

FUNGO *Metarhizium anisopliae* E O CONTROLE DE *Frankliniella occidentalis* EM ALFACE HIDROPÔNICO

Rogério Biaggioni Lopes^{1,2*}; Sérgio Batista Alves¹; Marco Antonio Tamai¹

¹Depto. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola - USP/ESALQ, C.P. 9 - CEP: 13418-900 - Piracicaba, SP.

²Bolsista CNPq.

*Autor correspondente <rblopes@carpa.ciagri.usp.br>

RESUMO: O tripses *Frankliniella occidentalis* (Pergande) provoca grandes prejuízos em cultivos comerciais de alface, através do dano direto, durante a alimentação no tecido vegetal, e pela transmissão de virose. O desenvolvimento de novas estratégias de controle da praga em cultivos protegidos vem se tornando necessária em função dos problemas acarretados pelo uso constante de inseticidas químicos. Foi avaliada a eficiência de pulverizações do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (isolado 1104) nas concentrações 5×10^6 e 1×10^8 conídios ml^{-1} , visando o controle da praga em cultivos de alface hidropônico. A eficiência de controle do fungo nas duas concentrações chegou a 60%, seis dias após a primeira pulverização. Nas parcelas que não receberam o tratamento com o patógeno, observou-se um aumento populacional de 46,5%. Contudo, o número de adultos capturados em armadilhas adesivas foi semelhante para áreas tratadas e não tratadas, devido à alta mobilidade da praga na cultura. Constatou-se também um número crescente de adultos mortos com estruturas do patógeno, nas parcelas pulverizadas com o fungo. A ausência de toxicidade e de período de carência dos fungos entomopatogênicos torna estes microrganismos importantes na substituição de alguns inseticidas químicos na cultura do alface. Estudos mais detalhados sobre a utilização de *M. anisopliae* em cultivos protegidos são necessários para aplicações em grande escala.

Palavras-chave: tripses, controle microbiano

CONTROL OF *Frankliniella occidentalis* IN HIDROPONIC LETTUCE BY *Metarhizium anisopliae*

ABSTRACT: The thrips *Frankliniella occidentalis* causes significant losses in areas of lettuce production, damaging leaf tissue during feeding and vectoring pathogenic viruses. The development of new strategies for the control of thrips in greenhouses is essential to reduce problems caused by the constant use of chemical insecticides. The efficiency of applications of *Metarhizium anisopliae* (strain 1104), at the concentrations of 5×10^6 and 1×10^8 conidia ml^{-1} , was evaluated for the control of thrips in areas of hidroponic lettuce production. The number of adults per plant was observed, in comparison to initial infestation. The application of the fungus, in both concentrations, caused a 60% reduction of the thrips population, 6 days after the first application. In areas that did not receive the treatment with the fungus, the thrips population increased by 46.5%. However, the number of adults captured in sticky traps was similar for treated and non-treated areas, suggesting a high mobility of thrips adults in the greenhouse. A high number of dead adults with fungal structures was also observed in the areas treated with *M. anisopliae*. The apparent health and environmental safety of this entomopathogenic fungus makes this microorganism a promising alternative for chemical insecticides in lettuce production. More detailed studies about the interaction of this thrips and the use of *M. anisopliae* under greenhouse conditions are necessary to make applications in large scale viable.

Key words: fungus, thrips, microbial control

INTRODUÇÃO

O tripses (*Frankliniella occidentalis*) é uma das mais importantes pragas em cultivos protegidos, principalmente de plantas ornamentais e hortícolas. Altas infestações podem provocar danos consideráveis e grandes perdas de produção, afetando também a qualidade dos produtos e sua comercialização (Fransen, 1990; Murphy et al., 1998).

Além do dano direto, provocado pela alimentação do inseto no tecido vegetal, a espécie *F. occidentalis* é transmissora do vírus TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus). No Brasil, este vírus foi descrito inicialmente por causar a doença do vira-cabeça-do-tomateiro. Atualmente é considerado como um dos principais complexos virais em

hortaliças e plantas ornamentais (German et al., 1992; Pozzer et al., 1996). Na cultura de alface, a virose causa manchas necróticas nas folhas e estrias necróticas nas nervuras centrais, promovendo elevadas perdas na produção (Cho et al., 1987; Marchoux et al., 1991).

Estratégias de controle desta praga baseiam-se, predominantemente, em aplicações repetidas de inseticidas, até a redução da população a níveis aceitáveis. A utilização intensiva de produtos químicos resultaram em sérios problemas de desenvolvimento de resistência da praga a diferentes grupos de inseticidas (Immaraju et al., 1992; Robb et al., 1995). Além disso, o pequeno número de inseticidas registrados para a cultura do alface dificulta o manejo da praga, e o uso de produtos não seletivos e

ilegais agrava ainda mais os problemas relacionados com resíduos e contaminação de alimentos.

Uma alternativa potencial para o controle de *F. occidentalis* em cultivos protegidos é a utilização de fungos entomopatogênicos. Características de alguns hifomicetos, como a facilidade de produção e aplicação, especificidade e a ausência de toxicidade, permitem a associação destes organismos com outras táticas de controle, viabilizando sua utilização em grandes áreas. Algumas formulações comerciais de fungos entomopatogênicos para o controle de *F. occidentalis* em cultivos protegidos já podem ser encontradas no mercado internacional, reduzindo populações da praga, principalmente, em plantas ornamentais.

O objetivo deste experimento foi o de avaliar a eficiência de controle do isolado 1104 de *Metarhizium anisopliae*, selecionado numa fase inicial, para o trips *F. occidentalis* na cultura de alface hidropônico em cultivo protegido.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em uma produção comercial de alface hidropônico em cultivo protegido, no município de Holambra, SP, durante o período de 21 de outubro a 3 de novembro de 1998. Através de identificações prévias em laboratório foi constatada alta infestação da espécie *F. occidentalis* na cultura.

O experimento foi conduzido em uma área experimental de 110 m², sobre três mesas de produção (20 m de comprimento x 1,8 m de largura e 1 m de altura), cultivada com alface *Lactuca sativa* (Compositae) variedade "Vera", de 15 a 20 dias após a semeadura (fase de terminação). Todas as plantas receberam o mesmo tratamento químico na fase de sementeira (Acefato 100 gramas/100 litros + Imidacloprid 30 gramas/100 litros) e nenhum outro tratamento foi feito após o transplante.

O experimento constou de 3 tratamentos: *M. anisopliae* (isolado 1104) nas concentrações de 5x10⁶ e 1x10⁸ conídios ml⁻¹ e a testemunha, com 5 repetições de 5,4 m² cada, totalizando aproximadamente 80 plantas por repetição. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Entre as repetições de cada mesa foi mantida uma faixa de 0,4 m de largura sem plantas, como uma bordadura, visando reduzir a movimentação de adultos entre os tratamentos, sendo de 0,8 m a distância entre mesas. Cada repetição recebeu uma armadilha adesiva (Stiky StripsTM – Oslon Products) na parte central, presa 20 cm acima das plantas, para a captura de adultos. A área experimental foi isolada nas duas laterais maiores utilizando-se lonas plásticas de 1,8 m de altura. Esta proteção foi feita com a finalidade de minimizar a migração de trips de áreas adjacentes.

O fungo utilizado no experimento foi produzido em laboratório, em bandejas plásticas, sobre arroz pré-cozido (método Biomax[®], Alves & Pereira, 1989). As suspensões foram preparadas fazendo-se a lavagem do arroz em água

destilada com espalhante adesivo (Tween 40[®] – 0,2 ml/litro), sendo posteriormente filtradas e diluídas nas concentrações referidas. O tratamento testemunha recebeu apenas água destilada com espalhante adesivo.

As aplicações foram realizadas através da pulverização da suspensão de conídios com o auxílio de um pulverizador costal Jacto PJH (bico cone JD-12P), no final da tarde, período em que a temperatura (27 a 30°C) era menos prejudicial ao patógeno. Durante a fase de terminação da cultura de 21 dias, foram feitas duas aplicações, ao 7^o e 13^o dias após o transplante na mesa final, nos dias 21 e 27 de outubro, respectivamente. Antes da primeira aplicação, foi efetuado um levantamento populacional para determinação da infestação inicial de trips na cultura. Foram utilizados 13,5 litros de suspensão por tratamento (500 ml/m²), volume que permitiu boa cobertura das plantas sem grandes perdas por escorrimento.

Foram feitas duas avaliações após a primeira pulverização, nos dias 23 e 27 de outubro, e mais duas após a segunda pulverização, nos dias 30 de outubro e 3 de novembro. Cada avaliação consistiu na coleta aleatória de uma planta de alface por repetição e contagem de adultos vivos e mortos. As plantas foram cortadas na base e manipuladas sobre uma bandeja plástica branca, permitindo a visualização dos insetos adultos. Os insetos mortos foram mantidos em placas com algodão umedecido para confirmação da mortalidade pelo patógeno. Foram também quantificados o número de trips capturados pelas armadilhas adesivas, nos dias 27 de outubro e 3 de novembro, e observado a densidade de ninfas e a ocorrência de plantas com sintomas de virose na cultura.

O número de insetos em plantas de alface, obtidos para cada avaliação, foram submetidos a uma análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade. Foram calculadas também a eficiência de controle do fungo *M. anisopliae* nas duas concentrações através da fórmula de Henderson & Tilton (1955).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No levantamento inicial, realizado no dia 21 de outubro, não se observou diferença significativa em relação ao número de adultos vivos por planta entre os três tratamentos. Dois dias após a primeira aplicação (23/10), o fungo *M. anisopliae*, na concentração de 1x10⁸ conídios ml⁻¹, reduziu em 38% a população de *F. occidentalis* em relação à testemunha. Após 6 dias (27/10) a redução foi de 47,2%. A concentração de 5x10⁶ conídios ml⁻¹ também promoveu uma redução populacional em torno de 50%, com apenas seis dias após a primeira pulverização (27/10). Nas duas concentrações não se verificou diferença estatística entre os três tratamentos, para uma única pulverização. Após 2 dias da segunda aplicação (30/10), constatou-se diferença entre a maior concentração e a

testemunha. Na última avaliação os tratamentos novamente se igualaram, provavelmente, pela migração de insetos. Nas parcelas que não receberam tratamento com fungo, a população de trips aumentou a partir da segunda avaliação, atingindo uma média de 20 adultos vivos por planta, no final do período experimental. Esta média corresponde a um aumento de 46,5% no número de insetos adultos observados por planta no início do experimento (TABELA 1).

O fungo *M. anisopliae* reduziu igualmente a população de *F. occidentalis*, independentemente da concentração utilizada. Assim, na primeira aplicação o patógeno apresentou uma eficiência de controle de aproximadamente 47% e 61% após 2 e 6 dias, respectivamente. Neste caso, a menor concentração pode ser economicamente viável para utilização em plantios de alface hidropônico no manejo de trips. Após a segunda pulverização, a eficiência do fungo na concentração mais elevada atingiu 80% no terceiro dia (Figura 1). No controle microbiano de pragas, essa eficiência é satisfatória, considerando-se o fungo entomopatogênico como o único agente inseticida.

Na última avaliação, que coincidiu com o final do ciclo de produção do alface, foi observado um aumento do número de insetos por planta em todos os tratamentos (TABELA 1). O crescimento das plantas e o aumento do número de folhas provocou um adensamento da cultura no final do ciclo, levando a uma desuniformidade por

ocasião da segunda pulverização com conseqüência na eficiência do fungo. Além disso, a movimentação de adultos de parcelas da testemunha para parcelas tratadas e de áreas adjacentes para toda área experimental foi, provavelmente, responsável pelo aumento da população na avaliação final.

A movimentação de insetos pode ser comprovada pela proporção de adultos capturados pelas armadilhas adesivas nos diferentes tratamentos. Na primeira avaliação, seis dias após a pulverização, o número de insetos capturados em armadilhas foi semelhante entre os três tratamentos (Figura 2). Contudo, o número médio de insetos vivos nas plantas amostradas foi 50% menor nas parcelas tratadas com fungo, quando comparadas com a testemunha, após o mesmo período, o que indica a eficiência do produto na proteção das plantas tratadas. Apesar de não ter sido observado diferença estatística entre os tratamentos, a redução no número de insetos vivos por planta é muito importante na diminuição dos danos diretos e indiretos causados pela praga. A mesma tendência também foi observada sete dias após a segunda pulverização (3/11).

O número de insetos mortos por planta nos tratamentos 5×10^6 e 1×10^8 conídios ml^{-1} aumentou gradualmente com as avaliações (TABELA 2). No dia 27 de outubro o número médio de insetos mortos na área tratada com a maior concentração foi significativamente maior que os demais tratamentos, e após a segunda

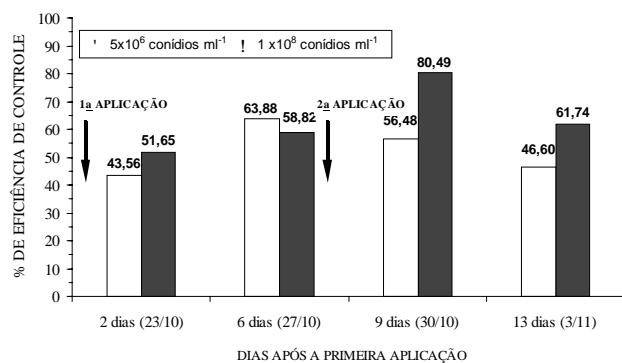


Figura 1 - Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (isolado 1104) no controle de *Frankliniella occidentalis* em cultivo de alface hidropônico, no município de Holambra, SP, em 1998.

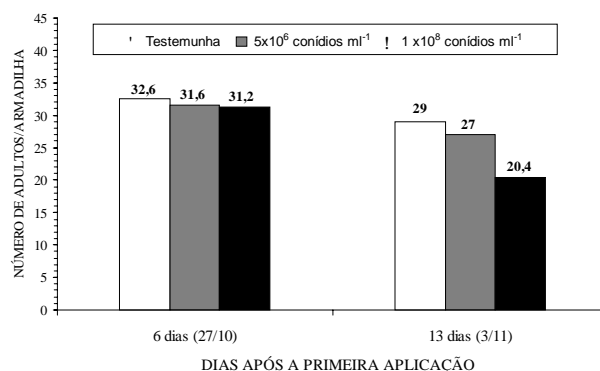


Figura 2 - Número médio de adultos de *Frankliniella occidentalis* capturados em armadilhas adesivas na cultura de alface hidropônico, após 2 aplicações de *Metarhizium anisopliae* (isolado 1104) no município de Holambra, SP, em 1998.

TABELA 1 - Número médio de adultos vivos de *Frankliniella occidentalis* por planta de alface em cultivo hidropônico, tratados com diferentes concentrações de *Metarhizium anisopliae* (Holambra, SP, 1998).

Tratamentos	Levantamento inicial		Data da avaliação		
	21/10*	23/10	27/10*	30/10	03/11
Testemunha	14,2 a	14,2 a	14,4 a	16,8 a	20,8 a
5x10 ⁶ conídios ml ⁻¹ *	14,5 a	11,4 a	7,4 a	10,4 ab	15,8 a
1x10 ⁸ conídios ml ⁻¹ *	18,2 a	8,8 a	7,6 a	4,2 b	10,0 a
CV	29,6	43,9	59,2	64,7	52,7

*Pulverização das suspensões de conídios do fungo.

pulverização este número foi semelhante ao número de indivíduos vivos observados nas plantas tratadas. Todos os insetos mortos coletados e mantidos em condições de alta umidade apresentaram estruturas reprodutivas do fungo, confirmando a causa da mortalidade. Na testemunha também foram encontrados insetos mortos por *M. anisopliae*, contudo, em número reduzido. É provável que esses insetos tenham migrado da área tratada para a testemunha.

A movimentação de adultos de tripes em determinadas culturas é freqüente. No cultivo de alface, a migração destes insetos de áreas próximas parece estar relacionada com a preferência alimentar da espécie. Segundo Bautista & Mau (1994), a preferência para alimentação e oviposição de *F. occidentalis* em alface, no estágio vegetativo, foi maior em relação a outros quatro hospedeiros testados, além de proporcionar um melhor desenvolvimento das fases imaturas. Estes resultados sugerem que plantas novas de alface são muito suscetíveis à infestação por *F. occidentalis*.

O comportamento de migração de adultos de *F. occidentalis* também foi observado por Murphy et al. (1998), em plantas ornamentais. Após o tratamento de flores de cravo com o fungo *Beauveria bassiana*, o número de insetos aumentou em todas as parcelas, influenciando os resultados das avaliações. Os autores observaram também a presença de insetos mortos com estruturas do patógeno nas parcelas da testemunha, resultado da dispersão de insetos infectados nas parcelas tratadas, confirmando a movimentação de adultos na cultura.

No cultivo protegido de alface, a perda de produção relacionada com a incidência de virose, provavelmente, está ligada com a migração de insetos contaminados com o tospovírus de outras áreas para dentro da cultura (Bautista & Mau, 1994). No presente experimento, plantas com sintomas de virose foram observadas, nas avaliações finais. Plantas doentes surgiram inicialmente em parcelas próximas às áreas de cultivo de rosa e crisântemo, e o avanço da doença na cultura ocorreu para outras plantas dentro destas parcelas. Algumas espécies de flores (como o crisântemo) e de plantas daninhas, além de fonte de pólen na alimentação de adultos de tripes podem atuar como reservatório natural

de tospovírus (Latham & Jones, 1997). A rápida disseminação da virose no alface em algumas parcelas foi influenciada, principalmente, pela movimentação de insetos contaminados da área cultivada com flores, auxiliados pelo vento. A escolha da área experimental tem grande importância na determinação correta dos parâmetros de controle da praga, evitando possíveis problemas provocados pela migração de adultos.

A eficiência de controle de ninfas de *F. occidentalis*, em bioensaios prévios em laboratório, pelo isolado 1104 de *M. anisopliae* na concentração 1×10^8 conídios ml^{-1} foi superior à observada no experimento de campo. A redução da eficiência do patógeno em aplicações de campo ocorre freqüentemente, e deve-se a fatores externos que influenciam o desenvolvimento da doença no inseto. Em função desta interferência, torna-se necessária a seleção de isolados altamente virulentos em condições de laboratório, para a obtenção de resultados promissores em um programa de controle microbiano.

Alguns fungos entomopatogênicos, principalmente *Verticillium lecanii*, vêm sendo amplamente utilizados comercialmente para o controle de tripes em plantas ornamentais sob cultivos protegidos (Rombach & Gillespie, 1988; Fransen, 1990; Van der Schaaf et al., 1990). Em experimentos de campo, o fungo *Beauveria bassiana* também mostrou resultados promissores para o controle de *F. occidentalis*, em flores (Murphy et al., 1998).

A redução do número de adultos de *F. occidentalis* vivos em plantas de alface foi comprovada na avaliação de 30 de outubro, entretanto, não atingindo níveis que eliminassem os danos diretos e indiretos provocados pela praga. Estes resultados de controle foram certamente influenciados pela reinfestação que ocorreu na área, em função da pequena dimensão do experimento e da grande área infestada pelo tripes.

No presente estudo, o número de ninfas por tratamento não foi determinado, principalmente, pela dificuldade de contagem da fase imatura da praga com a metodologia de avaliação utilizada, por não permitir uma quantificação precisa das ninfas. Por outro lado, foi observada uma nítida redução do número de ninfas por planta nas parcelas tratadas com o fungo *M. anisopliae*. Bioensaios de seleção de isolados em laboratório confirmaram a grande sensibilidade de ninfas desta espécie ao isolado testado. Assim, observações futuras que considerem a mortalidade de fases imaturas da praga podem indicar uma maior eficiência de *M. anisopliae* para o controle do inseto.

A freqüência de pulverizações e a concentração mais adequada do produto também devem ser observadas para o uso do agente microbiano, dentro de uma estratégia de manejo da praga, em cultivos de alface. Como foi constatado, concentrações mais baixas podem proporcionar controle equivalente a concentrações mais elevadas, permitindo maior freqüência de aplicações sem grande aumento de custo. Aplicações em áreas maiores

TABELA 2 - Número médio de adultos de *Frankliniella occidentalis* mortos por *Metarhizium anisopliae*, por planta, em cultivo comercial de alface hidropônico (Holambra, SP, 1998).

Tratamentos	Datas das avaliações			
	23/10	27/10	30/10	03/11
Testemunha	0,18 a	1,00 a	0,40 a	0,00 a
5×10^6 conídios ml^{-1} *	1,21 a	2,60 a	2,00 a	4,00 b
1×10^8 conídios ml^{-1} *	1,29 a	3,50 b	3,33 a	9,20 c
CV	18,0	31,1	87,3	53,6

*aplicações do fungo nos dias 21 e 27 de outubro.

podem evitar as migrações observadas nesta pesquisa, viabilizando a estratégia de controle microbiano da praga. A ausência de toxicidade e de período de carência dos fungos entomopatogênicos torna estes microrganismos importantes na substituição parcial dos inseticidas químicos na cultura, que têm utilização limitada na fase de terminação, em função dos altos índices de resíduos deixados nas folhas.

As condições de umidade e de temperatura encontradas em ambientes protegidos favorecem a atividade do patógeno e o desenvolvimento da doença. Desta forma, o presente trabalho demonstrou a possibilidade de utilização do fungo *M. anisopliae* para o controle de *F. occidentalis* na cultura do alface, dentro de uma estratégia de manejo integrado da praga.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M.P. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. **Ecosistema**, v.14, p.188-192, 1989.
- BAUTISTA, R.C.; MAU, R.F.L. Preferences and development of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) on plant host of tomato spotted wilt tospovirus in Hawaii. **Environmental Entomology**, v.23, p.1501-1507, 1994.
- CHO, J.J.; MITCHELL, W.C.; MAU, R.F.L.; SAKIMURA, K. Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphead lettuce in Hawaii. **Plant Disease**, v.71, p.505-508, 1987.
- FRANSEN, J.J. Fungi of aphids, thrips and whitefly in the greenhouse environment. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., Adelaide, 1990. **Proceedings**. Adelaide: Society for Invertebrate Pathology, 1990. p.376-380.
- GERMAN, T.L.; ULLMAN, D.E.; MOYER, J.W. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. **Annual Review of Phytopathology**, v.30, p.315-348, 1992.
- HENDERSON, C.F.; TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, v.48, p.157-161, 1955.
- IMMARAJU, J.A.; PAINE, T.D.; BETHKE, J.A.; ROBB, K.L.; NEWMAN, J.P. Western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) resistance to insecticides in Coastal California greenhouses. **Journal of Economic Entomology**, v.85, p.9-14, 1992.
- LATHAM, L.J.; JONES, R.A.C. Occurrence of tomato spotted wilt tospovirus in native flora, weeds and horticultural crops. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.48, p.359-369, 1997.
- MARCHOUX, G.; GÉBRÉ-SELASSIE, K.; VILLEVIEILLE, M. Detection of tomato spotted wilt virus and transmission by *Frankliniella occidentalis* in France. **Plant Pathology**, v.40, p.347-351, 1991.
- MURPHY, B.C.; MORISAWA, T.A.; NEWMAN, J.P.; TJOSVOLD, S.A.; PARRELLA, M.P. Fungal pathogen controls thrips in greenhouse flowers. **California Agriculture**, v.52, p.32-36, 1998.
- POZZER, L.; RESENDE, R.O.; LIMA, M.I.; KITAJIMA, E.W.; GIORDANO, L.B.; ÁVILA, A.C. Tospovirus: uma visão atualizada. **Revisão Anual de Patologia de PLantas**, v.4, p.95-148, 1996.
- ROBB, K.L.; NEWMAN, J.; VIRZI, J.K.; PARRELLA, M.P. Insecticide resistance in western flower thrips. In: PARKER, B.L.; SKINNER, M.; LEWIS, T. **Thrips biology and management**. New York: Plenum Press, 1995. p.341-346.
- ROMBACH, M.C.; GILLESPIE, A.T. Entomogenous hyphomycetes for insect and mite control on greenhouse crops. **Biocontrol News and Information**, v.9, p.7-18, 1988.
- VAN DER SCHAAF, D.A.; MALAIS, M.; RAVENSBERG, W.J. The use of *Verticillium lecanii* against whitefly and thrips in glasshouse vegetables in the Netherlands. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., Adelaide, 1990. **Proceedings**. Adelaide: Society for Invertebrate Pathology, 1990. p.391.

Recebido em 08.02.99