

BIOLOGICAL CONTROL

Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae)

JOSÉ M DE ARAUJO JR, EDMILSON J MARQUES, JOSÉ V DE OLIVEIRA

Dept.o de Agronomia – Entomologia, Univ. Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE; jma_junior@yahoo.com.br; emar@depa.ufrpe.br; vargasoliveira@uol.com.br

Edited by Ítalo Delalibera Jr – ESALQ/USP

Neotropical Entomology 38(4):520-525 (2009)

Potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* Isolates and Neem Oil to Control the Aphid *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae)

ABSTRACT - This work aimed to determine the efficiency of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to control the aphid *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) in kale *Brassica oleracea* var *acephala* D.C., as well as their compatibility with a neem oil formulation (Neemseto®). Ten isolates of both fungi were tested and the most pathogenic ones were *B. bassiana* CG001 and *M. anisopliae* CG30 with 90% and 4.4 days, and 64% and 3.8 days of mortality and median lethal time, respectively. Bioassays with neem at concentrations of 0.5, 1.0 and 2.0% were done either by leaf discs dipping or spraying the aphids on the leaf discs. The neem spraying treatment at 2.0% provided 90% mortality. The use of *B. bassiana* isolate CG001 or *M. anisopliae* isolate CG30 with neem at 0.125, 0.25, and 0.5%, demonstrated that these isolates could have their spore viability or colony growth affected when exposed to neem concentrations higher than 0.25%. In absolute values, the isolates *B. bassiana* CG001 and *M. anisopliae* CG30 are the most virulent to *L. erysimi*, and could be utilized in the management of this pest.

KEY WORDS: Entomopathogenic fungi, botanic insecticide, compatibility, crucifer

RESUMO - Avaliou-se a eficiência de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para o controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) em couve *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C., bem como sua compatibilidade com óleo de nim (Neemseto®). Dez isolados desses fungos foram utilizados, onde o isolado CG 001 de *B. bassiana* e o isolado CG 30 de *M. anisopliae* apresentaram-se como os mais virulentos com 90% e 4,4 dias, e 64% e 3,8 dias, de mortalidade e tempo letal médio, respectivamente. Bioensaios com o produto à base de nim nas concentrações 0,5; 1,0 e 2,0% foram realizados por imersão foliar e pulverização sobre os pulgões. O tratamento com pulverização de 2,0% de Neemseto® proporcionou mortalidade de 90%. O teste *in vitro* de Neemseto® a 0,125; 0,25 e 0,5%, sobre os isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae* mostrou que esses isolados podem ter seu crescimento colonial e viabilidade alterados quando expostos a concentrações de nim maiores que 0,25%. Em valores absolutos, os isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae* foram os mais virulentos para *L. erysimi*, podendo ser utilizados no manejo dessa praga.

PALAVRAS-CHAVE: Fungo entomopatogênico, inseticida botânico, compatibilidade, crucífera

A produtividade das brassicáceas pode ser reduzida pela presença de vários insetos, com destaque para os pulgões *Brevicoryne brassicae* L., *Myzus persicae* (Sulzer) e *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Sousa-Silva & Ilharco 1995, Blackman & Eastop 2000). As ninfas e os adultos de *L. erysimi* sugam a seiva das folhas, brotos jovens e inflorescência, resultando até mesmo na morte da planta. Adicionalmente, podem transmitir viroses, como o vírus do mosaico do pepino e do feijoeiro

(Castle *et al* 1992).

Atualmente, o controle de pulgões baseia-se no uso de inseticidas químicos sintéticos e produtos alternativos como o alho, arruda, confrei (*Symphytum officinali*), fumo e outros (Abreu Jr 1998). Os pulgões, entretanto, possuem alta capacidade reprodutiva e com a aplicação intensiva de inseticidas, pode ocorrer desenvolvimento de resistência (Zheng *et al* 1997), levando à busca de novas alternativas

para o controle desses insetos, como o controle biológico, a utilização de inseticidas naturais, e até mesmo a interação entre esses dois agentes de controle.

O controle microbiano com o uso de entomopatógenos, principalmente fungos, tem se destacado devido à ocorrência dos microorganismos em condições naturais, tanto enzoótica como epizooticamente, e tem sido, no Brasil e em outros países, um fator importante na redução de populações de insetos. Os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* são mundialmente conhecidos e utilizados como agentes biocontroladores de pragas agrícolas de várias espécies em diversas ordens (Alves *et al* 2008), inclusive Hemiptera, como os pulgões (Butt *et al* 1994, Loureiro & Moino Jr 2006).

Os produtos à base de azadiractina, encontrada principalmente nas sementes de nim, estão entre os principais métodos alternativos para o controle de pulgões (Schmutterer 1990, Mordue & Nisbet 2000). Os efeitos da azadiractina sobre insetos incluem repelência, deterrência alimentar, interrupção do crescimento, interferência na metamorfose, esterilidade e anormalidades anatômicas (Mordue & Nisbet 2000, Martinez & Emden 2001, Venzon *et al* 2007, Santos *et al* 2004).

Testes de compatibilidade de produtos fitossanitários com fungos entomopatogênicos *in vitro* mostram que esses produtos promovem grande variação de resposta e, dependendo do produto químico, podem ser observados efeitos deletérios, nulos ou mesmo sinérgicos sobre esses agentes de controle microbiano (Alves *et al* 1998).

O presente trabalho teve por objetivos avaliar a eficiência da aplicação de nim formulado e de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle do pulgão *L. erysimi*, e avaliar, *in vitro*, o efeito de nim sobre os fungos.

Material e Métodos

Criação de pulgões, obtenção e multiplicação dos isolados dos fungos. *Lipaphis erysimi* foi coletada na horta da UFRPE e criada sobre plantas de couve-folha *B. oleraceae* var. *acephala*, mantidas em casa-de-vegetação em vasos plásticos de 1 L, contendo mistura de solo mais esterco (2:1).

Os isolados utilizados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* são mantidos na micoteca do Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE. Os isolados selecionados (Tabela 1) foram multiplicados em BDA (batata-dextrose-ágar) e MC (meio completo), constituído de extrato de levedura, glicose, sais minerais, ágar e água destilada (Alves 1998).

Seleção de isolados. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 10 repetições, sendo cada parcela constituída por 10 ninfas do pulgão *L. erysimi* com 24-48h de idade, de primeiro ou segundo instar (Godoy & Cividanes 2002).

Os isolados foram multiplicados em placas de Petri com BDA + antibiótico (estreptomicina) e mantidos em estufa incubadora B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotofase de 12h. Em seguida, foram preparadas as suspensões fúngicas, adicionando-se 10 ml de água destilada esterilizada mais

espalhante adesivo Tween 80® a 0,01% (ADE + espalhante). Após diluições sucessivas, obtiveram-se suspensões nas concentrações de 10^7 conídios ml^{-1} , que foram utilizadas para os testes de patogenicidade. A viabilidade dos conídios foi aferida em microscópio óptico 20h após o plaqueamento em BDA + antibiótico (sulfato de estreptomicina a 0,05%).

Para os bioensaios com pulverização, dez ninfas foram colocadas sobre discos de folhas de couve com 5 cm de diâmetro, mantidas em placas de Petri plásticas de 9 cm de diâmetro com meio ágar-água (1%) (Loureiro & Moino Júnior 2006). Os discos de folhas contendo os insetos foram pulverizados com 1 ml das suspensões fúngicas na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} e com água destilada mais espalhante adesivo Tween 80® (testemunha), utilizando-se o microatomizador "Paasche Airbrush" elétrico, modelo "VL", acoplado a um compressor regulado para 15 libras/pol² de pressão. Em seguida, os discos foram deixados em placas de Petri plásticas perfuradas nas tampas e cobertas com tela anti-afídeo, a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12h. A mortalidade foi avaliada diariamente, sendo os insetos mortos transferidos para placas de Petri com papel de filtro umedecido para confirmação do agente causal.

Os dados de mortalidade média foram analisados mediante análise de variância (ANOVA), utilizando o Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 1999-2001), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade quando significativo, sendo os dados transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

A partir dos dados de mortalidade confirmada, certificada após a extrusão micelial do fungo no corpo do inseto morto, determinou-se a porcentagem de sobrevivência média em 10 dias. As médias de sobrevivência foram submetidas aos testes Log-Rank, através do método Kaplan-Meyer, por comparação de pares de isolados usando o Proc Lifetest do SAS (SAS Institute 1999-2001).

Ação de nim sobre *L. erysimi*. Na primeira etapa pulverizaram-se emulsões de óleo de nim adquiridas através do produto comercial Neemseto® (Cruangi Neem do Brasil Ltda, Timbaúba, PE), que contém 2,389 ppm de princípio ativo (azadirachtina A e B, nimbina e salanina), nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0% sobre discos de folha de couve com 5 cm de diâmetro, infestadas com 10 ninfas do pulgão com 24-48h de idade, em placas de Petri contendo meio ágar-água (1%).

Para a segunda etapa, os discos de folhas foram imersos por 20 segundos em emulsão de óleo de nim nas concentrações citadas anteriormente, sendo em seguida infestados com 10 ninfas do pulgão por repetição. Na testemunha, os discos contendo os pulgões foram pulverizados com água destilada. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e 10 repetições cada.

As avaliações foram realizadas diariamente, por um período de 10 dias. Os insetos mortos foram coletados, sendo os dados de mortalidade média submetidos à análise de variância (SAS Institute 1999-2001). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando significativas, sendo os dados transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

Tabela 1 Origem e hospedeiro dos isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* utilizados nos experimentos com *Lipaphis erysimi*.

Isolados	Origem	Hospedeiros
<i>B. bassiana</i>		
CG 001	Brasília-DF	<i>Deois flavopicta</i> (Stal)
ESALQ-447	Cuiabá-MS	<i>Solenopsis invicta</i> (Buren)
ESALQ-645	Piracicaba-SP	Amostra de solo
ESALQ-604	Piracicaba-SP	Amostra de solo
URPE-4	Recife-PE	<i>Membracis</i> sp.
URPE-8	Recife-PE	<i>Membracis foliata</i> L.
URPE-9	Paudalho-PE	<i>M. foliata</i>
URPE-14	Escada-PE	Amostra de solo
URPE-18	Cabo de Santo Agostinho-PE	Amostra de solo
URPE-22	Chapada Diamantina-BA	Percevejo
<i>M. anisopliae</i>		
CG 30	Espírito Santo	<i>D. flavopicta</i>
E ₉	Vitória-ES	<i>D. flavopicta</i>
ESALQ-1189	Piracicaba-SP	Amostra de solo
ESALQ-1204	Piracicaba-SP	<i>M. foliata</i>
ESALQ-866	Goiânia-GO	<i>Atta</i> sp.
PL 43	Flexeiras-AL	<i>Mahanarva posticata</i> (Stål)
PL 47	Campos-RJ	<i>M. posticata</i>
URM-4407	São Miguel da Mata-AL	<i>M. posticata</i>
URPE-6	Camaragibe-PE	<i>Periplaneta americana</i> L.
URPE-19	Vitória de Santo Antão-PE	Amostra de solo

URPE = Universidade Federal Rural de Pernambuco; ESALQ = Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP; CG = CENARGEN - Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF; PL = PLANALSUCAR (Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar); URM = Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); E = EMCAPA, Vitória-ES

Efeito *in vitro* do óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade de *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

Foram avaliados os isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae*, selecionados como os mais eficientes no controle do pulgão. Em função dos resultados experimentais verificados em outros trabalhos (Marques *et al* 2004, Depieri *et al* 2005), o Neemseto foi utilizado nas concentrações de 0,125, 0,25 e 0,5%. Com o meio BDA ainda líquido à temperatura próxima de 40°C, adicionou-se o produto nas referidas concentrações e, em seguida, a mistura foi vertida em placas de Petri (20 ml/placa). Devido às baixas concentrações utilizadas, obteve-se uma mistura uniforme do produto com o meio. Após a solidificação, os entomopatógenos foram inoculados tocando-se, com ajuda de uma pinça, um fragmento de sílica gel impregnado com os fungos em três pontos por placa, três placas por tratamento, em câmara de fluxo laminar.

Em seguida, as placas foram mantidas em B.O.D. (26 ± 1°C e fotofase de 12h) por um período de 14 dias. Após esse período, foi aferido o diâmetro médio das colônias e contados o número de conídios produzidos por colônia (Alves 1998).

Essa etapa do experimento foi realizada em delineamento inteiramente casualizado, constando de sete tratamentos, onde cada tratamento foi composto por três placas de Petri com três colônias do fungo em cada, sendo avaliadas apenas seis colônias.

Para os testes de viabilidade, foi adicionado 1 ml da suspensão de 10⁷ conídios ml⁻¹ às emulsões do Neemseto nas concentrações de 0,125, 0,25 e 0,5%. Decorridos 60 minutos, alíquotas de 0,1 ml dessa mistura foram espalhadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA+A. Na testemunha utilizou-se a suspensão do fungo diluída em ADE+E. Para cada tratamento foram realizadas quatro repetições (placas). Após 20h avaliou-se a germinação dos conídios, dividindo-se as placas em quatro quadrantes, quantificando-se os conídios germinados e não-germinados (100 conídios/quadrante), sob microscópio óptico.

Para a classificação da compatibilidade do produto com os entomopatógenos foi utilizado o modelo IB (Índice Biológico), desenvolvido por Alves *et al* (2007), para caracterizar a compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos inseticidas *in vitro*, em meio de cultura sólido.

Assim, foram calculados os valores percentuais médios de esporulação e crescimento vegetativo das colônias dos fungos com relação à testemunha, sendo aplicada, para cada concentração do produto, a seguinte fórmula:

$$IB = [47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GERM)] / 100, \text{ onde:}$$

IB = Índice biológico

CV = Porcentagem de crescimento vegetativo em relação à testemunha

ESP = Porcentagem de esporulação das colônias em relação à testemunha

GER = Porcentagem de germinação dos conídios

Os valores de IB para a classificação dos produtos são: tóxico 0-41, moderadamente tóxico 42-66 e compatível > 66.

Resultados e Discussão

Testes de patogenicidade dos isolados. Os conídios dos isolados de *B. bassiana* e de *M. anisopliae* apresentaram viabilidades superiores a 95%. A mortalidade confirmada e o tempo médio de sobrevivência dos pulgões, obtidos dos isolados de ambos os fungos, mostram virulência variável para os isolados de *B. bassiana* ($F_{10;99} = 11,36$; $P < 0,0001$) (Tabela 2), bem como para *M. anisopliae* ($F_{10;99} = 24,07$; $P < 0,0001$) (Tabela 3). Os valores percentuais médios de sobrevivência, ao final dos 10 dias de avaliação, foram estatisticamente diferentes, variando de 4,4 a 7,3 dias ($\chi^2_{Gl=9} = 178,06$; $P < 0,0001$) e 3,8 a 6,4 dias ($\chi^2_{Gl=9} = 141,68$; $P < 0,0001$), para

Tabela 2 Mortalidade confirmada (%) e sobrevivência (dias) de *Lipaphis erysimi* pulverizados com isolados de *Beauveria bassiana* (10^7 conídios ml^{-1}). Temp.: $26 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12h.

Isolados	Mortalidade confirmada ¹	Tempo médio de sobrevivência (dias) ²
CG 001	90,0 ± 3,65 a	4,4 ± 0,16 a
ESALQ 645	74,0 ± 5,41 ab	4,8 ± 0,13 a
URPE-4	71,0 ± 6,22 ab	5,3 ± 0,13 b
ESALQ 604	69,0 ± 6,40 ab	4,9 ± 0,11 b
URPE-8	62,0 ± 6,63 ab	5,4 ± 0,15 b
ESALQ 447	58,0 ± 5,12 ab	4,9 ± 0,11 b
URPE-22	56,0 ± 6,18 ab	5,7 ± 0,14 c
URPE-9	51,0 ± 7,37 bc	7,3 ± 0,28 e
URPE-14	30,0 ± 6,32 cd	6,2 ± 0,14 d
URPE-18	22,0 ± 4,42 d	5,8 ± 0,06 d
Testemunha	-	-
	$F_{10;99} = 11,36^{<0,0001}$	$\chi^2 = 178,06^{<0,0001}$

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey;

²Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Log-Rank por comparação entre pares de isolados após análise de sobrevivência pelo método Kaplan-Meyer.

Tabela 3 Mortalidade confirmada (%) e sobrevivência (dias) de *Lipaphis erysimi* por isolados de *Metarhizium anisopliae* (10^7 conídios ml^{-1}). Temp.: $26 \pm 2^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase: 12h.

Isolados	Mortalidade confirmada ¹	Tempo médio de sobrevivência (dias) ²
CG 30	64,0 ± 3,71 a	3,8 ± 0,10 a
ESALQ 866	54,0 ± 4,00 ab	4,9 ± 0,13 b
URPE-19	46,0 ± 4,00 abc	5,6 ± 0,16 b
PL 43	41,0 ± 3,14 bc	5,2 ± 0,11 b
PL 47	40,0 ± 3,33 bc	6,1 ± 0,13 c
ESALQ 1204	38,0 ± 2,90 bc	6,1 ± 0,13 c
URPE-6	32,0 ± 4,42 c	6,2 ± 0,12 c
ESALQ 1022	31,0 ± 2,76 c	6,4 ± 0,11 c
URM- 4407	14,0 ± 1,63 d	4,9 ± 0,03 b
E 9	14,0 ± 2,21 d	5,8 ± 0,07 b
Testemunha	-	-
	$F_{10;99} = 24,07^{<0,0001}$	$\chi^2 = 141,68^{<0,0001}$

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey;

²Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Log-Rank por comparação entre pares de isolados após análise de sobrevivência pelo método Kaplan-Meyer.

B. bassiana e *M. anisopliae*, respectivamente.

Levando-se em consideração que os valores de mortalidade e sobrevivência final foram significativos, o isolado de *B. bassiana* que apresentou maior eficiência sobre o pulgão *L. erysimi* foi CG 001, proporcionando 90% de mortalidade confirmada e 4,4 dias de sobrevivência média, ao término dos dez dias de avaliação. Esses valores são próximos aos obtidos por Almeida *et al* (2007), que constataram que o produto comercial Boveril[®], que contém conídios do fungo *B. bassiana*, apresentou níveis de mortalidade confirmada superiores a 85% para o pulgão *B. brassicae*.

Para *M. anisopliae*, o isolado selecionado como o mais virulento para *L. erysimi* foi CG 30, com 64% de mortalidade confirmada e 3,8 dias de sobrevivência, um pouco inferiores aos relatados para outros isolados desse fungo ou outros entomopatógenos no controle de pulgões (Butt *et al* 1994, Loureiro & Moino Jr 2006).

Ação de contato do nim sobre *L. erysimi*. A mortalidade de ninfas do pulgão entre os tratamentos diferiu ($F_{6;63} = 29,54$; $P < 0,0001$), sendo maior nos tratamentos onde se pulverizou as emulsões do Neemseto a 2,0% e 1,0%, com 90% e 81%, respectivamente. Os tratamentos com imersão foliar, também nas mesmas concentrações, proporcionaram mortalidade de 79% e 77%, respectivamente (Tabela 4). A eficiência do nim no controle de pulgões é dependente do tipo de formulação e forma de aplicação utilizada e do inseto-alvo, visto os valores distintos relatados para

Tabela 4 Mortalidade (%) de *Lipaphis erysimi* tratado com óleo de nim (Neemseto®) por imersão foliar e pulverização. Temp.: 26 ± 1°C, UR: 70 ± 10% e fotofase: 12h.

Aplicação	Concentração de Neemseto (%)	Mortalidade (%) ¹
Pulverização	2,0	90,0 ± 5,16 a
Pulverização	1,0	81,0 ± 5,46 ab
Imersão foliar	2,0	79,0 ± 6,04 ab
Imersão foliar	1,0	77,0 ± 7,60 ab
Pulverização	0,5	63,0 ± 6,50 ab
Imersão foliar	0,5	60,0 ± 10,32 b
Testemunha		7,0 ± 3,00 c
		F _{6, 63} = 29,5 ^{<0,0001}

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

a mesma espécie, como *M. persicae* (Verkerk et al 1998, Venzon et al 2007). No entanto, de forma geral, o controle exercido pela formulação comercial utilizada neste estudo foi muito superior àquela relatada para extrato de sementes de nim para o controle do pulgão *M. persicae* (Venzon et al 2007), mas comparável àquela encontrada quando da utilização de extrato aquoso de pó de sementes no controle de *A. gossypii* (Santos et al 2004), ou de inseticidas à base de nim para o controle de *M. persicae* e *B. brassicae* (Verkerk et al 1998).

Efeito *in vitro* do óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade de *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

O isolado CG 001 de *B. bassiana* teve o crescimento vegetativo (diâmetro das colônias) e a esporulação (quantificação de conídios) reduzida apenas na maior

concentração do Neemseto® (0,5%), não havendo nenhum efeito sobre sua viabilidade. Já para o isolado CG 30 de *M. anisopliae*, o crescimento vegetativo foi reduzido nas três concentrações (0,125, 0,25 e 0,5%); porém o número e a viabilidade de conídios produzidos só foram reduzidos na maior concentração (Tabela 5). Resultados encontrados por Marques et al (2004) indicam que o crescimento vegetativo das colônias e a esporulação de *B. bassiana* (JAB 07) e *M. anisopliae* (E9) também foram prejudicados quando estes foram inoculados em meio de cultura contendo óleo de nim a 0,156, 0,312 e 0,625%, concentrações essas próximas àquelas utilizadas no presente trabalho. Porém, a viabilidade dos conídios não foi afetada em todas as concentrações testadas.

A incompatibilidade do nim com entomopatógenos já havia sido demonstrada utilizando-se outra formulação comercial de óleo emulsionável (Dalneem®, azadirachtina a 0,1%) em isolado do fungo *B. bassiana*, quando foram constatadas inibições significativas do crescimento vegetativo e redução na produção e viabilidade dos conídios (Depieri et al 2005). Entretanto, os valores de IB determinados neste estudo, que variaram de 85,6 a 106,5, indicam as emulsões de nim da formulação testada, nas concentrações de 0,125, 0,25 e 0,5%, foram compatíveis com os isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae*. Sendo assim, esses resultados confirmam que formulações contendo até 2,389 ppm de princípio ativo (azadirachtina A e B, nimbina e salanina), nas referidas concentrações, são compatíveis com os isolados dos fungos citados.

Os isolados CG 001 e ESALQ 645 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae* podem ser considerados os mais virulentos para *L. erysimi* por causarem maiores mortalidades em menor tempo. A pulverização de formulação à base de nim nas três concentrações testadas, causou mortalidades semelhantes dos pulgões, sendo a mesma compatível com *M. anisopliae* em concentrações de até 0,25%.

Tabela 5 Efeito de emulsão de óleo de nim (Neemseto®) sobre o crescimento, esporulação e viabilidade dos isolados CG 001 de *Beauveria bassiana* e CG 30 de *Metarhizium anisopliae* na concentração de 10⁷ conídios ml⁻¹ Temp.: 26 ± 1°C, UR: 70 ± 10% e fotofase: 12h.

Isolados	Concentração de Neemseto (%)	Diâmetro das colônias (cm)	Redução/aumento	Quantificação de conídios (x 10 ⁷ /ml)	Redução/aumento(%)	Viabilidade (%)	Redução/aumento
CG 001	0,125	4,48 ± 0,08 a	+ 0,4	14,54 ± 0,36 a	+ 14,8	99,6 ± 0,2 a	- 0,2
	0,25	4,43 ± 0,07 a	- 0,7	14,18 ± 1,03 a	+ 12,0	98,8 ± 0,2 a	- 0,9
	0,5	4,20 ± 0,12 a	- 5,8	9,26 ± 0,39 b	- 26,9	98,9 ± 0,3 a	- 0,8
Test.		4,46 ± 0,07 a	0,0	12,66 ± 0,28 a	0,0	99,7 ± 0,1 a	0,0
		F _{3; 20} = 1,78 ^{= 0,183}		F _{3; 20} = 18,81 ^{< 0,0001}		F _{3; 12} = 3,14 ^{= 0,065}	
CG 30	0,125	4,47 ± 0,05 ab	- 3,5	3,18 ± 0,24 a	+ 7,0	99,7 ± 0,1 ab	+ 0,1
	0,25	4,51 ± 0,06 ab	- 2,6	3,08 ± 0,32 a	+ 3,7	98,1 ± 0,4 bc	- 1,5
	0,5	4,40 ± 0,05 b	- 5,0	2,39 ± 0,49 a	- 19,5	97,3 ± 0,2 c	- 2,3
Test.		4,63 ± 0,05 a	0,0	2,97 ± 0,11 a	0,0	99,6 ± 0,2 a	0,0
		F _{3; 20} = 2,92 ^{= 0,059}		F _{3; 20} = 1,59 ^{= 0,222}		F _{3; 12} = 15,26 ^{= 0,0002}	

Médias (± EP) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Agradecimentos

À Dra. Rachel Gonçalves Ferreira da Empresa IPA (Recife-PE) pela identificação do pulgão *L. erysimi*, à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa durante o curso de mestrado.

Referências

- Abreu Jr H (1998) Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura. Coletânea de receitas. Emopi, São Paulo, 114p.
- Almeida G D, Pratisoli D, Polanczyk R A, Holtz A M, Vicentini V B (2007) Determinação da concentração letal média (CL₅₀) de *Beauveria bassiana* para o controle de *Brevicoryne brassicae*. *Idesia* 25: 69-72.
- Alves S B (1998) Fungos Entomopatogênicos, p: 289-381. In Alves S B Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, Fealq, 1163p.
- Alves S B, Haddad M L, Faion M, Baptista G C, Rossi-Zalaf L S (2007) Novo índice biológico para classificação da toxicidade de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. Anais do X Simpósio de Controle Biológico - Siconbiol, Brasília – DF (CD-Room).
- Alves S B, Lopes R B, Vieira S A, Tamai M A (2008) Fungos Entomopatogênicos usados no controle de pragas na América latina, p.69-110. In Alves S B, Lopes R B Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba, Fealq, 414p.
- Alves S B, Moino Jr A, Almeida J E M (1998) Produtos fitossanitários e entomopatogênicos, p.217-238. In Alves S B Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Blackman R L, Eastop V F (2000) Aphids on the world's crops: an identification and information guide. 2nd. ed., New York, John Wiley & Sons, 475p.
- Bhalla J S, Sandhu G S, Brar K S (1994) Efficacy of some insecticides for the control of *Lipaphis erysimi* (Kalt.) on rapeseed-mustard and turnip. *Indian J Entomol* 56: 421-425.
- Butt T M, Ibrahim L, Ball B V, Clark S J (1994) Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. *Pest Manag Sci* 4: 207-214.
- Castle S J, Perring T M, Farrar C A, Kishaba A N (1992) Field and laboratory transmission of watermelon mosaic virus 2 and zucchini yellow mosaic virus by various aphid species. *Phytopathology* 82: 235-240.
- Chander S, Phadke K G (1995) Intraplant distribution of aphid infesting rapeseed. *J Insect Sci* 8: 151-153.
- Choi J S, Hwang C Y, Goh H G, Kim I S, Lee S G (1996) Insect pest fauna and their spatial distribution pattern on kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC). *J Agric Sci* 38: 489-494.
- Depieri R A, Martinez S S, Menezes Jr A O (2005) Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. *Neotrop Entomol* 34: 601-606.
- Godoy K B, Cividanes F J (2002) Tabelas de esperança de vida e fertilidade para *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório e campo. *Neotrop Entomol* 31: 041-048.
- Goel S C, Singh B (1994) The intrinsic rate of natural increase and life expectancy of *Lipaphis erysimi* (Kalt.) on mustard in India. *Insect Sci Appl* 15: 287-291.
- Loureiro E S, Moino Jr A (2006) Patogenicidade de fungos hifomicetos aos pulgões *Aphis gossypii* Glover e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotrop Entomol* 35: 660-665.
- Marques R P, Monteiro A C, Pereira G T (2004) Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). *Cienc Rural* 34: 1675-1680.
- Martinez S S, Emden H F (2001) Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotrop Entomol* 30: 113-124.
- Mordue A J, Nisbet A J (2000) Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *An Soc Entomol Bras* 29: 615-632.
- SAS Institute (1999-2001) SAS user's guide: statistics, version 8.2, 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Santos T M, Costa N P, Torres A L, Boiça Jr A L (2004) Effect of nim extract on the cotton aphid. *Pesq Agropec Bras* 39: 1071-1076.
- Schmutterer H (1990) Properties and potential of natural pesticides from neem tree. *Annu Rev Entomol* 35: 271-297.
- Sousa-Silva C R, Ilharco F A (1995) Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar). São Carlos, EDUFSCar, 85p.
- Srivastava A, Singh H, Thakur H L (1996) Assessment of avoidable yield loss caused by green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) and mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) in Brassica. *Indian J Plant Prot* 24: 115-116.
- Venzon M, Rosado M C, Pallini A, Fialho A, Pereira C J (2007) Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopsis connexa*. *Pesq Agropec Bras* 42: 627-631.
- Verkerk R H J, Neugebauer K R, Ellis P R, Wright D J (1998) Aphids on cabbage: tritrophic and selective insecticide interactions. *Bull Entomol Res* 88: 343-349.
- Zheng B Z, Gao X W, Zhao G Y, Cao B J (1997) Insecticide resistance in turnip aphids, *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach), from Beijing and suburbs. *Res Pest Manage* 9: 27-28.