponteiros, conhecido como

coração morto. Dentre os prejuízos indiretos destaca-se a penetração de fungos através dos orifícios e galerias, abertos pela broca, causando a podridão vermelha do colmo. Os fungos *Colletotrichum falcatum* e *Fusarium moniliforme* invertem a sacarose, diminuindo a pureza e dando menor rendimento em açúcar e álcool (GALLO *et al.*, 2002).

Alguns métodos podem ser utilizados para controle desta praga como, por exemplo, o parasitóide de lagartas *Cotesia flavipes*, controle cultural, controle

<sup>2</sup>PUC/Campinas, Campinas, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Instituto Biológico, Centro Experimental Central do Instituto Biológico, Campinas, SP, Brasil.

\*Bolsista FUNDAG/Toyobo.

químico com inseticidas entre outros (GALLO *et al.*, 2002). Entretanto, outras formas de controle devem ser avaliadas como a utilização de fungos entomopatogênicos e dentre eles destaca-se o fungo *Beauveria bassiana*. Este fungo está amplamente distribuído no mundo todo e pode ser isolado de insetos, ácaros e do solo, onde é parte normal da flora microbiana, e outros substratos (BOUCIAS & PENLAND, 1998). Quando as condições climáticas são favoráveis este entomopatógeno pode causar epizootias naturais em populações de insetos das ordens Hemiptera, Lepidoptera e Coleoptera (ALVES, 1998).

A broca *D. saccharalis* é suscetível ao fungo e em testes realizados em campo, o patógeno causou mortalidade média de 44%, para uma dosagem de aproximadamente  $10^{13}$  conídios/ha (ALVES, 1998).

Devido a grande importância da cultura da cana-de-açúcar no Brasil e das grandes perdas anuais provocadas pela ocorrência desta praga, este trabalho teve como objetivo verificar a patogenicidade do isolado IBCB 66 de *B. bassiana*, em laboratório, a lagartas de *D. saccharalis*.

O isolado IBCB 66 de *B. bassiana* é proveniente da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos do Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental Central do Instituto Biológico, Campinas, SP, onde o ensaio foi realizado. O fungo foi produzido em arroz e as concentrações foram padronizadas em  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $5 \times 10^8$  con./mL com viabilidade acima de 94%. Foram utilizadas lagartas de 1 cm de tamanho provenientes da criação do laboratório da Usina São João, Araras, SP. As lagartas foram separadas dos frascos com dieta e colocadas em placas de Petri, para serem posteriormente inoculadas. Cada grupo de 25 lagartas foi pulverizado, utilizando-se uma Torre de Potter, com 1 mL das suspensões e a testemunha foi pulverizada somente com água destilada esterilizada. Após a pulverização das suspensões, as lagartas foram transferidas e individualizadas em tubos de criação contendo um pedaço de colmo jovem de cana-de-açúcar e vedados com algodão. Os tubos com as lagartas foram mantidos em câmara climatizada na temperatura de  $25,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$  e umidade relativa em torno de 70%. As avaliações da mortalidade foram realizadas diariamente por um período de seis dias e câmaras úmidas foram feitas para a confirmação da mortalidade pelo entomopatógeno. A cada dois dias os pedaços de colmo de cana-de-açúcar foram substituídos por pedaços novos.

Os dados de mortalidade foram corrigidos através da fórmula de ABBOT (1925) e a concentração letal ( $CL_{50}$ ) e o tempo letal ( $TL_{50}$ ) médios foram determinados pela análise de Probit (FINNEY, 1947). Os dados de mortalidade para o 6º dia foram analisados pelo teste de Duncan.

O fungo foi patogênico à broca da cana-de-açúcar em todas as concentrações avaliadas sendo que, a mortalidade aumentou com o tempo e com as concentrações (Tabela 1).

Tabela 1 - Porcentagem de mortalidade corrigida de lagartas de *Diatraea saccharalis* nos diferentes dias de avaliação após a pulverização de concentrações de conídios do isolado IBCB 66 do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* ( $T = 25,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$ , U.R. em torno de 70 %).

Tratamentos	Período de avaliação (dias)						
	1	2	3	4	5	6*	
Testemunha	0	5,0	10,0	15,0	15,0	15,0	c
$5 \times 10^6$ con./mL	0	0	10,5	21,0	31,5	32,0	b
$1 \times 10^7$ con./mL	4,5	9,0	18,0	27,0	40,5	40,5	b
$5 \times 10^7$ con./mL	0	0	15,0	35,0	60,0	65,0	ab
$1 \times 10^8$ con./mL	4,0	13,0	26,0	52,0	83,0	85,0	a
$5 \times 10^8$ con./mL	4,0	9,0	27,0	45,0	73,0	89,0	a

\* Dados originais na tabela e transformados em  $\sqrt{+10}$  para análise estatística.  $F = 3,68^{**}$  e C.V. (%) = 2,24. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

As mortalidades nas concentrações de  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $5 \times 10^8$  con./mL foram estatisticamente iguais entre si e atingiram valores entre 65 e 89% (Tabela 1).

A concentração letal 50 ( $CL_{50}$ ) determinada para o 6º dia foi de  $1,58 \times 10^7$  conídios/mL. Concentração letal menor foi encontrada por ALVES *et al.* (1985) numa avaliação de eficiência de *B. bassiana* (isolado da broca da cana-de-açúcar na região de Piracicaba). Os autores verificaram que a  $CL_{50}$  para a fase de pré-pupa da lagarta foi de  $1,27 \times 10^5$  conídios/mL. Ainda neste trabalho foram avaliadas as concentrações de  $5,5 \times 10^4$  a  $5,5 \times 10^8$  conídios/mL e os valores de mortalidade obtidos variaram de 40 a 97,5% da menor para a maior concentração, observados nove dias após a inoculação do fungo.

A patogenicidade do isolado 447 de *B. bassiana* foi verificada por ALVES *et al.* (2002) e os autores avaliaram a mortalidade da praga quando inoculada com conídios e o fungo na fase de levedura. Foi verificado que a fase de levedura proporcionou mortalidades maiores do que os conídios equivalentes a  $10^7$  e  $10^8$  cell./mL. Na concentração de  $10^7$  a mortalidade com as células de levedura foi de 70% contra menos de 30% para a suspensão equivalente em conídios.

O efeito de diferentes dosagens de *B. bassiana* em lagartas de *D. saccharalis* em condições de laboratório e campo também foi avaliada por LEGASPI *et al.* (1999). No laboratório foram avaliadas cinco dosagens que variaram de 3 a 872 conídios/mm<sup>2</sup> do produto comer-

cial Mycotrol® e no campo foram realizados os tratamentos somente óleo, *B. bassiana* em suspensão emulsionável + óleo e *B. bassiana* em pó molhável + óleo com a taxa de aplicação dos fungos/tratamento em torno de  $5 \times 10^{13}$  conídios/hectare. Ainda no campo, ESTRADA *et al.* (1997) avaliaram a aplicação de *B. bassiana* sobre o desenvolvimento em *D. saccharalis*. O fungo foi aplicado na dose de  $10^{12}$  conídios/ha como suspensão aquosa. As amostragens foram realizadas aos 7, 15, 30, 45, 60 e 101 dias depois da aplicação do fungo e foi verificado que o número de larvas vivas nas parcelas tratadas com o fungo foi menor do que na testemunha, o que se repetiu para o número de internódios afetado pela praga. Os autores ainda concluíram que há uma correlação entre a presença de larvas vivas e o número de internódios afetados pela praga, assim nos tratamentos com fungo houve uma redução do número de danos produzidos pelos lepidópteros. Parâmetros relacionados ao rendimento da cana, como por exemplo, açúcar total também foram avaliados e nas áreas onde *B. bassiana* foi aplicada os rendimentos foram maiores.

Evidencia-se assim, que o fungo entomopatogênico *B. bassiana* pode ser usado para o controle de *D. saccharalis*, entretanto, experimentos relacionados ao modo de aplicação do microrganismo no campo devem ser realizados.

#### REFERÊNCIAS

- ABBOT, W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v.18, p.265-267, 1925.
- ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- ALVES, S.B.; PÁDUA, L.E.M.; AZEVEDO, E.M.V.M.; ALMEIDA, L.C. Controle da broca da cana-de-açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.20, n.4, p.403-406, 1985.
- ALVES, S.B.; ROSSI, L.S.; LOPES, R.B.; TAMAI, M.A.; PEREIRA, R.M. *Beauveria bassiana* yeast phase on agar medium and its pathogenicity against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) and *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v.81, p.70-77, 2002.
- BOUCIAS, D.G. & PENDLAND, J.C. *Principles of insect pathology*. Boston: Kluwer, 1998. 548p.
- ESTRADA, M.E.; ROMERO, M.; SNOWBALL, M. Aplicación de *Beauveria bassiana* em la lucha biológica contra *Diatraea saccharalis*. *Cana de Açúcar*, v.15, n.1, p.39-43, 1997.
- FINNEY, D.J. *Probit analysis*. New York: Cambridge University Press, 1947. 255p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- LEGASPI, J.C.; POPRAWSKI, T.J.; LEGASPI, B.C. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* against sugarcane stalkbores (Lepidoptera: Pyralidae) in the lower Rio Grande Valley of Texas. *Journal of Economic Entomology*, v.93, n.1, p.54-59, 1999.

Recebido em 7/2/06

Aceito em 18/5/06