

CONTROLE MICROBIANO DE *Corythaica sp.* E *Conotrachelus psidii*
NA CULTURA DA GOIABEIRA: FORMULAÇÕES PARA
INCREMENTAR A EFICIÊNCIA DE *Beauveria bassiana* E
Metarhizium anisopliae

ELIANE SOUZA BRITO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

ABRIL DE 2006

CONTROLE MICROBIANO DE *Corythaica sp.* E *Conotrachelus psidii*
NA CULTURA DA GOIABEIRA: FORMULAÇÕES PARA
INCREMENTAR A EFICIÊNCIA DE *Beauveria bassiana* E
Metarhizium anisopliae

ELIANE SOUZA BRITO

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do título
de Mestre em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Richard Ian Samuels

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ
ABRIL DE 2006

CONTROLE MICROBIANO DE *Corythaica sp.* E *Conotrachelus psidii*
NA CULTURA DA GOIABEIRA: FORMULAÇÕES PARA
INCREMENTAR A EFICIÊNCIA DE *Beauveria bassiana* E
Metarhizium anisopliae

ELIANE SOUZA BRITO

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do título
de Mestre em Produção Vegetal”.

Aprovada em 06 de Abril de 2006.

Comissão Examinadora:

Prof. Cláudio Luiz Melo de Souza (D.Sc. – Produção Vegetal) – ISTCA/FAETEC

Milton Erthal Jr (D.Sc. – Produção Vegetal) – UENF

Prof. Omar Bailez (D.Sc. – Biologia do Comportamento) – UENF

Prof. Richard Ian Samuels (PhD. – Patologia de Insetos) – UENF
(Orientador)

A meus pais José e Maria Amélia, pelo amor incondicional, apoio e incentivo em todos os momentos.

Ao meu noivo Aroldo, pela dedicação e amor durante todos esses anos de convivência.

Dedico esse trabalho

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta conquista.

Aos meus pais, José e Maria Amélia; à meus irmãos, Flávio, Leandro e Gustavo aos amigos, Milton, Denise, Paulo César, Adriano, Mariana, Verônica e César Ronald, por todos os momentos compartilhados durante a realização deste trabalho.

Ao meu noivo, Aroldo, pela cumplicidade e carinho.

Às colegas de república, Cristine, Carolina e Beth, pela amizade.

A UENF, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado e pela concessão da bolsa.

Ao professor Richard Ian Samuels, pela orientação, incentivo e amizade.

Ao professor Rogério Figueiredo Daher, pela assistência e sugestões.

À todos os servidores da UENF, de modo especial à Rita e ao Vilarin, pelos valiosos serviços prestados, pelo convívio e amizade.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Pragas em estudo	04
2.1.1. <i>Corythaica</i> sp.	04
2.1.2. <i>Conotrachelus psidii</i>	05
2.2. Uso de fungos entomopatogênicos no controle de pragas	06
2.2.1. Controle microbiano de curculionídeos e hemipteros no Brasil	07
2.3. Formulações de fungos entomopatogênicos	09
2.4. Uso do kaolin no controle de pragas	10
3. TRABALHOS.....	13
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE <i>Beauveria bassiana</i> E <i>Metarhizium anisopliae</i> NO LABORATÓRIO E NO CAMPO EM TRÊS FORMULAÇÕES VISANDO O CONTROLE DE <i>Corythaica</i> sp. (HEMIPTERA:TINGIDAE)	13
RESUMO	13
ABSTRACT	14
3.1 INTRODUÇÃO	15
3.1.1 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1.1.1. Bioensaio 1 - Efeito do Filtue® no crescimento de <i>B.bassiana</i> e <i>M.anisopliae</i>	19
3.1.1.2. Bioensaio 2 - Efeitos do Filtue® e Surround® na patogenicidade de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> a adultos de <i>Corythaica</i> sp.	20

3.1.1.3. Bioensaio 3 - Avaliação de três formulações de fungos entomopatogênicos visando o controle de <i>Corythaica</i> sp.	20
3.1.1.4. Bioensaio 4 - Avaliação do desempenho de três formulações de fungos entomopatogênicos visando o controle de <i>Corythaica</i> sp em condições de campo	22
3.1.2. RESULTADOS	23
3.1.2.1. Bioensaio 1 - Efeito do Filtue [®] no crescimento de <i>B.bassiana</i> e <i>M.anisopliae</i>	23
3.1.2.2. Bioensaio 2 - Efeitos do Filtue [®] e Surround [®] na patogenicidade de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> a adultos de <i>Corythaica</i> sp.	24
3.1.2.3. Bioensaio 3 - Avaliação de três formulações de fungos entomopatogênicos visando o controle de <i>Corythaica</i> sp.	25
3.1.2.4. Bioensaio 4 - Avaliação do desempenho de três formulações de fungos entomopatogênicos visando o controle de <i>Corythaica</i> sp. em condições de campo	28
3.1.3. DISCUSSÃO	32
3.1.4. CONCLUSÕES	34
3.1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
VIRULÊNCIA DE ISOLADOS DE <i>Beauveria bassiana</i> E <i>Metarhizium anisopliae</i> A ADULTOS DE <i>Conotrachelus psidii</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), EM DIFERENTES FORMULAÇÕES	40
RESUMO	40
ABSTRACT	41
3.2. INTRODUÇÃO	42
3.2.1. MATERIAL E MÉTODOS	47
3.2.1.1. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos virulentos à <i>C.psidii</i>	48
3.2.1.2. Efeito de diferentes concentrações de Confidor [®] sobre <i>C.psidii</i>	49
3.2.1.3. Conidiogênese em cadáveres de <i>C. psidii</i>	49
3.2.2. RESULTADOS	50
3.2.2.1. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos virulentos à <i>C.psidii</i>	50

3.2.2.2. Efeito de diferentes concentrações de Confidor [®] sobre <i>C. psidii</i>	52
3.2.2.3. Conidiogênese em cadáveres de <i>C. psidii</i>	55
3.2.3. DISCUSSÃO	58
3.2.4. CONCLUSÕES	60
3.2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
4. RESUMO E CONCLUSÕES	65
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
6. APÊNDICES	73

RESUMO

BRITO, Eliane Souza, MS. ; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Abril de 2006. Controle Microbiano de *Corythaica sp.* e *Conotrachelus psidii* na Cultura da Goiabeira: Formulações para Incrementar a Eficiência dos Fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Orientador: Prof. Richard Ian Samuels.

Foram selecionados isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de duas pragas importantes da goiabeira, *Conotrachelus psidii* (o gorgulho da goiaba) e *Corythaica sp.* (percevejo rendado da goiaba). A formulação dos fungos selecionados foi pesquisada com o intuito de aumentar a eficiência em condições de campo. Para o controle de *Corythaica sp.* foram conduzidos ensaios para verificar a virulência de isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, em diferentes formulações (Tween 80; Filtue[®] 10%; Óleo de girassol 8%). Foi verificado que o Filtue[®] não afeta o crescimento e conidiogênese dos isolados testados em meio SDA, possibilitando sua utilização em formulações de fungos entomopatogênicos. O isolado LPP91 foi o mais virulento contra *Corythaica sp.* causando 95,8% de mortalidade em Tween 80 com um TL₅₀ de 5,2 dias. Não houve incremento na mortalidade de *Corythaica sp.* nos isolados formulados em Filtue[®], exceto para o isolado LPP114, no qual a mortalidade atingiu 91,65% representando um aumento de 20,8% com relação à formulação em Tween 80 e 10,8% com relação à formulação em óleo. Todos os isolados mostraram aumento na mortalidade quando formulados em óleo, exceto LPP114, LPP110 e LPP19, que apresentaram diminuição na mortalidade com relação à formulação em

Filtue[®]. O isolado LPP114 foi testado no campo nas três formulações. Os resultados obtidos mostram que nos tratamentos LPP114 em Filtue[®] e somente Filtue[®], houve um decréscimo na população da praga, não havendo no entanto, diferença significativa com relação ao controle. Nos tratamentos LPP114 em água, LPP114 em Filtue[®] e LPP114 em óleo foram encontrados cadáveres de *Corythaica* sp. com conidiogênese confirmando que a mortalidade dos mesmos ocorreu pela infecção com o isolado testado, não ocorrendo diferença significativa entre as formulações. Nos ensaios com *C. psidii*, o isolado mais promissor foi LPP 19 com 73% de mortalidade em Tween 80, 90,6% em Óleo de girassol e 100% em Confidor[®] com TL₅₀ de 9,7; 8,3 e 5,7 dias, respectivamente. O isolado que apresentou menor mortalidade foi ESALQ 818 com 26,6% em Tween 80; 57,3% em Óleo de girassol 8% e 86,6% em Confidor[®]. Foi verificado que as formulações favoreceram a virulência de todos os isolados aumentando a mortalidade e diminuindo o TL₅₀, principalmente para ESALQ 818, seu TL₅₀ passou de 25,1 dias em Tween80 para 10,3 dias em Confidor[®].

ABSTRACT

BRITO, Eliane Souza, MS; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; April 2006. Microbial control of *Corythaica sp.* e *Conotrachelus psidii* insect pests of guava: Formulations for increasing efficiency of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* fungi.; Advisor: Prof. Richard Ian Samuels.

Isolates of entomopathogenic fungi were selected for the control of two important guava pests, *Conotrachelus psidii* (guava weevil) e *Corythaica sp.* (guava bug). The formulation of these isolates was studied in order to increase their efficiency in field conditions. In the case of *Corythaica sp.*, isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* were tested using three formulations (Tween 80; Filtue[®] 10%; sunflower oil 8%). The compatibility of and fungi was tested in artificial media and Filtue[®] was shown not to affect growth or conidiogenesis. Isolate LPP91 was the most virulent against *Corythaica sp.* causing 95.8% mortality when formulated in Tween 80, with a LT₅₀ of 5.2 days. There was no increase in mortality when fungi were formulated in Filtue[®], except when using LPP114, that caused 91,7% mortality when formulated in Filtue[®], an increase of 20.8% in relation to formulations in Tween 80 and an increase of 10.8% when compared to oil formulations. All of the isolates tested showed an increase in virulence when formulated in oil, except LPP114, LPP110 and LPP19, which had reduced mortality when compared to formulations using Filtue[®]. LPP114 was selected for field trials using all three formulations. Results following applications of the fungus in the field showed that LPP114 + Filtue[®], the Filtue[®] control treatment caused a

reduction of pest populations. Only when insects were sprayed with fungi, insect cadavers were observed covered with conidia, confirming that mortality was caused by the fungus. However, no significant differences were seen between formulations when considering this factor. Isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* were selected for use against *C. psidii* using three formulations (Tween 80, sunflower oil and Confidor®). The most virulent isolate LPP 19 caused 73% mortality in Tween 80, 90.6% in sunflower oil and 100% when the fungus was applied together with the insecticide Confidor®. The values for LT₅₀ were 9.7; 8.3 and 5.7 days respectively. The least virulent isolate was ESALQ 818, causing 26.6% mortality in Tween 80; 57.3% in 8% sunflower oil and 86.6% when mixed with Confidor®. Formulation of all isolates with sunflower oil or with Confidor® resulted in an increase in virulence, with higher insect mortality and shorter LT₅₀ times. This was most evident for ESALQ 818, where the LT₅₀ in Tween was 25.1 days and in Confidor® 10.3 days.

1. INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é pertencente à família das mirtáceas, nativa da América tropical e atualmente é cultivada em várias regiões do Brasil e todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (Pereira e Martinez Jr., 1986).

No Brasil a produção em escala industrial teve início na década de 70 (Amaro 1979). A produção era destinada ao mercado interno e externo para consumo *in natura* ou industrializada sob a forma de doces e sucos ou como fruto desidratado (Choudhury, 2001). Desde então o Brasil vem se destacando no cenário mundial, ocupando na década de 90 o terceiro lugar na produção mundial de goiaba (Carraro e Cunha, 1997), atingindo a liderança mundial em 2000 com 14.000 hectares plantados atingindo uma produção de 260.000 toneladas (Agriannual, 2000). Dados recentes mostram que houve um crescimento bastante significativo na produção brasileira de goiabas com a ampliação da área plantada em 2.000 hectares passando a apresentar uma produção de 322.000 toneladas (IBGE, 2002). No Brasil os principais Estados produtores de goiaba são: São Paulo, Pernambuco, responsáveis por 70% da produção, seguidos pela Bahia, Goiás, Rio de Janeiro e Espírito Santo (IBGE, 2002). Levantamentos recentes realizados por consultores do SEBRAE RJ (2003) mostram que a região Norte Fluminense, historicamente canavieira, vem desenvolvendo projetos importantes para a ampliação da fruticultura aumentando significativamente as áreas de cultivo de goiaba.

A goiabeira, apesar de ser considerada uma planta rústica, é alvo de diversas pragas que danificam as folhas, os ramos, os troncos e os frutos. Sendo

assim, é praticamente impossível a obtenção de frutos de qualidade sem adoção de técnicas de controle durante todas as fases de seu crescimento e desenvolvimento (Icuma, 2000). Dentre essas pragas as de maior importância nas regiões Norte e Noroeste Fluminense são o gorgulho-da-goiaba (*Conotrachelus psidii*) e o percevejo-de-renda (*Corythaica sp.*).

Os métodos de controle atualmente empregados para o gorgulho-da-goiaba consistem basicamente na utilização de produtos sintéticos altamente tóxicos, com largos efeitos residuais e pouco eficientes, tais como aplicações de soluções inseticidas a base de fention (0,10%), paration metílico (0,10%) ou triclorfon (0,30%). Estes produtos, no entanto, não são considerados eficientes, pois apenas reduzem a população de adultos, nunca atingindo as larvas que estão nos frutos ou no solo (Sampaio, 1977; Barelli & Galli, 1998). Outro método de controle é o cultural por meio do ensacamento dos frutos ainda bem pequenos (entre 3-4 cm), ou pela coleta e destruição dos frutos atacados, diminuindo assim a fonte de inóculo para o próximo ciclo. No que se refere ao percevejo rendado da goiabeira, por se tratar de uma praga considerada secundária, não há produtos registrados para seu controle nesta cultura.

O emprego de métodos de controle químico na fruticultura tem se tornado impróprio principalmente em frutos destinados ao consumo *in natura* como é o caso da goiaba, por não existirem produtos químicos registrados no Sistema de Informações de Agrotóxicos para o controle do gorgulho-da-goiaba (Sampaio, 1977; Barelli & Galli, 1998). Considerando as informações anteriores, faz-se necessário o desenvolvimento de um programa de manejo integrado das pragas que atacam a cultura da goiaba nesta região.

O controle biológico de pragas na agricultura e na fruticultura brasileira tem sido implementado como alternativa ao uso de produtos químicos de amplo espectro. Segundo Driesche & Bellows (1996), com a comprovação dos efeitos maléficos dos produtos químicos sobre os seres humanos, a vida silvestre e ao meio ambiente em geral, o controle biológico volta a ser uma alternativa importante e bastante viável. Métodos biológicos de controle fitossanitário vêm

sendo gradativamente introduzidos juntamente com a adoção do Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Alves, 1998).

O controle microbiano, além de seu baixo custo de obtenção e a produção facilitada do agente, seria uma forma de se minimizar custos e assim ampliar áreas tratadas, aumentando o benefício social deste tipo de controle, incluindo ainda a possibilidade de sua associação com produtos químicos contribuindo significativamente na redução dos níveis de resíduo e do impacto ambiental (Driesche & Bellows, 1996).

2 . REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Pragas em estudo

2.1.1. *Corythaica sp.*

Pouco se sabe a respeito do percevejo-de-renda na cultura da goiaba, mas semelhantes aos tingídeos, pragas em outras culturas possuem hábito gregário, ou seja, tanto ninfas como adultos permanecem nas faces inferiores das folhas, onde efetuam postura endofítica e sugam a seiva produzindo lesões cloróticas diminuindo sua área fotossintética, causando consideráveis danos à planta infestada (Lima & Racca Filho, 1991; Hickel & Ducroquet, 1993 e Pereira & Bortoli, 1998).

O percevejo-de-renda de ocorrência observada em pomar de goiaba na Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS) do município de Campos dos Goytacazes (RJ), parece pertencer ao gênero *Corythaica*, e apesar de ser considerado praga secundária ou nem ser citada como tal na literatura, tem demonstrado potencial danoso relativamente alto, podendo alcançar o status de praga primária nesta região (Samuels, comunicação pessoal).

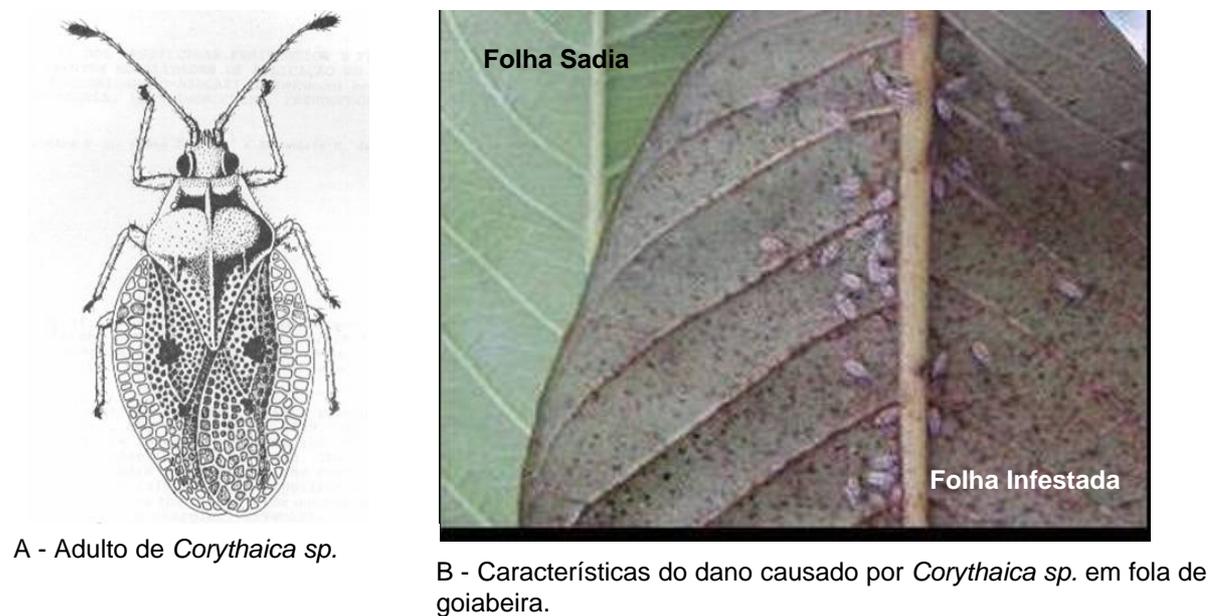


Figura 1. Características do adulto de *Corythaica sp.* e da folha infestada

2.1.2. *Conotrachelus psidii*

O gorgulho-da-goiaba é considerado uma das principais pragas dessa cultura, afetando a qualidade comercial dos frutos. Trata-se de um pequeno besouro com 6 mm de comprimento, de coloração pardo-escuro. As fêmeas fertilizadas ovipositam nos frutos ainda bem verdes onde as larvas se desenvolvem passando por quatro ínstares, estas são de coloração branca e cabeça escura, chegam a medir cerca de 10 mm de comprimento. Quando os frutos amadurecem e caem, as larvas de quarto ínstar migram para o solo, penetrando entre 5 e 15 cm de profundidade, onde permanecem por aproximadamente 3 - 4 meses, após este período abandonam o solo e iniciam um novo ciclo (Icuma, 2000; Bailez *et al.*, 2003).

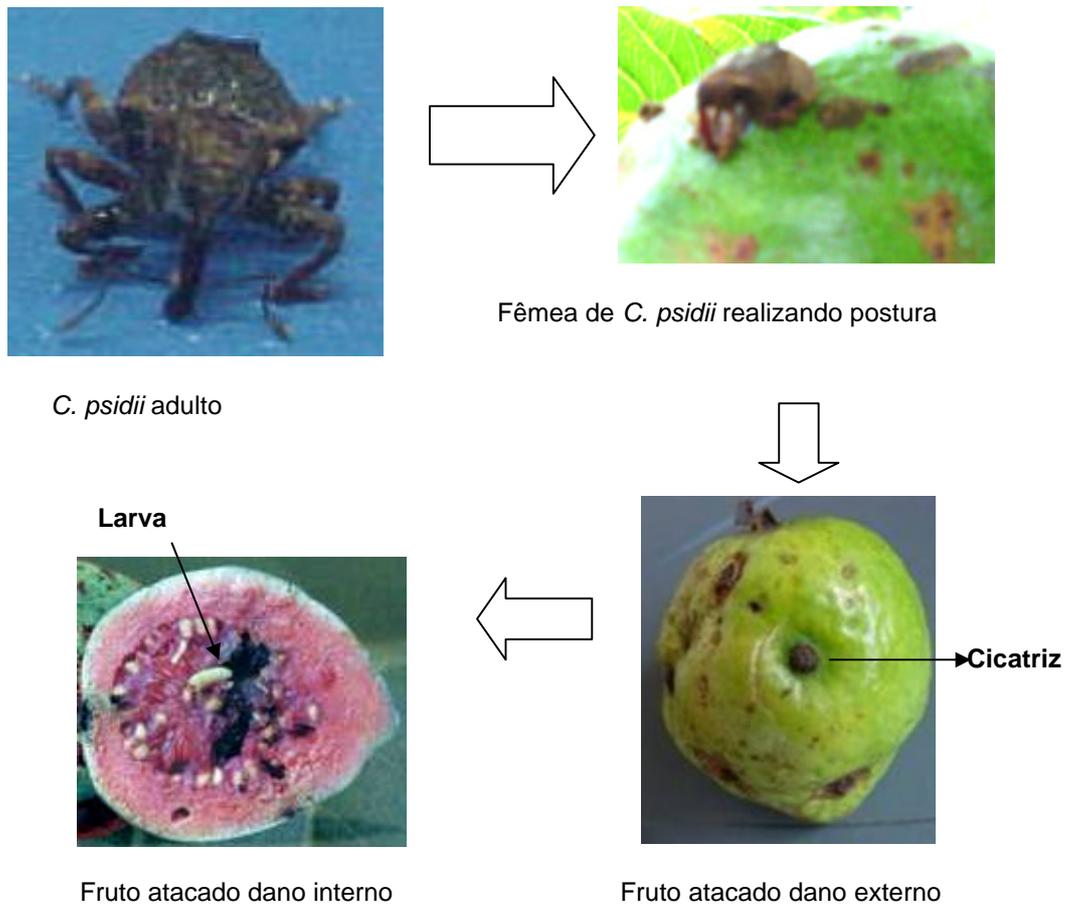


Figura 1 – Ciclo de vida de *C. psidii*

2.2. Uso de fungos entomopatogênicos no controle de pragas

Os fungos entomopatogênicos são responsáveis por, aproximadamente, 80% das doenças de insetos. Segundo Goettel *et al.* (1995), os gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* têm apresentado grande potencial para o desenvolvimento de bioinseticidas. Sua ação inseticida tem se mostrado eficaz, especialmente pela especificidade a insetos pragas e compatibilidade com praguicidas sintéticos e contribuindo para a conservação ambiental (Glare, 1991). Por possuírem modo de ação diferente das bactérias e dos vírus, infectando não apenas através do

intestino, mas também através da superfície do tegumento do inseto, os fungos não ficam limitados aos insetos mastigadores, atuando também sobre aqueles dotados de aparelho bucal tipo sugador.

Os gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* pertencem à classe dos deuteromicetos, ambos de ocorrência generalizada em todos os países, sendo a espécie mais freqüente sobre os insetos e em amostras de solo, local este em que pode subsistir por longo tempo. Sua infecção geralmente se dá via tegumento, onde o fungo germina entre 12 a 18 horas. Pode ocorrer também a infecção oral e via sistema respiratório através dos espiráculos. A penetração tegumentar ocorre devido a uma ação física (apressórios) e química (enzimática), levando cerca de 12 horas. Após 72 horas da inoculação, o inseto encontra-se totalmente colonizado, sendo o tecido gorduroso bastante atacado, seguido por tecido intestinal, tubos de Malpighi e outros, ocorrendo então a morte devido à falta de nutrientes e acúmulo de substâncias tóxicas. Haverá sobre o cadáver, a formação de grande quantidade de conidióforos e conídios característicos da espécie. Os indivíduos atacados apresentam-se cobertos por micélio branco que esporula em condições adequadas, sendo estas, umidade relativa em torno de 90% e temperatura na faixa de 23 a 28° C (Samson *et al.*, 1988 e Alves, 1998).

2.2.1. Controle microbiano de curculionídeos e hemipteros no Brasil

Fungos entomopatogênicos vêm sendo investigados para controlar várias espécies de curculionídeos no Brasil, por exemplo, no controle do gorgulho da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*), a broca-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), do bicudo-do-coqueiro (*Rynchophorus palmarum*) e da broca-do-cacaueiro (*Conotrachelus humeropictus*). As duas espécies de fungos entomopatogênicos mais empregadas em controle biológico no Brasil, são *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, devido ao alto nível de virulência e a fácil produção em massa (Alves, 1998). Essas espécies de fungos são patogênicas a curculionídeos, sendo capazes de causar epizootias naturais em populações, portanto devem ser consideradas no controle de pragas.

Os programas de controle, de modo geral, estão utilizando uma estratégia de iscas impregnadas com fungos entomopatogênicos. Por exemplo, no controle do gorgulho da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*) a estratégia escolhida foi a incrementação, que consiste na utilização de iscas de toletes de cana-de-açúcar. Neste caso, para o tratamento de 200 iscas de cana-de-açúcar são gastos 500g de conídios do fungo. Essas iscas devem ser distribuídas em 1 hectare da cultura, colocando-as na base das touceiras, sendo recobertas com folhas de cana, visando protegê-las da radiação solar e de um dessecamento precoce (Badilla & Alves, 1991). Para o controle da broca-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), a técnica empregada consiste na utilização de iscas tipo queijo, as quais são confeccionadas com os pseudocaulos de plantas recém colhidas que apresentem larvas, essas iscas são impregnadas com conídios de *Beauveria bassiana* (Batista Filho et al., 1991).

Segundo Samuels *et al.* (2002), isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* se mostraram bastante efetivos no controle de adultos de broca-do-café, (*Hypothenemus hampei*), especialmente *B. bassiana* com uma TL₅₀ de 3.4 dias e em frutos inoculados antes e depois da infestação de 83% e 62%, respectivamente.

Segundo Tanzini (2002), para o controle do percevejo-de-renda-da-seringueira (*Leptopharsa herveae*), a mortalidade foi de 56% a 84% aos três dias após a inoculação de *B. bassiana* e para *M. anisopliae* observou-se uma mortalidade de 90% aos 10 dias após a inoculação.

Na Embrapa Cerrado foram testados isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Sporotrix insectorum* visando o controle do percevejo-de-renda-da-mandioca (*Vastiga illudens*), e aos 18 dias após o tratamento, foi constatado que *B. bassiana* e *M. anisopliae* se mostraram mais eficientes do que *S. insectorum*, os quais apresentaram mortalidade de 100%, 74% e 34% respectivamente (Oliveira *et al.*, 2001).

Em trabalho realizado por Samuels *et al.* (2002), foram avaliadas a patogenicidade e virulência de isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre ovos de *Blissus antilus*, destacando - se *M. anisopliae*, cuja virulência variou entre 63.5% e 96%.

2.3. Formulações de fungos entomopatogênicos

Geralmente os fungos entomopatogênicos requerem um ambiente saturado por água ou próximo à saturação para ocorrer a germinação e esporulação. O tipo de formulação empregada deve atender às fases de produção do organismo bem como otimizar sua ação sobre a praga alvo em condições adversas de campo tais como temperaturas elevadas, umidade relativa baixa e radiação ultravioleta, além de permitir fácil aplicação por meio de métodos relativamente simples e ainda ser economicamente viável. O produto final deve também ter um maior tempo de prateleira permitindo sua estocagem sem perdas efetivas no seu potencial, ou seja, manter suas propriedades ao longo do tempo compreendido desde a produção até sua utilização no campo (Batista filho *et al.*, 2001).

Um fator que limita a padronização de um biopesticida refere-se ao seu modo de infecção, que ocorre principalmente por contato, dificultando assim a determinação da quantidade de esporos envolvidos no processo infeccioso, além de ser difícil garantir que a suspensão fúngica permanecerá aderida sobre o tegumento do inseto tratado (Habib *et al.*, 1998).

O uso de óleos como componentes de formulações fúngicas tem demonstrado aumento na eficiência do método em condições adversas, tais como baixa umidade relativa, além de facilitar a aderência dos esporos ao tegumento do inseto, mostrando-se mais viável que as formulações convencionais à base de água (Prior *et al.*, 1988; Batta, 2003). Além dessas vantagens, as formulações oleosas são compatíveis à aplicação em ultrabaixo volume (UBV), tornando-a mais prática e econômica (Thomas *et al.*, 1996; Bateman, 1997). As formulações fúngicas à base de óleos vêm sendo testadas com sucesso pelo programa LUBILOSA substituindo os pesticidas químicos no controle de gafanhotos (Lomer *et al.*, 1999). As formulações em óleo vegetal possibilitam o uso do fungo em condições secas, pois o óleo propicia um microambiente favorável aos conídios, reduzindo a dependência da umidade do ambiente para a rápida germinação e

infecção, além de melhorar a fixação destes nos insetos. Também, as formulações em óleo facilitam as pulverizações em ultrabaixo volume (Thomas *et al.* 1996).

A radiação ultravioleta (UV) representa um dos fatores ambientais que mais compromete a viabilidade e a persistência de microorganismos (Batista Filho *et al.*, 2001). O kaolin possui a propriedade de reflectância, reduzindo o estresse térmico da planta e diminuição da incidência de raios UV (Glenn *et al.*, 2001). Como discutiremos adiante, a utilização da tecnologia de filme de partículas em consórcio com fungos entomopatogênicos poderia representar uma possível alternativa para favorecer a adesão do fungo ao tegumento de inseto, ou seja, a utilização de Kaolin, como componente da formulação dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, poderia influenciar positivamente na sua ação sobre as pragas alvo (Samuels, comunicação pessoal).

Outro aspecto importante quanto às formulações refere-se ao uso de inseticidas associados a fungos entomopatogênicos para aumentar a virulência, resultando em maior mortalidade das pragas alvo em curto período de tempo. Conforme verificado por Hiromor & Nishigki (2001), ao inocularem larvas de *Anomala cuprea* com *M. anisopliae* após a aplicação de Fenitotion; Quintela *et al.* (1998), ao testarem isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* com Imidaclopride sobre *Diaprepes abbreviatus* e Jaramillo *et al.* (2005), no controle de percevejo da família Cydinidae. Todos os trabalhos mostram que as interações entre *M. anisopliae* e *B. bassiana* com os inseticidas empregados foram predominantemente aditivas.

2.4. Uso do kaolin no controle de pragas

O método denominado tecnologia de filme de partículas tem sido usado como alternativa no controle de pragas e doenças em culturas agrícolas, que são convencionalmente controlados com pesticidas de ação neurotóxica ou toxinas fisiológicas com largo efeito residual, prejudicando a saúde humana e o contaminando o meio ambiente.

O componente básico desta tecnologia é o kaolin, um mineral aluminossilicato ($\text{Al}_4 \text{Si}_4 \text{O}_{10} [\text{OH}]_8$), caracterizado por possuir coloração branca granulometria fina e não possuir abrasividade (Puterka *et al.*, 2000). Este mineral em seu estado bruto é fitotóxico, sendo assim; para ser utilizado na agricultura, passa por um processo especial após sua extração das jazidas, passando por uma ultrafiltração para a remoção da sílica (componente tóxico), em seguida por uma etapa de aquecimento a aproximadamente 3000°C e posteriormente sofre a adição de algumas partículas inertes (Glenn, comunicação pessoal).

A tecnologia de filme de partículas é considerada uma alternativa com potencial para substituir alguns organofosforados no controle de vários insetos o que se pode considerar um grande avanço, visto que na atualidade se busca reduzir ao máximo os riscos decorrentes da utilização de pesticidas. O Surround WP[®] é considerado pouco tóxico para o homem, além de ser um produto ecologicamente correto, pois não oferece riscos de contaminação do lençol freático nem afeta aves e peixes os quais eram atingidos em procedimentos convencionais de controle de pragas (Glenn *et al.*, 2002 e Garcia *et al.*, 2002).

De acordo com Glenn *et al.* (1999), os insetos praga são confundidos pela presença do filme de partículas, pois torna seu hospedeiro irreconhecível visualmente e tactualmente, de modo que a maioria dos insetos utilizam as cores para se orientar e reconhecer a planta hospedeira. Em condição experimental de livre escolha entre folhas tratadas e não tratadas com kaolin, adultos de *Cacopsylla pyricola*, Foerster submetidos a tal condição e examinados no microscópio apresentavam vestígios de partículas de kaolin em seus segmentos tarsais, o que demonstra que os mesmos tentaram atacar as folhas tratadas, mas foram repelidos. Foram observadas alterações no comportamento ocasionadas pelo estresse quando os insetos foram cobertos por esta substância, de modo que estes tentavam se livrar das partículas aderidas a seus corpos, tal comportamento demonstra que a sua aplicação direta sobre a planta já infestada pode afetá-los significativamente. Em condições de campo, plantas tratadas no primeiro dia após a aplicação apresentaram redução significativa do número de adultos de *C. pyricola*, após 10 dias houve máxima resposta a aplicação do filme de partículas

com redução ao número de ovos, adultos e ninfas com relação a população das plantas controle.

Segundo Puterka *et al.* (2003), o kaolin mostrou-se prejudicial a adultos de *C. pyricola* ao debilitar-lhes os movimentos quando estão com o corpo coberto por esta substância, além de impedir que se alimentem ou ovipositem na planta hospedeira uma vez que o ambiente é tido como hostil para tais atividades, sugerindo que o primeiro mecanismo de controle deste método é a repelência dos adultos, fato este que favorece a prevenção de pragas tornando as plantas menos propensas a infestações. Plântulas de maçã infestadas com adultos de *Aphis spireacola*, Patch e tratadas com kaolin apresentaram uma redução de quase 50% da população inicial quando comparadas às plântulas do controle, não se reproduzindo provavelmente por julgarem o ambiente pouco propício à sobrevivência das ninfas.

Devido às dificuldades de se controlar as pragas que ocorrem na cultura da goiaba, o uso de fungos pode trazer resultados favoráveis. Fatores tais como persistência ambiental dos esporos, além do seu tipo de ação e dos hábitos do percevejo-de-renda de se agregar ao redor da fonte de alimento, aumentam a possibilidade da infecção se estabelecer e se espalhar na população, prolongando sua ação.

Quanto ao controle do gorgulho, o uso de fungos entomopatogênicos pode ser bastante efetivo como verificado em programas de controle de curculionídeos atualmente adotados em sistemas de manejo integrado, conforme citado anteriormente.

3. TRABALHOS

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae* NO LABORATÓRIO E NO CAMPO EM TRÊS FORMULAÇÕES VISANDO O CONTROLE DE *Corythaica* sp. (HEMIPTERA:TINGIDAE).

RESUMO

O percevejo rendado, *Corythaica* sp. (Hemiptera:Tingidae), ocorre na cultura da goiabeira, vivendo na face inferior das folhas. Se alimentam da seiva do hospedeiro produzindo lesões cloróticas nas folhas atacadas, diminuindo assim sua área fotossintética, debilitando a planta atacada quando em altas populações. Foram realizados ensaios em laboratório para selecionar isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* virulentos a *Corythaica* sp. em diferentes formulações e posteriormente verificar a performance do isolado selecionado em condições de campo. Testes de compatibilidade mostraram que tanto isolados de *B. bassiana* quanto de *M. anisopliae* mostraram-se compatíveis a Filtue[®], possibilitando sua utilização na formulação destes fungos assim como Óleo de girassol. O resultados mostram que o isolado mais virulento foi LPP91, causando

95,8% mortalidade em Tween80, 92,5% em Kaolin e 86,6% em Óleo de girassol, com TL_{50} em torno de 5,2 e 5,5 dias. Alguns isolados apresentaram mortalidade inferior nas formulações à base de Filtue[®] e Óleo como CG24, ESALQ 818 e LPP91, não havendo, porém, diferença significativa entre as mortalidades ocasionadas por estes isolados nas formulações. O isolado testado no campo foi o LPP114, por ter apresentado uma tendência crescente na mortalidade em todas as formulações e pela produção elevada de conídios no substrato utilizado. Foram utilizadas 24 plantas, nas quais foram aplicados os tratamentos: T1 - Água; T2 - Filtue[®] 10%; T3 - Óleo de girassol 8%; T4 - LPP114+Água; T5 - LPP114 + Filtue[®] e T6 - LPP114 + Óleo de girassol 8%. Os tratamentos 2 e 5 apresentaram uma população menor do que os demais ao longo do período experimental, talvez pela ação repelente do Filtue[®] (Kaolin) sobre estes insetos. Nos tratamentos 4, 5 e 6 foi verificada a presença de cadáveres de *Corythaica* sp. com conidiogênese, confirmando que sua mortalidade foi devido à infecção pelo fungo aplicado. É importante ressaltar, no entanto que não houve diferença significativa entre médias de mortalidade causadas por LPP114 nas formulações avaliadas.

ABSTRACT

The guava bug, *Corythaica* sp (Hemiptera:Tingidae), attacks guava plants specifically on the underside of leaves and show gregarious behavior, with insects of all developmental stages found on the same leaf. These bugs feed on plant sap, causing obvious leaf lesions of plants infested with these insects, thus reducing photosynthetic area and productivity. Isolates of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* were selected for the control of *Corythaica* sp. using different formulations, with the aim of increasing efficiency under field conditions. As a first step, compatibility tests were carried out to ascertain if the chosen formulations negatively effected fungal growth. Results

showed that Filtue[®] had no adverse effects of isolates of *B. bassiana* and *M. anisopliae*, and could therefore be used in lab trials and future field trials. This was also the case for sunflower oil formulations. Results showed that LPP91 was the most virulent isolate, causing 95.8% mortality in Tween 80, 92.5% in Filtue[®] and 86.6% in sunflower oil, with LT_{50} s of approximately 5.2-5.5 days. Some of the isolates tested caused a lower rate of mortality when formulated in Filtue[®] or oil than when formulated in Tween 80, however, there was no significant differences seen between formulations. Isolate LPP114 (*B. bassiana*) was selected for field trials due to its good performance in all three formulations and due to its high production of conidia in artificial media. Twenty-four plants were used (5 per treatment), with the following treatments: T1- water; T2- Filtue[®] 10%; T3- sunflower oil 8%; T4- LPP114 + water; T5- LPP114+ Filtue[®] and T6- LPP114+ sunflower oil 8%. The insect population was monitored throughout the experiment. T2 and T5 populations were lower during the experimental period, probably as Filtue[®] acts as a repellent. For T4, T5 and T6, insect cadavers were observed with conidiogenesis, confirming that the fungal applications were responsible for pest mortality. However, no statistical differences were seen when considering confirmed mortality between different formulations.

3.1 INTRODUÇÃO

O percevejo rendado *Corythaica* sp. (Hemiptera:Tingidae) teve sua ocorrência registrada em goiabeira pela primeira vez por Lima & Racca Filho (1991), em vários municípios do Estado do Rio de Janeiro e no município de Videira (SC) por Hickel & Ducroquet (1993). Pouco se sabe a respeito desta praga na cultura da goiaba, o que se observa nitidamente é sua semelhança aos tingídeos considerados praga em outras culturas, por possuir hábito gregário, ou seja, tanto ninfas como adultos coabitam nas faces inferiores da folha, efetuam

postura endofítica e sugam a seiva do hospedeiro produzindo lesões cloróticas diminuindo sua área fotossintética, sendo assim causam consideráveis danos à planta infestada (Lima & Racca Filho, 1991; Hickel & Ducroquet, 1993 e Pereira & Bortoli, 1998). A goiabeira, apesar de ser considerada uma planta rústica é alvo de diversas pragas as quais causam danos nas folhas, ramos, troncos e frutos. Sendo assim, é praticamente impossível a obtenção de frutos de qualidade sem adoção de medidas de controle durante todas as fases de seu crescimento e desenvolvimento (Icuma, 2000).

O percevejo-de-renda teve sua ocorrência registrada em pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), no município de Campos do Goytacazes (RJ), e apesar de ainda ser considerado praga secundária para esta cultura, ou nem ser citada como tal na literatura, tem demonstrado potencial danoso relativamente alto, podendo alcançar o status de praga primária nesta região, (Samuels, comunicação pessoal).

Estudos têm demonstrado que os fungos entomopatogênicos são responsáveis por, aproximadamente, 80% das doenças de insetos. Segundo Goettel *et al.* (1995), os gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* têm apresentado grande potencial para o desenvolvimento de bioinseticidas. Sua ação inseticida tem se mostrado eficaz, especialmente pela especificidade a insetos pragas e compatibilidade com praguicidas sintéticos, contribuindo para a conservação ambiental (Glare, 1991).

Nos resultados obtidos por Samuels *et al.* (2002), ao avaliar a patogenicidade e virulência de isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre ovos de *Blissus antilus*, foi verificado que os isolados de *M. anisopliae* demonstraram desempenho superior a *B. bassiana*, com níveis de virulência variando entre 96% e 63,5% .

Em estudos realizados por Tanzini (2002), ao selecionar isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, visando o controle do percevejo-de-renda da seringueira (*Leptopharsa herveae*), foi verificada mortalidade de 56% a 84% aos três dias após a inoculação para *B. bassiana* e para *M. anisopliae*, observou uma mortalidade de 90% aos 10 dias após a inoculação.

Pesquisadores da Embrapa Cerrado testaram alguns isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Sporotrix insectorum*, visando o controle do percevejo-de-renda da mandioca (*Vastiga illudens*) e, aos 18 dias após o tratamento, foi constatado que *B. bassiana* e *M. anisopliae* mostraram-se mais eficientes comparados à *S. insectorum*, pois apresentaram 100% ,74% e 34% de mortalidade, respectivamente (Oliveira *et al.*, 2001).

A utilização de microrganismos em programas de manejo integrado, no entanto, tem como limitantes os fatores ambientais, sendo assim, o tipo de formulação empregado deve atender às fases de produção do organismo, bem como otimizar sua ação sobre a praga alvo em condições adversas de campo, tais como temperaturas elevadas, umidade relativa baixa, radiação ultravioleta, além de permitir uma fácil aplicação por meio de métodos relativamente simples e ainda ser economicamente viável (Batista Filho *et al.*, 2001).

O uso de óleos como componentes das formulações fúngicas tem demonstrado aumento na eficiência deste organismo em condições adversas como baixa umidade relativa e facilitando a aderência dos esporos do fungo ao tegumento do inseto, mostrando-se mais viável que as formulações convencionais à base de água (Prior *et al.*, 1988; Batta, 2003). Além das vantagens que este componente proporciona ao fungo, este também é compatível à aplicação em ultra baixo volume (UBV), tornando sua utilização mais prática e econômica, (Thomas *et al.*, 1996; Bateman, 1997). Estas propriedades atribuídas a formulações fúngicas à base de óleos vêm sendo testadas com sucesso pelo programa LUBILOSA, substituindo os pesticidas químicos no controle de gafanhotos (Lomer *et al.*, 1999). Formulações à base de óleo vegetal possibilitam o uso do fungo em condições secas, pois, o óleo propicia um microambiente favorável aos conídios, reduzindo a dependência da umidade do ambiente para a rápida germinação e infecção.

De acordo com Batista Filho *et al.* (2001), a radiação ultravioleta representa um dos fatores ambientais que mais compromete a viabilidade e a persistência de microrganismos. Estudos realizados por Glenn *et al.* (2001) revelam que o kaolin possui a propriedade de reflectância reduzindo o estresse térmico em plantas pela diminuição da incidência de UV. Resultado semelhante foi verificado por Batista

Filho *et al.* (2001), ao avaliarem os efeitos da radiação ultravioleta sobre nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) em laboratório nas formulações à base de óleo e à base de kaolin, demonstrado porcentagens de mortalidade semelhantes de 98% e 99% para as duas formulações, respectivamente. A utilização da tecnologia de filme de partículas como componente da formulação dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* poderia influenciar positivamente na sua ação sobre as pragas alvo (Samuels, comunicação pessoal).

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos a fim de comprovar a eficácia do kaolin no controle de pragas e redução do estresse por alta incidência de radiação solar nas culturas da pêra, maçã e ameixa, por formar uma espécie de barreira física de coloração branca refletindo os raios luminosos em excesso, sem, portanto, afetar significativamente as taxas fotossintéticas das plantas tratadas (Glenn *et al.*, 2002 e Garcia *et al.*, 2002) a utilização de Surround WP reduz a temperatura na superfície do fruto e, conseqüentemente, reduz a incidência de injúrias por excesso de sol.

Os insetos praga, por sua vez, são confundidos pela presença do filme de partículas, pois torna seu hospedeiro irreconhecível visualmente e tactualmente, uma vez que muitos insetos utilizam as cores para se orientarem e reconhecerem suas plantas hospedeiras (Glenn *et al.*, 1999; Puterka *et al.*, 2003). É também prejudicial a estes artrópodes no sentido debilitar-lhes os movimentos quando têm seu corpo coberto por esta substância, além de impedir que se alimentem ou ovipositem na planta hospedeira, pois o ambiente é tido como hostil para tais atividades.

O primeiro mecanismo de controle deste método é a repelência dos adultos, fato que favorece a prevenção de pragas tornando as plantas menos propensas a infestações. Em trabalho realizado por Glenn *et al.* (1999), ao tratarem com kaolin plântulas de maçã infestadas com adultos de *Aphis spireacola*, verificaram uma redução de quase 50% na população inicial quando comparadas com as plântulas não tratadas, inibindo também a reprodução destes insetos, provavelmente por julgarem o ambiente pouco propício à sobrevivência das ninfas.

Tendo em vista o potencial dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* no controle de pragas, este trabalho teve por objetivos:

a) selecionar isolados com base na mortalidade dos insetos, correspondentes a cada isolado, e definir assim qual será o isolado mais promissor para o controle de *Corythaica sp.* .

b) avaliar o Filtue[®] (Kaolin) e o óleo de girassol como possíveis componentes na formulação de fungos entomopatogênicos, visando o incremento da virulência do fungo e a viabilidade destas associações como possíveis alternativas de controle do percevejo-de-renda da goiabeira (*Corythaica sp.*).

3.1.1. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF), da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes/ RJ. Os insetos adultos foram obtidos do pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), Campos dos Goytacazes/ RJ. Os mesmos foram mantidos no LEF, sobre folhas frescas de goiaba em câmara BOD a 25°C, 70 ± 10 % UR do ar e fotofase de 12h (luz; escuro), em caixa gerbox forrada com papel filtro estéril umedecido com água destilada por 48 horas antes de serem submetidos aos tratamentos.

3.1.1.1. Bioensaio1 - Efeito do Filtue[®] no crescimento de *B. bassiana* e *M. anisopliae*

Nesse bioensaio foram preparadas suspensões fúngicas na concentração 1×10^8 conídeos / ml dos isolados LPP 91 e LPP 114 e acrescida de uma suspensão de Filtue[®] (10%) ou Tween 80 (0,05%) para inoculação do meio de cultura SDA1/4, sendo três placas de Petri por tratamento. Com o auxílio de uma

micropipeta foi aplicada sobre o meio de cultura uma alíquota de 2 µl da suspensão em quatro pontos da placa, aguardando por dez minutos para secar e posteriormente acomodadas em câmara BOD a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas durante dez dias. O diâmetro das colônias foi medido com o auxílio de um paquímetro digital, os dados foram submetidos à análise de variância sob delineamento estatístico inteiramente casualizado com quatro tratamentos, três repetições e quatro sub amostras. O crescimento médio das colônias foi avaliado pelo Teste de Duncan ($P = 0,01$).

3.1.1.2. Bioensaio 2 - Efeitos de Filtue[®] e Surround[®] na patogenicidade de *B.bassiana* e *M.anisopliae* aos adultos de *Corythaica* sp..

Foram utilizados dois produtos comerciais Filtue[®] e Surround[®] na concentração 10% em suspensão com os isolados LPP 91 e LPP 114, ambos na concentração 1×10^8 conídios ml^{-1} . A aplicação foi realizada por meio de Torre de Potter em placas de plástico transparente de seis centímetros de diâmetro e um centímetro e meio de altura, cada uma contendo um disco de folha de goiabeira de cinco centímetros de diâmetro, utilizando-se dez percevejos por placa e seis placas por tratamento. As placas foram forradas com papel filtro umedecido com água destilada de modo a manter o disco foliar fresco e adequado para que os percevejos se alimentassem durante o período de avaliação de dez dias. Após a inoculação estes recipientes foram mantidos fechados e acondicionados em câmara BOD a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas.

Os tratamentos controle foram: Tween 80 (0,05%), Filtue[®] (10%) e Surround[®] (10%). Os dados foram submetidos á análise de variância sob delineamento estatístico inteiramente casualizado com seis tratamentos e três repetições. A mortalidade média foi avaliada pelo teste de Tukey ($P = 0,01$).

3.1.1.3. Bioensaio 3 - Avaliação de formulações de fungos entomopatogênicos visando o controle de *Corythaica* sp..

Os conídios utilizados para os testes foram produzidos em placas de Petri contendo meio de cultura SDA 1/16 em câmara BOD a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas. Após dez dias de incubação foram colhidos os conídios e efetuada a preparação do inóculo dos seguintes isolados: CG24, LPP91, ESALQ818, LPP114, LPP110 e LPP19. Foram utilizadas placas de plástico transparente conforme descrito no bioensaio dois.

Foram adicionados os percevejos aos discos foliares com o auxílio de um pincel, sendo dez insetos por disco foliar. Em seguida, os discos foliares foram inoculados com a formulação correspondente a cada tratamento, com o auxílio da Torre de Potter. Após a inoculação estes recipientes foram mantidos fechados e acondicionados em câmara BOD a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas.

Os discos foliares contendo adultos de *Corythaica sp.* foram submetidos aos seguintes tratamentos: Solução de Tween 80 (0,05 %), Óleo de girassol (8%), suspensão de Filtue[®] (10%) em Tween 80 (0,05%), suspensão de fungo com 1×10^8 conídios ml^{-1} em Tween 80 (0,05%), Filtue[®] (10%) e suspensão de fungo com 1×10^8 conídios ml^{-1} em Tween 80 (0,05%) e suspensão de fungo com 1×10^8 conídios ml^{-1} em Tween 80 (0,05%) com óleo de girassol 8%.

As avaliações foram realizadas a cada 24 horas, os insetos mortos foram submetidos a uma desinfecção superficial em álcool 70% por 30 segundos, eliminando assim, possíveis organismos contaminantes e, em seguida, enxaguados em água estéril por 30 segundos, sendo posteriormente transferidos para placas de plástico cobertas com papel de filtro umedecido com água estéril e acondicionadas em câmara BOD a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas por cinco dias para verificação da conidiogênese. Utilizou-se delineamento estatístico inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x6 (três formulações e seis isolados de fungo).

A avaliação dos isolados e das formulações foi efetuada com base na mortalidade dos insetos e resultados analisados usando análise de variância e comparações entre médias pelo teste Tukey ($P = 0,05$). Os dados foram

submetidos à análise de Probit através do programa SPSS.10 para obtenção da TL_{50} , correspondente a cada formulação.

3.1.1.4. Bioensaio 4 – Avaliação do desempenho de três formulações de fungos entomopatogênicos no controle de *Corythaica* sp. em condições de campo.

Após a escolha do isolado mais promissor indicado pelos testes no laboratório foi realizada sua produção em larga escala, tendo arroz como substrato, adotando-se a metodologia descrita por Alves (1998). Inicialmente foi realizada a produção do inóculo em placas de Petri contendo meio de cultura SDA 1/4. Foi utilizado arroz parbolizado, o qual foi acondicionado em Erlemeyers de 250 mL, (100 g + 60 mL de água destilada), sendo submetido ao processo de autoclavagem a 120° C, durante 15 minutos, após este processo foi realizada a inoculação do arroz, acrescentado-se os conídios (aproximadamente 1/4 da placa cultivada). Em seguida, os Erlemeyers foram mantidos em câmara BOD a temperatura de 25±1 °C, por um período de 15 dias. A concentração do inóculo por Erlemeyer foi determinada com o auxílio da câmara de Neubauer, em microscópio óptico.

O preparo da suspensão para aplicação no campo foi realizado no laboratório, onde se efetuou a separação dos conídios do substrato (arroz), em água estéril e Tween 80 (0,05%), com o auxílio de um liquidificador e peneira, em seguida procedeu-se o preparo das formulações e acondicionamento em garrafas plásticas mantidas na geladeira a 5°C para posterior aplicação no campo.

A aplicação das formulações foi efetuada com um pulverizador costal, sendo três litros por planta e quatro plantas por tratamento após as quinze horas. As avaliações foram realizadas por meio de amostragem de cinco folhas por planta, sendo feita a contagem do número de insetos a cada três dias, durante dezoito dias, totalizando seis observações.

As análises estatísticas foram realizadas por meio de intervalo de confiança (P = 0,05) para média (COCHRAN, 1955).

3.1.2.RESULTADOS

3.1.2.1. Bioensaio 1 - Efeito do Filtue[®] no crescimento de *B. bassiana* e *M. anisopliae*

Ao avaliar o crescimento de colônias de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em suspensão com Filtue[®] (10%) cultivados em meio SDA1/4, verificou-se significância pelo Teste F ($P = 0,01$) (Quadro 1, vide apêndice) com relação aos tratamentos controle. Verificou-se pelo Teste Duncan ($P = 0,01$), que tanto o isolado LPP114 quanto o LPP91, não tiveram seu crescimento afetado pelo Filtue[®], podendo este, ser utilizado com segurança em formulações de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sem comprometer a germinação dos esporos e a produção de unidades infectivas (Figura 1).

No entanto, ao avaliar o crescimento médio das colônias dos dois isolados pelo Teste Duncan (Figura 1), foi observada uma diferença entre os diâmetros das colônias de LPP114 em relação a LPP91, indicando que este último demonstra uma menor produção de conídios independente do tratamento empregado.

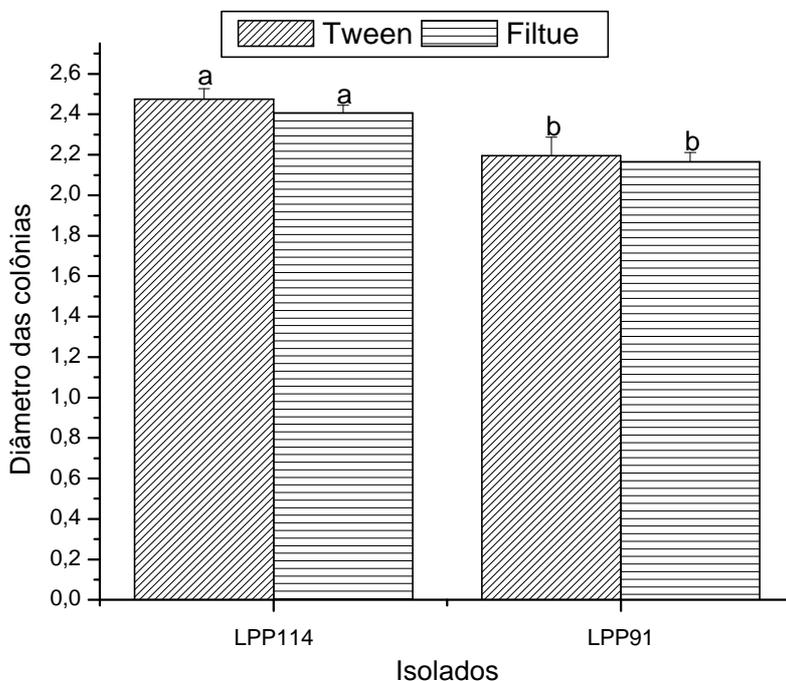


Figura 1. Diâmetro médio das colônias dos isolados LPP114 e LPP91, previamente suspensos em Filtue® e inoculados em meio SDA.

3.1.2.2. Bioensaio 2 – Efeitos de Filtue® e Surround® na virulência de *B.bassiana* e *M.anisopliae* a adultos de *Corythaica* sp..

Os resultados (Figura 2) demonstram que não houve diferença significativa na mortalidade média entre os dois produtos avaliados, mas houve diferença com relação à mortalidade média dos insetos submetidos as formulações com Filtue® (10%) ou Surround® (10%) em relação ao controle com Tween 80 (0,05%), no qual a mortalidade foi significativamente menor segundo o Teste Tukey ($P = 0,01$).

Os tratamentos controle com Tween 80 (0,05%), Filtue® (10%) e Surround® (10%) não apresentaram mortalidade durante o período experimental.

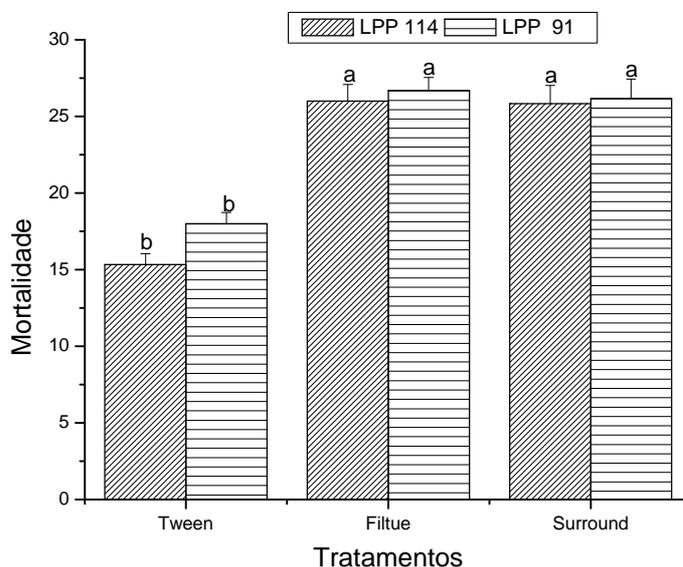


Figura 2. Mortalidade de adultos de *Corythaica* sp. pelos isolados LPP114 e LPP91, formulados em Filtue[®] (10%).

3.1.2.3. Biensaio 3 - Avaliação de formulações de fungos entomopatogênicos quanto à mortalidade de *Corythaica* sp..

Os resultados representados na Tabela 1, referem-se ao Tempo Letal (TL₅₀), o qual determina o tempo necessário para que haja mortalidade de 50% da população avaliada mediante os tratamentos empregados. De acordo com as análises entre os isolados nas três formulações houve uma variação de TL₅₀ de 4.68 a 8.4 dias referentes aos tratamentos CG24+ Tween 80 (0.05%) e LPP110 + Óleo de girassol (8%), respectivamente. Entre os isolados testados o LPP 91 demonstrou melhor desempenho nas três formulações, havendo uma pequena variação de TL₅₀ entre elas de 5.2 em Tween 80 (0,05%), 5,2 em Filtue[®] (10%) e 5.5 em Óleo de girassol (8%). Ao analisar os isolados em cada formulação nota-se que na formulação Tween 80 (0,05%) os isolados que demonstraram melhor

desempenho foram CG24 com TL₅₀ de 4.68 dias, seguido do LPP91 com TL₅₀ de 5.2 dias e ESALQ 818 com TL₅₀ de 5.8 dias, enquanto que os mesmos isolados apresentaram nas formulações Filtue[®] (10%) e Óleo de girassol (8%) TL₅₀ de 6,12 e 6,61 dias para CG24, 5.2 e 5.5 dias para LPP91 e para ESALQ818 6,74 e 5,95 dias, demonstrando um aumento progressivo de TL₅₀ nas formulações Filtue[®] (10%) e Óleo de girassol (8%) para os três isolados. Na formulação Filtue[®] (10%) os isolados de melhor desempenho foram LPP91 com TL₅₀ de 5.2 dias, CG24 com TL₅₀ de 6,1 dias e LPP114 com TL₅₀ de 6.4 dias. Já na formulação à base de Óleo de girassol (8%) os isolados de destaque foram LPP 91 com TL₅₀ de 5.5 dias, ESALQ 818 com TL₅₀ de 5.9 dias e LPP 114 com TL₅₀ de 6.1 dias. É importante ressaltar que nos tratamentos controle constituídos por: Tween 80 (0.05%) , Filtue[®] (10%) e Óleo de girassol (8%) não houve mortalidade, portanto não constam nas análises descritas.

Tabela 1 – Mortalidade (%) e TL₅₀ de *Corythaica* sp. submetidos a seis isolados de fungos na concentração 1x10⁸ conídios ml⁻¹ em três formulações (n = 120 insetos)

ISOLADOS	TWEEN 80 (0,05%)		FITUE (10%)		ÓLEO GIRASSOL. (8%)	
	TL ₅₀ (DIAS)	MORT (%)	TL ₅₀ (DIAS)	MORT (%)	TL ₅₀ (DIAS)	MORT (%)
CG24	4,7	92	6,1	70	6,6	78
LPP91	5,2	96	5,2	93	5,5	87
ESALQ818	5,8	88	6,7	76	5,9	88
LPP19	6,8	75	7,1	76	8,0	87
LPP114	7,5	71	6,4	92	6,1	81
LPP110	8,1	71	8,4	74	7,6	73

Tween 80 (0,05%) Óleo (8%) e Filtue[®] (10%) constituíram os tratamentos controle e não apresentaram mortalidade ao longo do período experimental.

A análise de variância (Quadro 3, vide apêndice) mostra que não houve diferenças entre as médias de mortalidade nos tratamentos, sendo assim, as variações ocorridas na interação do isolado com as formulações empregadas não

são significativas pelo teste F ($P = 0,05$), embora os isolados LPP114, LPP110 e LPP19 tenham demonstrado porcentagens de mortalidade ligeiramente maior na formulação Filtue[®] 10% (Tabela 1). Entretanto, houve diferença significativa entre os isolados independentemente da formulação empregada.

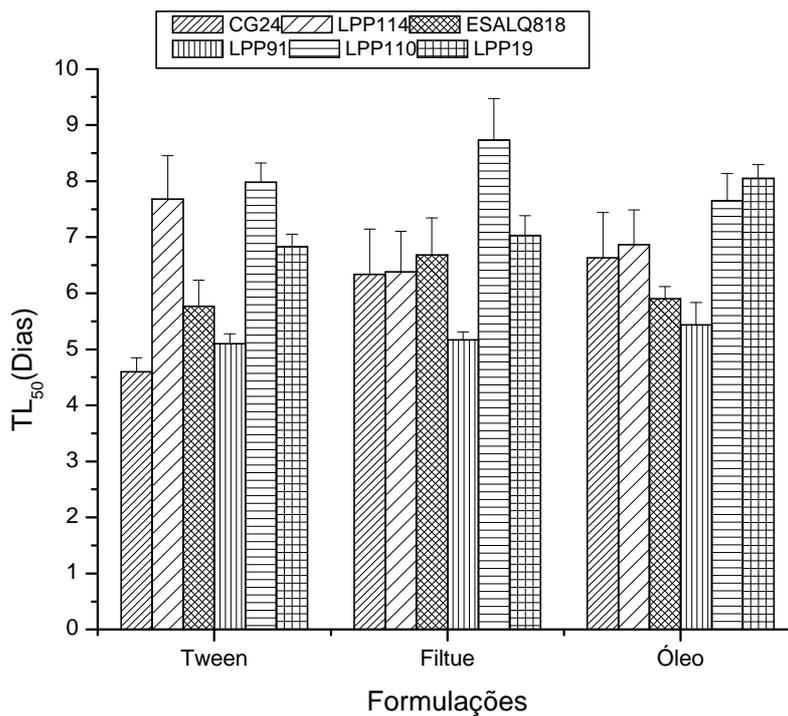


Figura 3. TL_{50} para adultos de *Corythaica* sp. submetidos a isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em diferentes formulações.

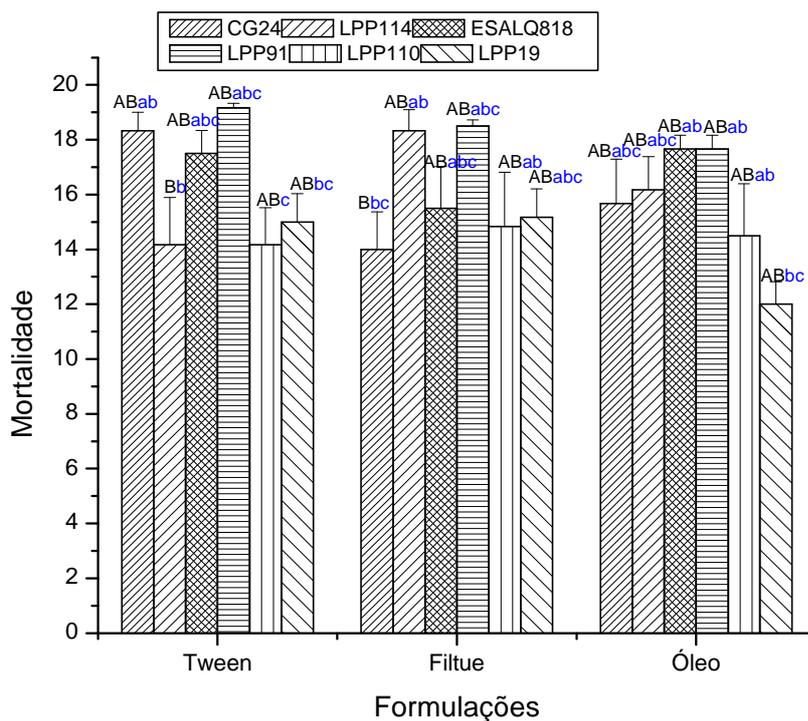


Figura 4. Mortalidade de adultos de *Corythaica* sp por isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em diferentes formulações. Letras maiúscula se referem a comparações entre formulações e letras minúsculas se referem a comparações entre isolados

Foi verificado que dos insetos infectados por *B. bassiana*, mais de 85% apresentavam conidiogênese, os insetos infectados por *M. anisopliae* também apresentaram conidiogênese.

3.1.2.4. Biensaio 4 - Desempenho de três formulações de fungos entomopatogênicos no controle de *Corythaica* sp. em condições de campo.

Nos levantamentos amostrais da população de *Corythaica* sp. (Figura 5), realizados a cada três dias ao longo do período experimental (18 dias), observa-se que a população de insetos nas plantas submetidas aos tratamentos não diferem estatisticamente.

As variações ocorridas na população de adultos de *Corythaica* sp. mostram a distribuição dos insetos entre as plantas estudadas, de modo que, tanto as plantas submetidas aos tratamentos controle quanto às tratadas com as formulações em estudo, demonstram padrões bastante distintos entre si, ou seja, a população não era homogênea para nenhum dos grupos de plantas (figura 7), provavelmente devido às condições experimentais, uma vez que o experimento foi conduzido em pomar de goiaba já estabelecido e naturalmente infestado pela praga em estudo.

As plantas submetidas às formulações à base de Filtue[®], apresentaram uma diminuição na população de insetos com relação às demais formulações.

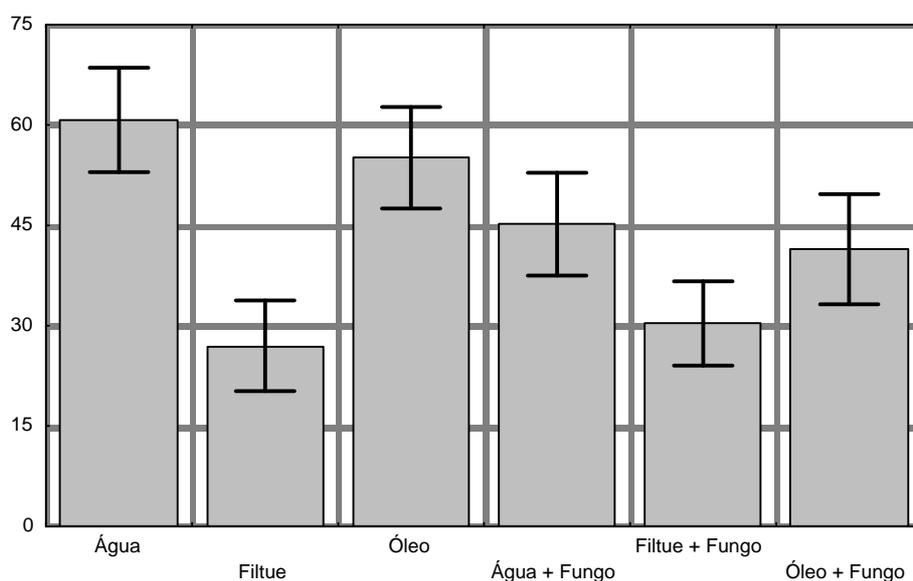


Figura 5. Média e Intervalos de Confiança (I.C.) para levantamento populacional de *Corythaica* sp. por meio de amostragem em plantas submetidas aos tratamentos: Água, Filtue[®] (10%), Óleo de girassol (8%) Água + Fungo, Filtue[®] (10%) + Fungo e Óleo de girassol (8%) + Fungo em pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), Campos dos Goytacazes/RJ, 2005.

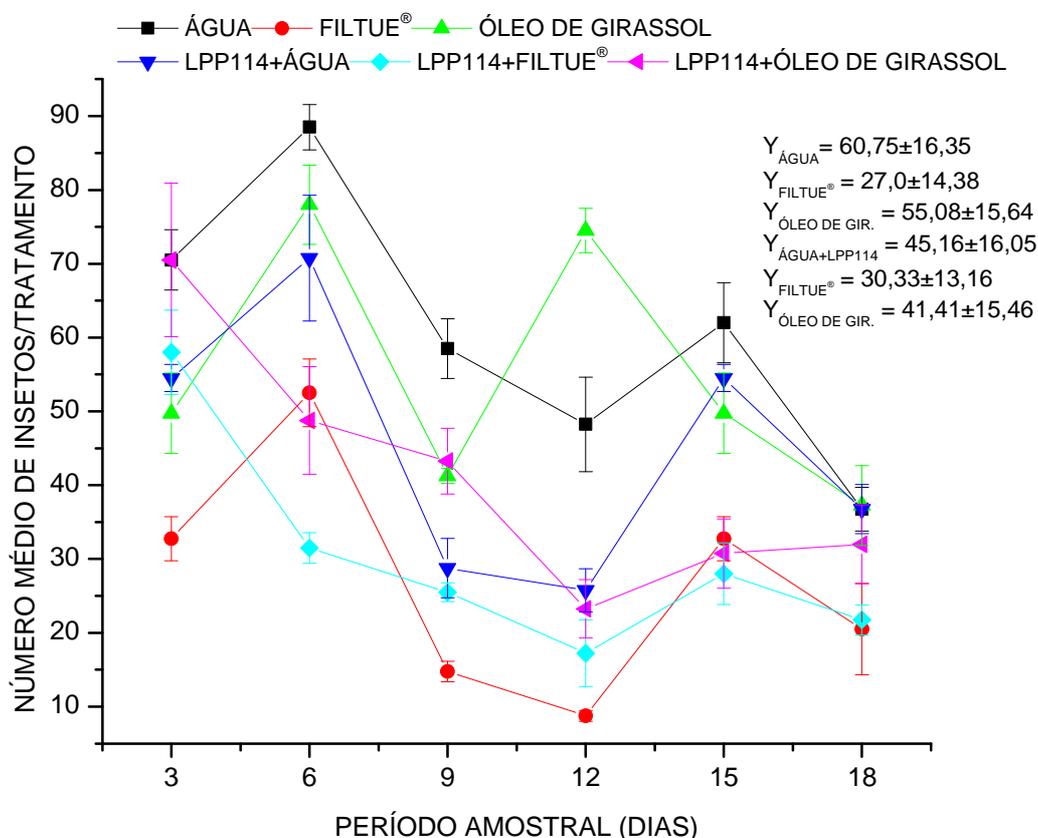


Figura 6. Variação populacional de adultos de *Corythaica* sp em plantas submetidas aos tratamentos: Água, Filtue[®] (10%), Óleo de girassol (8%), Água + fungo, Filtue[®] + fungo e Óleo de girassol (8%) + fungo, durante o período amostral (18 dias), em intervalos de três dias (n=4).

Conforme representado na Figura 6, o tratamento controle apresenta uma tendência de variações ascendentes na população de adultos de *Corythaica* sp. entre os levantamentos aos 3 Dias Após Aplicação (DAA) e aos 6 DAA, seguido de oscilações nas populações aos 9 DAA e aos 12 DAA, caracterizando a partir daí curva descendente formada ao longo do período amostral.

Os levantamentos amostrais realizados em plantas submetidas aos tratamentos Água, Filtue[®] 10%, Óleo 8%, Água + fungo, Filtue[®] + fungo e Óleo + fungo em pomar de goiaba, durante o período experimental representados na

figura 3, mostram uma tendência decrescente entre os 3 DAA e 12 DAA com uma leve ascendência entre os 12 DAA e os 18 DAA. Somente nos tratamentos Água + fungo, Filtue[®] + fungo e Óleo + fungo houve presença de insetos com conidiogênese (Figura 7), não havendo, contudo, a presença desta dentre as amostras coletadas em plantas dos tratamentos controle conforme o esperado.



Figura 7 – Cadáver de *Corythaica sp* em folha de goiabeira infectado por LPP114 no campo.

Apesar de o número de insetos com conidiogênese ter sido muito pequeno quando comparado à população amostrada, não houve, porém, diferença estatística entre o número de insetos com conidiogênese nos tratamentos fungo, Filtue[®] + fungo e Óleo + fungo, representados pelo teste F/ANOVA (Quadro 5, vide apêndice), sendo as médias insetos com conidiogênese e intervalos de confiança representadas na figura 10, onde é verificada uma relação forte entre os tratamentos.

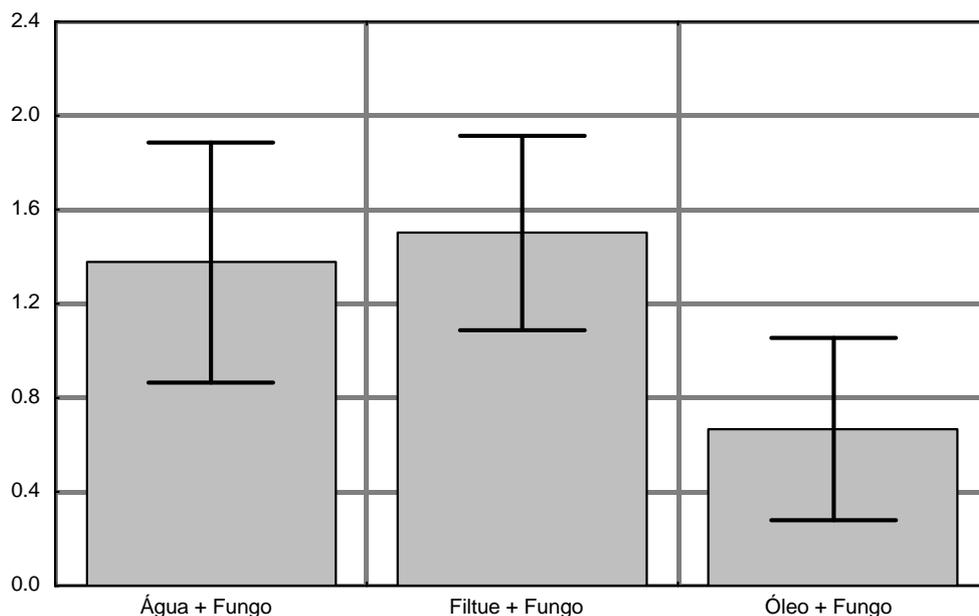


Figura 10. Média e Intervalos de Confiança (I.C) para levantamento de insetos com conidiogênese nas plantas tratadas com formulações: Água + Fungo, Filtue® (10%) + Fungo e Óleo de girassol (8%) + Fungo em pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), Campos dos Goytacazes/RJ,2005.

3.1.3. DISCUSSÃO

Conforme verificado nos resultados dos experimentos realizados em laboratório, todos os isolados testados foram virulentos a *Corythaica* sp..

Um fator importante na escolha de fungos para programas de controle de pragas é o tempo decorrido da inoculação a morte do inseto, determinado pelo valor do Tempo Letal (TL_{50}). O isolado CG24 apresentou o menor tempo letal de 4,7 dias, seguido pelo isolado LPP91 com 5,2 em Tween 80 (0,05%). Os isolados de *B. bassiana* demonstraram variações nas porcentagens de mortalidade e no TL_{50} , conforme mencionado por Todorova *et al.* (2002). Estas variações são

comuns, visto que, possivelmente, ocorram diferenças genéticas e fisiológicas entre eles ou ainda fatores relacionados à produção de toxinas específicas e características do inseto estudado (Butt *et al.*, 1992; Khachatourians, 1992).

Os isolados de *M.anisopliae* apresentaram mortalidade elevada em todas as formulações se destacando LPP91 com 95,8%; 92,5% e 86,6% em Tween 80, Filtue® e Óleo de girassol, respectivamente, com relação ao isolado ESALQ 818 com 87,5; 77,5 e 88,3 em Tween 80, Filtue® e Óleo de girassol, respectivamente. Nota-se, também, que a mortalidade causada pelo isolado ESALQ818 foi influenciada positivamente na formulação com Óleo de girassol em relação à formulação com Filtue®. Este resultado da mortalidade em óleo de girassol chegando a 86,6% para LPP91 e 88,3% para ESALQ818 é semelhante ao encontrado por Batta (2003), ao testar formulações de *M.anisopliae* á base de óleo observou mortalidade de 82,2% para ninfas e adultos de ácaro vermelho.

Vários estudos já foram realizados testando isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em condições de campo contra percevejos tais como Luz *et al.* (2004). em *T. infestans*, Tanzini (2002) em *L. herveae*, Sosa-Gómez & Morcardi (1998) em percevejos da soja. Estes últimos autores, assim como Luz *et al.* (1998), verificaram que isolados de *M.anisopliae* são superiores a *B. bassiana*, causando uma maior mortalidade em um curto período de tempo. Em ensaio de seleção de isolados virulentos a *B.antillus* o isolado CG24 apresentou uma de mortalidade em torno de 44.2% com um TL₅₀ de 9,8 dias, enquanto ESALQ818 apresentou mortalidade em torno de 47,5% e um TL₅₀ 9.4 dias (Samuels *et al.*, 2004), não havendo, no entanto, diferença estatística entre estes dois isolados.

As plantas submetidas aos tratamentos Filtue® (10%) sozinho e Filtue® (10%) +fungo apresentaram uma média populacional menor do que nas plantas submetidas ao tratamento controle (Água), podendo este fato, relacionar-se ao efeito de repelência que o kaolin exerce sobre algumas pragas, conforme verificado por Glenn *et al.* (1999), em *Aphis spireacola*, inibindo sua postura em plantas tratadas com produto à base de kaolin.

Dentre os isolados estudados, os que apresentaram maior porcentagem de mortalidade foram LPP91 (*M. anisopliae*) com 95.6% e CG24 (*B. bassiana*) com

91,6%, conforme verificado por Tanzini (2002) ao selecionar isolados de fungos para controle do percevejo rendado da seringueira *Leptopharsa herveae*, tanto isolados de *M. anisopliae* quanto *B. bassiana* são bastante promissores.

De acordo com Alves, (1998), os fungos entomopatogênicos são muito influenciados pelos fatores ambientais tais como umidade relativa, temperatura, radiação ultravioleta, entre outros. Estes fatores podem ter diminuído a eficácia do isolado utilizado para os testes de campo, mas podem futuramente ser contornados por meio de adoção de algumas estratégias na utilização de isolados mais adaptados ou melhor adequação de formulações apropriadas, de modo que o favoreça, além de um aumento na concentração do inóculo. Os resultados obtidos nos testes de campo mostram ainda que não houve diferença estatisticamente significativa entre as formulações testadas.

3.1.4. CONCLUSÕES

Os isolados LPP114 e LPP91 não tiveram seu crescimento afetado pelo Filtue[®], pode-se inferir que o Filtue[®] pode ser utilizado com segurança em formulações de *B. bassiana* e *M. anisopliae*.

Foi observada uma diferença entre os diâmetros das colônias de LPP114 em relação a LPP91, indicando que este último demonstra uma menor produção de conídios meio de cultura SDA, independente do tratamento empregado.

Não houve diferença significativa na mortalidade de *Corythaica sp.* quando submetido à Filtue[®] e Surround[®] na concentração 10%.

Entre os isolados testados o LPP 91 demonstrou melhor desempenho nas três formulações, havendo uma pequena variação de TL₅₀ entre Tween80 (0,05%), Filtue[®] (10%) e Óleo de girassol (8%). Mas, apesar de ter demonstrado

mortalidade média ligeiramente superior aos demais isolados, visto que esta diferença não foi significativa estatisticamente.

Ao se analisar os isolados em cada formulação nota-se que na formulação Tween 80 (0,05%) os isolados que demonstraram melhor desempenho em termos de TL_{50} foram CG24, seguido do LPP91 e ESALQ 818.

Na formulação Filtue[®] (10%) os isolados de melhor desempenho em termos de TL_{50} foram LPP91, CG24 e LPP114. Já na formulação à base de Óleo de girassol (8%) os isolados de destaque foram LPP 91, ESALQ 818 e LPP114.

Os resultados mostram que novos testes com a formulação à base de Filtue[®] devem ser realizados de modo a verificar a veracidade desses dados que demonstram o baixo desempenho de alguns isolados de fungos entomopatogênicos quando formulados com este produto com relação as demais formulações, fato este que contraria as nossas expectativas, apesar de que os isolados testados demonstraram mortalidade média semelhante pelo teste Tukey ($P= 0,05$) em condições de laboratório.

O isolado LPP110 apresentou as menores médias de mortalidade, apesar de ter demonstrado um sensível aumento quando nas formulações Filtue[®] com relação à formulação Tween 0,05%.

Os isolados de *M.anisopliae* apresentaram mortalidade elevada em todas as formulações se destacando LPP91. Com relação ao isolado ESALQ, foi verificado também que mortalidade causada pelo isolado ESALQ818 foi influenciada positivamente na formulação com óleo com relação á formulação com Filtue[®].

O isolado LPP114 foi o mais estável nas formulações avaliadas e uma melhor produção de conídios no substrato utilizado, razão pela qual este isolado foi selecionado para os ensaios de campo.

Os resultados mostram um efeito negativo sobre a população de *Corythaica* sp. nas plantas submetidas aos tratamentos Filtue[®] (10%) e Filtue[®] (10%) + LPP114, possivelmente devido ao efeito de repelência conferido ao Filtue[®].

3.1.5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaro, A. (1979). O mercado interno de frutas in natura . *In*: Congresso Brasileiro de Fruticultura, Pelotas, Brasil, p. 1172 – 1186.
- Alves, S. B. (1998) Fungos entomopatogênicos. *In* ALVES, S.B. (ed.) Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba: FEALQ, p. 289-381.
- Batta, Y.A. (2003). Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphmycetes). *Crop Protection* 22 p.415-422.
- Bateman R P. (1997). Methods of application of microbial pesticide formulations for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171: 67-79.
- Batista Filho, A., Alves, S.B., Augusto, N.T., Pereira, R.M., Alves, L.F.A. (2001). Stability and persistence of two formulations containing *Anticarsia gematalis* nuclear polyedrovirus (AgMNPV). *Neotropical Entomology* 30 (3): 411-416.
- Butt, T. M., Barrisever, M., Drummond,J., Schuler,T.H., Tillemans, F.T., Wilding, N. (1992). Patogenicity of the entomopatogenous hyphomycete fungus, *Metarhizium anisopliae* against the chrysomelid beetles *Psylliodes chyrocephala* and *Phaedon cochleariae*. *Biocontrol Science . Techn* 2:327-334.
- Cochran, W. G. (1955). Técnicas de amostragem. Rio de Janeiro. Fundo de Cultura, 555p.

- Garcia, M. E., Berkett, L. P. and Bradshaw, T. (2002). Does surround[®] have non-target impacts on New England Orchards. www.massfruitgrowers.org/neftmtg/proc. (Acesso em março 2005).
- Glare, T.R., Milner, R.J. (1991) Ecology of entomopathogenic fungi. In: Arora, D.K., Ajello, L., Mukerji, K.G. (eds) Handbook of applied mycology Volume 2: Humans, animals and insects. Marcel Dekker, New York, p.237-256
- Glenn, D. M., Puterka, G. J., Vanderzwet, T., Byers, R. E. and Feldhake, C. (1999). Hydrophobic particle film: A new paradigm for suppression of arthropod pest and plant diseases. *Journal of Economic Entomology* 92:759 - 771
- Glenn, D. M. and Puterka, G. J., Drake, S. R., Unruh, T. R. and Knight, A. L., Baherle, P. and Prado, E., Baugher, T.A. (2001). Particle film application influences apple leaf physiology, fruit yield, and fruit quality. *Journal of American Horticulture: Sci.* 126: 175-181.
- Glenn, D. M., Prado, E., Erez, A., McFerson, J., Puterka, G. J. (2002). A reflective processed-kaolin particle film affects fruit temperature, radiation reflection, and solar injury in apple. *Journal of American Horticulture: Sci* 127: 188-193.2002.
- Goethel, M. S. Magalhaes, B. and Gama, G. (1995). Palatability and efficacy of a bait formulation of *Metarhizium flavoviride* against the grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides*, In Abstracts of the 28th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Cornell University, Itaca, p.23.
- Hickel, E.R., Ducroquet, J.P.H. (1993). Pragas da Goiabeira Serrana (Feijoa Sellowiana): Il-percevejo-de-renda (*Ulontingis nitor*) (Hemiptera: Tingidae). *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*, 22: 169-173.
- Icuma, I.N. In: Manica, In; Icuma, I.n Junqueira, N.T.V., Salvador, J.O., Moreira, A. Malavolta, E., (2000). *Fruticultura Tropical 6 Goiaba*. Porto Alegre: Cinco Continentes. 374p.
- Khachatourians, G. G., (1992). Virulence of five *Beauveria* strains, *Paecilomyces farinosus*, and *Verticillium lecanii* against the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Journal Invertebrate Pathology*. 59:212-214.

- Lima, A. F., Racca Filho, F. (1991). Ocorrência de *Ulontigis brasiliensis* (Drake, 1922) no Estado do Rio de Janeiro (Hemiptera: Tingidae). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 13, Recife. Resumos. Recife. SEB. P. 136.
- Lomer C J, Bateman R P, Dent D, De Groot H, Douro-Kpindou O-K, Kooyman C, Langewald J, Ouambama Z, Peveling R, Thomas M. (1999). Development of strategies for the incorporation of biological pesticides into the integrated management of locusts and grasshoppers. *Agricultural and Forest Entomology* 1: 71 - 88.
- Luz, C. Tigano, M. S., Silva, I. G., Cordeiro, C.M. T., Aljanabi, S.M. (1998). Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to control *Triatoma infestans*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 93: 839-846.
- Luz, C. Rocha, L.F.N., Nery, G.V., Magalhães, B. P., Tigano, M.S. (2004). Activity of oil-formulation *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic áreas in central Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99: 211-218.
- Oliveira, A.S., Alves, R.T., Fialho, J.F. de Junqueira, N.T.V. (2001). Controle do percevejo rendado da mandioca (*Vastiga illudens*) com fungo entomopatogênicos. Comunicado técnico - Embrapa Cerrado, Planaltina n. 45, p. 1-4.
- Prior C, Jollands P, Le Patourel G. (1988). Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 52: 66-72.
- Puterka, G.J., Reinke, M., Luvisi, D., Ciomperik, M., Bartels, D., Wendel, L., and Glenn, D. M. (2003). Particle films surround WP effects on glassy-winged sharpshooter behavior and its utility as barrier to sharpshooter infestations in grape. On line. *Plant Health Progress* doi: 10.109/PHP-2003-0321-01 RS.
- Pereira, F.M. Bortoli, S.A. (1998). Pragas da Goiabeira. In: Pragas das Fruteiras Tropicais de Importância Agroindustrial. Brasília. Braga Sobrinho, R., Cardoso, J.E., Freire, F.C.O. ed. Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, p. 119-130.

- Samuels, R.I., Coracini, D. L. A., Martins dos Santos, C. A., Gava, C. A. T. (2002). Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biological Control* 23, 269-273.
- Samuels, R.I., Coracini, D. L. A. (2004). Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for the control of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae). *Sci. Agric. (Piracicaba, Brasil)*, 61, 271-275.
- Sosa-Gomez, D. R., Morcardi, F. (1998). Laboratory and field studies on the infection of stink bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii*, and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Journal Invertebrate Pathology*. 71: 115-120.
- Tanzini, M. R. (2002). Controle do percevejo-de-renda-da-seringueira (*Leptopharsa herveae*) com fungos entomopatogênicos. Tese (Doutorado em ciências). Piracicaba-SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. ESALQ-USP, 158p.
- Thomas, M.B., Langewald, J. and Wood, S. N. (1996) Evaluating the effects of a biopesticide on populations of the variegated grasshopper, *Zonocerus variegates*. *Journal Applied Ecology* 33, 1509 -16.
- Todorova, S. I., Cloutier, C., Cote, J.C., and Coderre, D. (2002). Pathogenicity of six isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to *Perillus bioculatus* (F) (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal Applied Entomology*, 126, 182-185.
- Universidade Federal de Viçosa. SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas: Versão 7.1. Viçosa, MG: UFV, 1997. 150p.

VIRULÊNCIA DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae*
AOS ADULTOS DE *Conotrachelus psidii* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EM
DIFERENTES FORMULAÇÕES

RESUMO

Dentre as pragas que causam danos à cultura da goiaba, o *Conotrachelus psidii* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae), ocupa posição de destaque, sendo considerado o principal inseto-praga dos cultivos de goiaba do Estado do Rio de Janeiro, causando danos em até 90% dos frutos. Os métodos de controle atualmente empregados no controle desta praga consistem basicamente na utilização de produtos sintéticos altamente tóxicos, com largo efeito residual e pouco eficientes, pois, apenas reduzem a população de adultos, nunca atingindo as larvas que estão nos frutos ou no solo. Tendo em vista as dificuldades em controlar esta praga, foram realizados ensaios para verificar o potencial de uso de isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* no seu controle em diferentes formulações (Tween 80, Óleo de girassol e Confidor®). Foi determinada uma concentração sub letal para o Confidor® e de acordo com os resultados encontrados, a concentração 100 ppm ocasionou alterações comportamentais nos insetos testados debilitando-os e deste modo proporcionando uma maior susceptibilidade aos isolados avaliados. Os resultados obtidos mostram que o isolado LPP19 apresentou o melhor desempenho em todas as formulações em

relação aos demais. O isolado que causou a menor mortalidade foi o ESALQ 818 em Tween 80, atingindo apenas 26,6% dos insetos avaliados, em contrapartida foi o isolado que apresentou maior resposta nas formulações Óleo de girassol e em Confidor[®] passando a atingir 57,3% e 86,6%, respectivamente. Resultados semelhantes ocorreram com os outros isolados, sendo que na formulação á base de Confidor[®] todos os isolados apresentaram uma melhor performance com relação à Tween 80 e Óleo, causando mortalidades acima de 80% e TL₅₀ variando entre 5,3 e 10.3 dias, enquanto que em Tween 80 variou entre 9,5 e 25,1 dias. O isolado que produziu o maior número de conídios em cadáveres de *C. psidii* foi o LPP138 em todas as formulações, embora tenha apresentado conidiogênese significativamente menor em cadáveres submetidos à Confidor[®]. O isolado que apresentou menor conidiogênese foi o ESALQ 818 em todas as formulações quando comparado aos demais.

ABSTRACT

Of the insect pests which attack guava plants, the guava weevil, *Conotrachelus psidii* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae), is considered to be one of the most important pest species in the State of Rio de Janeiro, damaging up to 90% of the fruits. Control methods for this pest are based on the application of highly toxic insecticides, with unwanted residual effects and low efficiency, only slightly reducing the adult population but unable to control larvae within the fruit or soil. Due to these problems, this study was carried out to select fungal isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* as potential candidates for the biological control of adult *C. psidii*. Tests were carried out using three formulations (Tween 80, sunflower oil and Confidor[®]). A sub-lethal concentration of Confidor[®] was determined for use in formulations (100 ppm), which altered pest behavior in order to debilitate the insects in such a way as to increase susceptibility to fungal

infections. The results demonstrated that LPP19 was the most effective isolate in all three formulations. The least virulent isolate, ESALQ 818, when applied in Tween 80 caused only 26.6% mortality, however, this isolate showed significantly improved virulence when applied in either sunflower oil or Confidor[®], causing 57.3% and 88.6% mortality respectively. In fact, all of the isolates tested here had improved virulence when applied in oil or in Confidor[®] when compared to results in Tween, with host mortality greater than 80% and TL₅₀ of 5.3 - 10.3 days when compared to TL₅₀ in Tween of 9.5 - 25.1 days. The isolate that produced the highest number of conidia on the cadavers of *C. psidii* was LPP138, independent of the formulation used, although conidiogenesis was significantly reduced when fungi were applied in Confidor[®]. The isolate that produced the least conidia in all formulations was ESALQ 818.

3.2. INTRODUÇÃO

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma mirtácea originária da América Tropical de grande importância no comércio internacional e na economia doméstica de mais de 50 países tropicais e subtropicais (Icuma, 2000). O fruto é de grande aceitação pelo seu paladar agradável e pelo alto teor em vitamina C, vitamina A, tiamina, fósforo e ferro (Choudhury *et al.*, 2001; Castro e Sigrist, 1991). Nos últimos anos, provavelmente como consequência do vertiginoso crescimento do comércio internacional de frutas frescas, impulsionado pelas descobertas científicas das vantagens proporcionadas à saúde tem se formado um movimento a favor do fomento da fruticultura no Brasil (Choudhury *et al.*, 2001). Na região de Campos dos Goytacazes, considerada historicamente como canavieira vem apresentando declínio nesta atividade, começando a abrir espaço para novos investimentos na área agrícola principalmente para o desenvolvimento da fruticultura irrigada (Brandão, 2004).

Entre as frutas cultivadas destaca-se a goiaba pelo seu grande potencial de produção e de processamento industrial, além das crescentes oportunidades de exportação. De acordo com os dados do fornecidos pelo SEBRAE (2003), o Estado do Rio de Janeiro teve no ano de 1995 uma comercialização de 13.750 t de goiaba e somente foram produzidas no Estado 6350 t, das quais apenas 980 t corresponderam ao Norte Fluminense, cuja produtividade média regional de goiaba varia entre 20 e 40 t/ha/ano considerado, no entanto, muito aquém dos valores registrados no Estado de São Paulo, onde alcança rendimentos próximos a 80 t/ha (IBEGE, 2002). Isto, somado a uma reduzida superfície cultivada, faz com que a goiaba produzida na região seja insuficiente para abastecer a indústria local de doces, obrigando aos empresários locais a comprarem goiaba em outros Estados (Lopes Riscado-Doces Nolasco, *comunicação pessoal*). Além disso, a qualidade obtida para a venda de fruta *in natura* é com frequência insatisfatória. Portanto, pouca quantidade da goiaba produzida na região destina-se ao consumo de mesa, ficando a maior parte da produção como matéria-prima de pequenas fábricas artesanais de doces situadas no Norte e Noroeste do Estado (Brandão, 2004).

Entre os fatores limitantes para o cultivo da goiaba no Brasil, os mais relevantes são os problemas fitossanitários. Certas doenças e pragas afetam não somente o rendimento quantitativo e a qualidade da fruta, mas também, constituem um empecilho para o crescimento e consolidação das exportações brasileiras (Choudhury *et al.*, 2001, Icuma, 2000).

Dentre as pragas que causam danos a esta cultura se destaca-se o gorgulho-da-goiaba, *Conotrachelus psidii* Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae), considerado o principal inseto-praga dos cultivos de goiaba do Estado do Rio de Janeiro, onde chega a causar danos em até 90% dos frutos. De acordo com Sampaio (1975), este inseto vem sendo citado como praga de importância econômica no Brasil desde o início do século, segundo o mesmo autor, a ocorrência desta praga foi constatada nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Bahia e Pernambuco.



Figura 1- Adulto de *C. psidii*

Quando adulto este inseto possui coloração pardo escura, pode atingir cerca de 6 mm de comprimento por 4 mm de largura, aproximadamente (Fig. 1). Segundo estudos realizados por Bailez e colaboradores (2003), a longevidade do adulto de *C. psidii* pode atingir mais de sete meses. Na fase reprodutiva, as fêmeas fertilizadas fazem perfurações com o rostro nos frutos ainda verdes (Fig. 2). Cada fêmea pode depositar até quinze ovos por dia, estes são de coloração branca leitosa e medem entre 0,1 - 0,2 mm, sendo que é depositado apenas um ovo por cada perfuração. Este é coberto em seguida com os restos oriundos da perfuração do fruto e com suas fezes (Sobrinho et al., 1998; Bailez e Viana, 2001; Gallo et al., 2002).

A eclosão das larvas ocorre aproximadamente 4 dias após a postura quando penetram no fruto, onde se alimentam da polpa e depois do arilo das sementes (Figura 3 B). A fase larval dura em média 16 dias, quando atinge o quarto ínstar ao alcançar seu máximo desenvolvimento (cerca de 10 mm de comprimento), deixam o fruto e penetram no solo na fase de pré-pupa, podendo permanecer nesta fase por até 140 dias. A fase de pupa pode durar aproximadamente 16 dias, ao tornar-se adulto o inseto pode permanecer enterrado durante semanas e depois deste período abandona o solo e reinicia o ciclo, que é de um ano. Os frutos atacados amadurecem precocemente e caem. Internamente apresentam a polpa e as sementes enegrecidas na forma de uma podridão seca e externamente se observa uma depressão endurecida com um ponto negro em cada local de postura conforme mostra a Figura 3 A (Orlando, 1974; Sampaio, 1975; Bailez et al, 2003).



Figura 2- Fêmea de *C. psidii* realizando a postura no fruto de goiaba.



A – Dano externo

B – Dano interno

Figura 3 – Aspectos externos e internos do fruto atacado por *C. psidii*

Os métodos de controle atualmente empregados para o gorgulho-da-goiaba, consistem basicamente na utilização de produtos sintéticos altamente tóxicos, com largo efeito residual e pouco eficientes, pois não eliminam totalmente a praga, apenas reduzem a população de adultos, nunca atingindo as larvas que estão nos frutos ou no solo (Sampaio, 1977; Barelli & Galli, 1998). Outro método de controle é o cultural, com o ensacamento dos frutos quando estes são ainda bem pequenos (entre 3-4 cm), ou ainda a coleta e destruição dos frutos atacados, diminuindo assim a fonte de inóculo para o próximo ciclo.

O correto uso de inseticidas pode reduzir de 80 a 90% o número de frutos brocados por *C. psidii*. No entanto, a inexistência de técnicas de monitoramento

dificulta o controle eficaz da praga. Além disso, as aplicações freqüentes de inseticidas podem desenvolver biótipos resistentes e ocasionam a morte de inimigos naturais. Outras desvantagens do uso de inseticidas estão relacionadas à poluição ambiental, intoxicações ocupacionais e de consumo, comprometendo a comercialização de frutas *in natura* e dos produtos industrializados.

O emprego de métodos de controle químico isoladamente tem se tornado inviável principalmente em culturas cujos frutos se destinam ao consumo *in natura* como é o caso da goiaba, cada vez mais fiscalizados quanto aos níveis de resíduos ou por não existirem produtos químicos registrados no Sistema de Informações de Agrotóxicos para o controle do gorgulho-da-goiaba (Sampaio, 1977; Barelli & Galli, 1998). Sendo assim, o controle biológico de pragas tem sido implementado como alternativa ao uso de produtos químicos de amplo espectro na agricultura e na fruticultura brasileira. Segundo Driesche & Bellows (1996), com a comprovação dos efeitos maléficos dos produtos químicos sobre os seres humanos, a vida silvestre e ao meio ambiente em geral o controle biológico volta a ser uma alternativa importante e bastante viável. Os métodos biológicos de controle fitossanitário vêm sendo gradativamente introduzidos juntamente com a adoção do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

O controle microbiano, pelo seu baixo custo de obtenção e possível produção local do agente, seria uma forma de minimizar custos, ampliar áreas tratadas, aumentando-se, desta forma, o benefício social deste tipo de controle. Inclui-se ainda a possibilidade de utilizações conjuntas com produtos químicos, contribuindo na redução do impacto ambiental. Pode-se dizer que existe o potencial de uso de fungo no controle de *Conotrachelus psidii*, pois este inseto passa uma parte do seu ciclo de vida no solo, sendo assim são bons alvos de controle microbiano, desde que o solo propicie um ambiente favorável à sobrevivência do fungo e à infecção do hospedeiro.

Os programas de controle biológico de curculionídeos no Brasil, de modo geral, estão utilizando uma estratégia de iscas impregnadas com fungos entomopatogênicos que tem demonstrado resultados satisfatórios, como por exemplo, no controle do gorgulho da cana-de-açúcar, (*Sphenophorus levis*), broca

da bananeira (*Cosmopolites sordidus*), o bicudo-do-coqueiro (*Rynchophorus palmarum*) e a broca-do-cacaueiro (*Conotrachelus humeripictus*). As duas espécies de fungos entomopatogênicos mais empregados em controle biológico no Brasil, são *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, devido ao alto nível de virulência e à fácil produção em massa (Alves, 1998). Essas espécies de fungos são patogênicas a uma vasta gama de insetos praga, entre eles, os curculionídeos, portanto, imprescindíveis no controle dessas pragas importantes.

Considerando a importância de desenvolver técnicas de controle naturais para esta praga os objetivos deste trabalho são:

- a) Selecionar isolados promissores no controle de adultos de *C. psidii*;
- b) Avaliar formulação fúngica à base de óleo de girassol e verificar seu desempenho sobre adultos de *C. psidii* em laboratório;
- c) Avaliar os efeitos da associação de fungos entomopatogênicos e Confidor® na mortalidade de *C. psidii* em laboratório.

3.2.1. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF). Os insetos foram obtidos do pomar comercial situado em São Francisco de Itabapoana / RJ. A coleta foi realizada com o auxílio de guarda-chuva entomológico (Figura 4). Os insetos foram alimentados com goiaba fresca e mantidos em caixas Gerbox (2,5 x 5,0cm), forrada com papel de filtro estéril umedecido com água destilada em câmara BOD a 25°C, 70 ± 10 % UR e fotofase de 12h por 48h antes de serem submetidos aos tratamentos.



Figura 4 – Coleta de *C. psidii* por meio de batida em guarada-chuva entomológico em pomar de goiaba no município de São Francisco do Itabapoana/ (RJ).

3.2.1.1. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos virulentos a adultos de *C. psidii*. em formulação com Óleo de girassol e Confidor®

Foram testados isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em adultos de *C. psidii*, por meio de pulverização de suspensão fúngica à base de Tween 80 (0,05%), óleo de girassol e Confidor® (100ppm), na concentração 1×10^9 conídeos ml^{-1} . Foram avaliados 7 isolados inicialmente, sendo os tratamentos assim dispostos, T1 - fungo e Tween 80 0.05% (formulação controle); T2- fungo e óleo de girassol 8% ; T3 - Tween 0.05% e T4 - Óleo de girassol 8%, 15 insetos por tratamento em três repetições. Após a pulverização os insetos foram mantidos em caixas gerbox forradas com papel de filtro e alimentados com goiaba durante o período experimental de 20 dias. Os insetos mortos foram submetidos a uma desinfecção superficial em álcool 70% por 30 segundos para eliminar contaminantes externos e em seguida enxaguados em água estéril por 30 segundos e posteriormente transferidos para placas de Petri cobertas com papel de filtro umedecido com água estéril e acondicionadas em BOD a uma temperatura de 25°C , 70 ± 10 % UR e fotofase de 12h.

As avaliações foram realizadas a cada 24 horas durante o período experimental (20 dias), os resultados foram submetidos à análise de Probit utilizando o programa SPSS10, para se determinar a TL_{50} correspondente a cada isolado e as médias de mortalidade comparadas por meio do teste Tukey ($P=0,05$).

3.2.1.2. Efeito de diferentes concentrações de confidor sobre *C. psidii*.

Diferentes concentrações de Confidor® foram pulverizadas sobre adultos *C. psidii* com o auxílio da Torre de Potter no laboratório. Os tratamentos foram: A - 1000ppm; B - 500ppm; C - 100 ppm e D - 50 ppm e Controle água destilada, sendo 1ml por tratamento em 3 repetições. Os insetos foram acondicionados em caixas gerbox forradas com papel de filtro estéril e alimentados com goiaba fresca durante o período experimental de 5 dias, as avaliações foram feitas a cada 24 horas, foi anotado o número de insetos mortos, moribundos e normais para se determinar a concentração sub letal deste inseticida ao *C. psidii*. A concentração subletal definida como concentração que não causa morte, mas que provoca um certo nível de estresse nos insetos a ponto de torná-los mais suscetíveis aos fungos utilizados.

3.2.1.3. Conidiogênese em cadáveres de *C. psidii*

Os insetos mortos foram incubados em câmara BOD a uma temperatura de 25°C, 70 ± 10 % UR e fotofase de 12h, durante cinco dias para a verificação conidiogênese. Foram coletados ao acaso quinze insetos por tratamento e realizada a contagem de conídios de cada um individualmente. Cada inseto foi imerso em um tubo Eppendorf contendo 1 ml de Tween 80 (0,05%), em seguida foi realizada agitação por meio de vortex e avaliada a concentração de conídios em câmara de Neubauer. Os resultados foram comparados por meio do teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os isolados de fungos entomopatogênicos utilizados foram obtidos da coleção do LEF / UENF (vide apêndice).

3.2.2. RESULTADOS

3.2.2.1. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos virulentos a *C. psidii*.

Os resultados (tabela 1) indicam que os isolados testados mostraram-se virulentos aos insetos nas diferentes formulações, com mortalidade variando entre 26,6% para ESALQ818 e 73,3% para LPP91 na formulação à base de Tween 80. Estes mesmos isolados demonstraram melhor desempenho na formulação à base de Óleo de girassol, passando a apresentar 57,3% e 95,3% respectivamente. Quando formulados em Confidor® (100 ppm) apresentaram uma mortalidade mais expressiva, 100% para LPP91 e 86,6% para ESALQ 818. Para todos os isolados pode ser observada esta tendência crescente em termos de mortalidade entre as formulações avaliadas, sendo assim, na formulação Tween 80 todos os isolados apresentaram valores de mortalidade menores que em Óleo de girassol, alcançando uma mortalidade mais elevada na formulação Confidor® (100 ppm).

Tabela 1. Virulência de isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* aos adultos de *C. psidii* (n=15) em diferentes formulações.

ISOLADOS	TWEEN 80		ÓLEO DE GIRASSOL		CONFIDOR®	
	MORT. MÉDIA	MORT. (%)	MORT. MÉDIA	MORT. (%)	MORT. MÉDIA	MORT. (%)
LPP138	9,3b	62	13,3ab	88,7	15a	100
LPP91	11,0a	73,3	10,0b	66,7	15a	100
CG24	10,0b	66,7	10,6ab	70,7	14,6a	93,3
LPP110	7,3b	48,7	11,6a	77,3	15a	100
LPP114	9,6b	64	14,3a	95,3	15a	100
LPP19	11,0a	73,3	13,6a	90,7	15a	100
ESALQ818	4,0c	26,7	8,6b	57,3	13a	86,6

Médias de mortalidade seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P < 0,05%).

Os isolados que apresentaram valores de Tempo Letal (TL₅₀) mais elevado (Tab. 4) foram LPP110 com 17,0 dias e ESALQ 818 com 25,1 dias em Tween80.

Entretanto, estes isolados foram favorecidos quando nas formulações à base de Óleo com TL₅₀ de 13 dias e 14 dias e em Confidor® 8,9 dias e 10,3, respectivamente.

Tabela 2. Tempo Letal (TL₅₀) de adultos de *C. psidii* sob isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* (1x10⁸ conídios ml⁻¹) em três formulações (n=15), três repetições.

ISOLADOS	TWEEN 80 Dias [LC]	ÓLEO DE GIRASSOL Dias [LC]	CONFIDOR® Dias [LC]
LPP138	12,7 [11,7 - 14,0]	9,6 [9,1 - 10,6]	6,7 [6,1 - 7,2]
LPP91	12,4 [12,1 - 14,2]	16,0 [15,4 - 19,5]	9,3 [8,1 - 9,7]
CG24	12,3 [10,2 - 14,5]	12,4 [10,1 - 14,5]	7,3 [5,5 - 8,7]
LPP110	17,0 [15,4 - 19,5]	13,1 [12,1 - 14,2]	8,9 [8,1 - 9,7]
LPP114	9,5 [8,3 - 10,5]	8,5 [7,2 - 9,6]	5,3 [4,7 - 5,6]
LPP19	9,7 [7,4 - 11,6]	8,3 [5,9 - 10,3]	5,7 [5,3 - 6,1]
ESALQ818	25,1 [20,6 - 36,8]	14,2 [12,9 - 15,8]	10,3 [9,0 - 11,5]

TL₅₀ – dias ; LC – Limites de Confiança

Os isolados não demonstraram diferenças entre si quando em formulação com Confidor® (Tab. 3). Em Óleo de girassol e em Tween80, porém, o isolado ESALQ818 se mostrou menos virulento a *C. psidii* que os demais em todas as formulações estudadas, sendo que os isolados mais virulentos foram LPP91 e LPP 19.

Tabela 3. Mortalidade média de *C. psidii* causada por isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* nas diferentes formulações.

ISOLADOS	FORMULAÇÕES		
	TWEEN 80 (±DP)	ÓLEO DE GIR. (±DP)	CONFIDOR®(±DP)
LPP138	9,3ABb ± 1.52	13,3ABab ± 2.88	15Aa ± 0
LPP91	11Aab ± 1	10ABb ± 7	15Aa ± 0
CG24	10Ab ± 2	10,6ABab ± 3.51	14Aa ± 0.57
LPP110	7,3ABb ± 2.52	11,6ABa ± 1.53	15Aa ± 0
LPP114	9,6Ab ± 1.53	14,3Aa ± 0.57	15Aa ± 0
LPP19	11Aa ± 1	13,6ABa ± 0.57	15Aa ± 0
ESALQ 818	4Bc± 2.64	8,6Bb ± 1.53	13Aa ± 2

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05\%$)

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05\%$).

3.2.2.2. Efeito de diferentes concentrações de Confidor[®] sobre *C. Psidii*.

As Figuras 5, 6 e 7 mostram o efeito das quatro concentrações de Confidor[®] sobre *C. psidii* quanto à mortalidade, alterações comportamentais, tais como movimentação, alimentação, entre outros, e o não efeito caracterizado por atividade comportamental semelhante aos insetos do tratamento controle.

Quanto à mortalidade a concentração 1000 ppm, foi a mais efetiva, seguida pela dose 500 ppm, as concentrações 100 ppm e 50 ppm não apresentaram mortalidade, assim como o tratamento controle (água destilada), havendo uma diferença significativa entre as concentrações (Quadros 1, 2 e 3, vide apêndice).

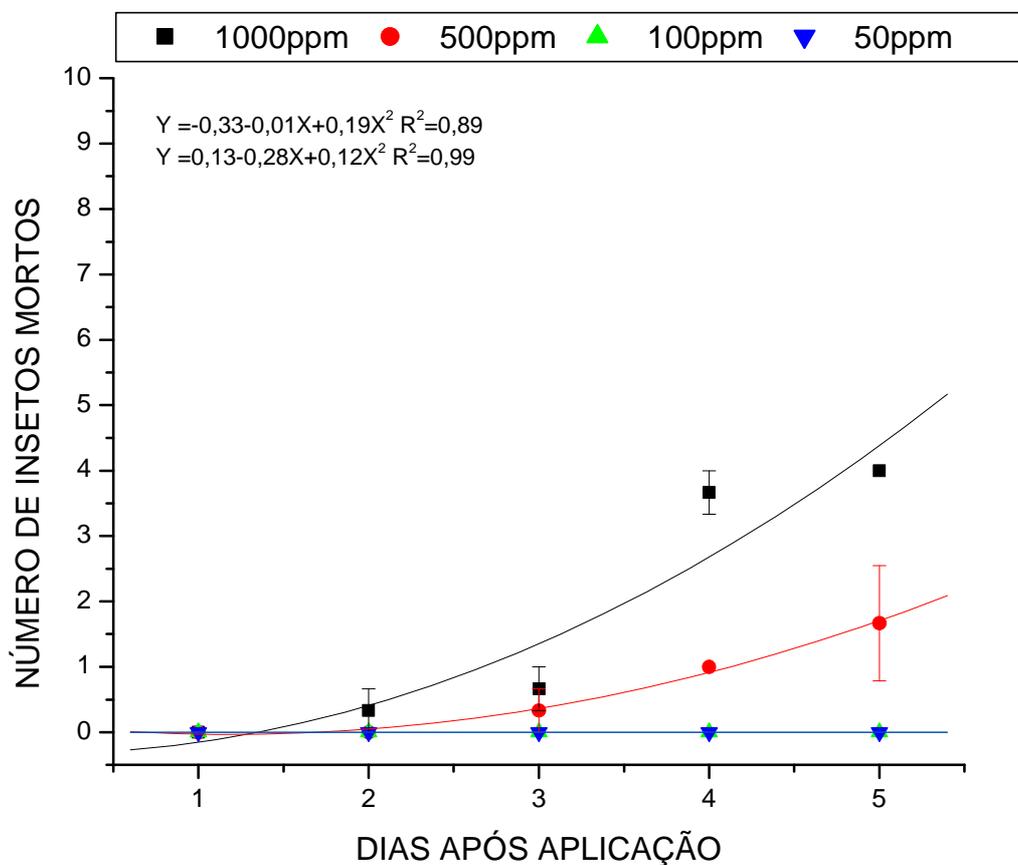


Figura 5 – Mortalidade média de *C. psidii* (n=10) em diferentes concentrações de Confidor® num período experimental de 5 dias.

Ao verificar o comportamento dos insetos nos tratamentos 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm e 50 ppm (Figura 2) fica claro que inicialmente todas as concentrações promoveram alterações quando comparados ao tratamento controle, ou seja, todas apresentavam insetos aparentemente moribundos (não saíam do lugar movendo-se muito pouco e não se alimentavam). Nas concentrações 100 ppm e 50 ppm este quadro não evoluiu para morte dos mesmos. Nestas doses após o quarto dia os insetos se recuperavam voltando ao seu estado normal (figura 6).

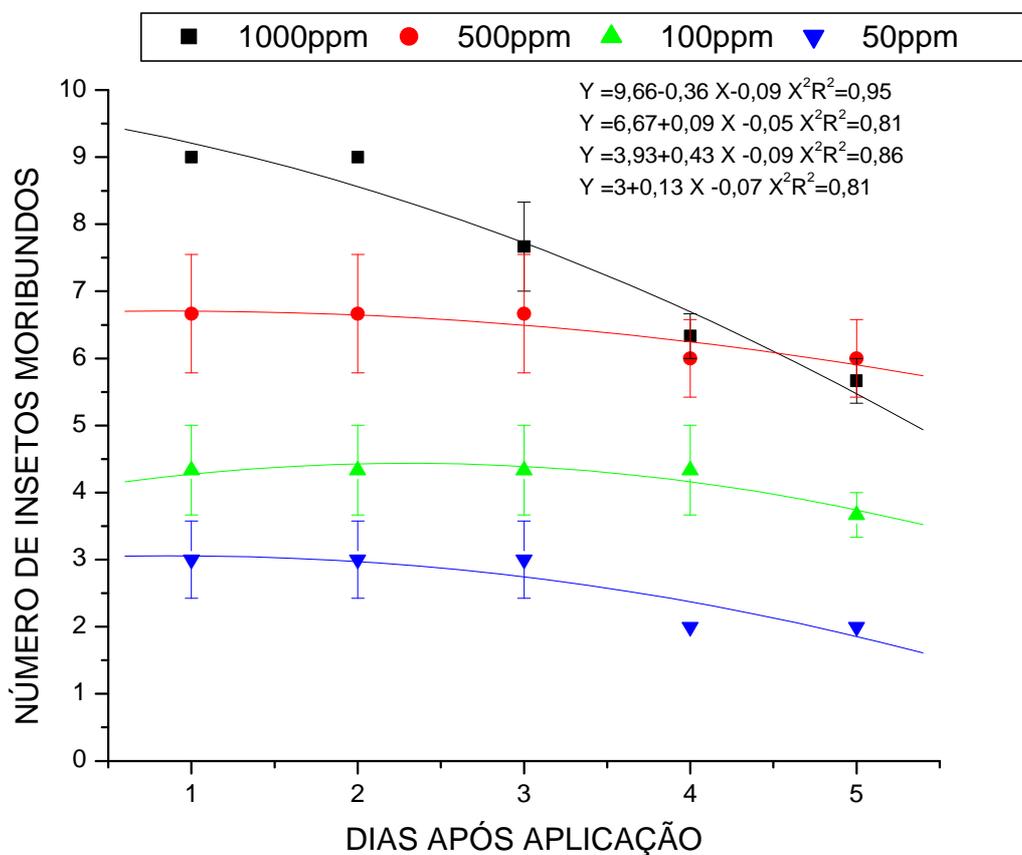


Figura 6 - Efeito de diferentes concentrações de Confidor[®] sobre o comportamento de *C. psidii* (n=10) num período experimental de 5 dias.

Conforme pode ser observado na figura 7, as curvas que representam as concentrações 100 ppm e 50 ppm mostram uma tendência crescente de insetos voltando ao normal a partir do quarto dia, permanecendo por três dias em estado de estresse não se alimentando e movendo com dificuldade.

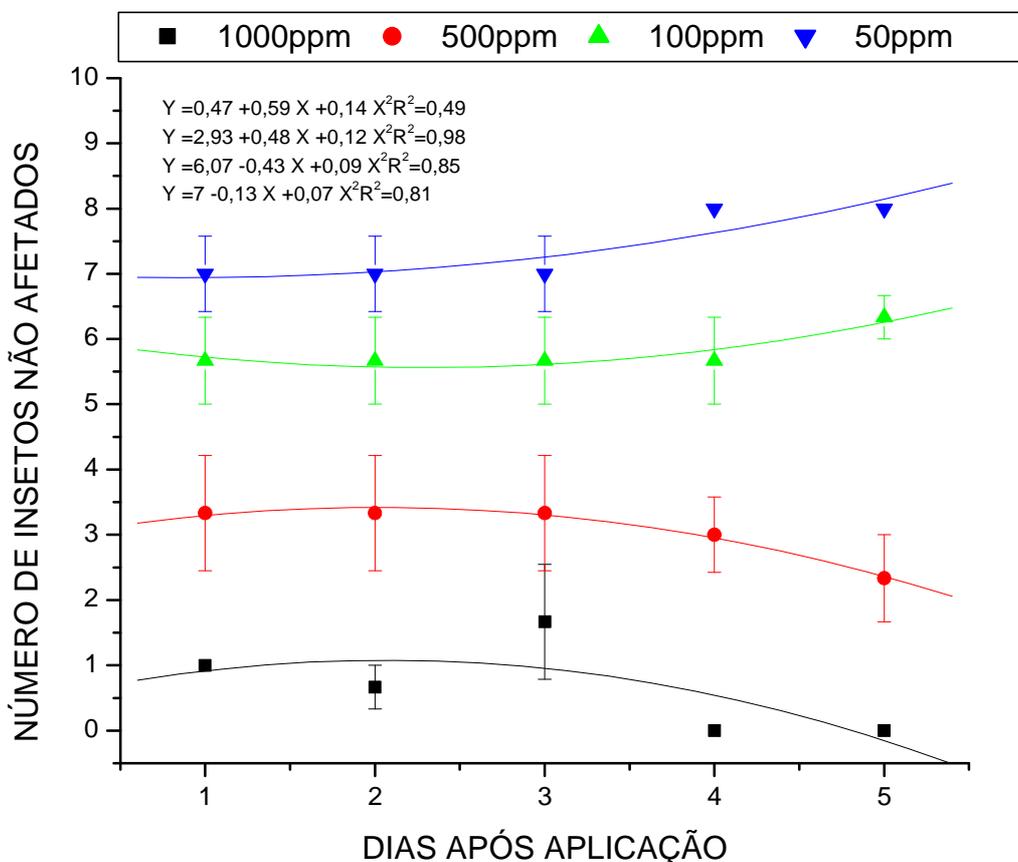


Figura 7 - Insetos não afetados pelas diferentes concentrações Confidor® (n= 10) num período experimental de 5 dias.

3.2.2.3. Conidiogênese em cadáveres de *c. Psidii*

A quantidade de conídios produzidos nos cadáveres de *C.psidii* mostrou diferenças entre isolados nas formulações testadas, sendo LPP138, CG24 e LPP110 apresentaram produção de conídios significativamente menor em formulação à base de Confidor® quando comparado com a formulação controle à base de Tween 80. Os demais isolados não apresentaram diferença na concentração de conídios entre as formulações (Tabela 4, comparações nas linhas).

Os isolados demonstraram concentrações diferentes de conídios entre si nas formulações (Tabela 4, comparações nas colunas), sendo que o isolado LPP138 (Figura 8) apresentou a maior concentração de conídios em todas as formulações, diferindo apenas de CG24 e LPP19 em Confidor®. O isolado que demonstrou a menor concentração de conídios foi ESALQ818 em Tween (0.6×10^8 conídios ml^{-1}).



Figura 8 - *C. psidii* coberto por conídios de *B. bassiana*

Tabela 4. Número médio de conídios produzidos sobre cadáveres de *C. psidii* inoculados com isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em três formulações.

Formulação/Isolado	Conídios ml $-1 \times 10^8 \pm$ SD						
	LPP138	CG24	LPP19	LPP91	LPP114	LPP110	ESALQ818
TWEEN 80	4,6A ¹ a ² \pm 1.5	3,6A b \pm 0.9	2,1A c \pm 1.6	1,7Acd \pm 0.5	0,9Ade \pm 0.4	0,8A e \pm 0.3	0,6A e \pm 0.3
Oleo	4,8A a \pm 1.2	2,4 Bb \pm 0.6	2,3Ab \pm 1.8	1,9A bc \pm 1.8	0,9A cd \pm 0.3	1,1B cd \pm 0.5	0,9A d \pm 0.5
CONFIDOR®	3,1B a \pm 1.5	2,9B a \pm 0.6	2,4A ab \pm 1.3	1,8A bc \pm 1.3	1,8A bc \pm 0.4	1,2B c \pm 0.6	1,1A c \pm 0.5

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05%)

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P< 0,05%)

3.2.3. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos revelam que todos os isolados avaliados mostraram-se virulentos à adultos de *C. psidii*, quando aplicados associados com Tween 80 0.05%, ficando explicito, porém, que os isolados LPP91 (*M. anisopliae*) e LPP19 (*B. bassiana*) se destacaram dos demais.

Ao avaliar a formulação com Óleo de girassol nota-se um aumento na mortalidade de *C.psidii* em todos os isolados sendo que todos responderam bem a formulação com óleo de girassol aumentado à mortalidade e diminuindo o TL₅₀. Conforme descrito por Prior *et al.* (1988) e Batta (2003), os quais sugerem que o uso de óleos como componente de formulações fúngicas tem demonstrado aumento na eficiência deste organismo facilitando a aderência ao tegumento do inseto mostrando-se mais viável que as formulações convencionais à base de água.

Além das vantagens que este componente proporciona ao fungo este também é compatível à aplicação em ultrabaixo volume (UBV), tornando sua utilização mais prática e econômica, (Bateman, 1997 e Thomas *et al.*, 1996). Estas propriedades atribuídas a formulações fúngicas à base de óleos vêm sendo testadas com sucesso pelo programa LUBILOSA, substituindo os pesticidas químicos no controle de gafanhotos (Lomer *et al.*, 1999).

No estudo atual, todos os isolados renderam uma mortalidade maior em Confidor[®] do que em Tween 80 e em Óleo, demonstrando efeitos sinérgicos

entre o fungo e o inseticida, conforme verificado por Feng *et al.* (2004) no controle de *Empoasca vitis*.

De acordo com os resultados de mortalidade, o isolado ESALQ818 (*M. anisopliae*), foi o mais favorecido pela adoção das formulações à base de Óleo e Confidor[®], pois aumentou sua média de 4 insetos mortos em Tween 80 para 8.6 em Óleo de girassol. Um resultado semelhante foi encontrado por Maranga *et al.* (2005), o qual obteve uma resposta satisfatória tanto para *B. bassiana* quanto para *M. anisopliae* no controle de carrapato, sendo que numa mesma concentração de conídios (1×10^9 conídios ml^{-1}), alcançou uma mortalidade de 92% com a formulação à base de óleo comparado com uma mortalidade de 49% com a formulação à base de água.

Os resultados obtidos com a associação do inseticida Confidor[®] com os isolados de fungos foram bastante relevantes, demonstrando que estas podem ser alternativas viáveis para melhorar o desempenho destes isolados no controle de *C. psidii*, conforme verificado por Hiromor and Nishigki (2001), ao inocular larvas de *Anomala cuprea* com *M. anisopliae* após a aplicação de Fenitotion, houve um acréscimo na mortalidade de 56.7%, com relação ao mortalidade alcançada com a aplicação de Fenitotion sozinho (21.1% de mortalidade), estes autores atribuem este aumento na mortalidade pela inibição do sistema de defesa humoral das larvas ocasionado pela aplicação combinada do fungo com o inseticida .

Ao observar o efeito das concentrações de Confidor[®] sobre o comportamento dos insetos foi possível constatar que nos três primeiros dias houveram alterações demonstrando que os insetos encontravam-se aparentemente moribundos em situação de estresse bastante acentuado, cessando, inclusive, a alimentação dos mesmos, paralelamente a isto foi notado que nos tratamentos em que se utilizou formulação fúngica à base de Confidor[®] houve um incremento na mortalidade de até 60% para o isolado

ESALQ818, o qual apresentava mortalidade de 26,6% em Tween, passando a apresentar 86,6 % em Confidor[®] e em menos tempo, uma vez que este isolado em Tween80 apresentava um TL₅₀ de 25,1 dias, enquanto que em Confidor[®] reduziu este TL₅₀ para 10,3 dias. Segundo Quintela *et al.* (1998), ao testarem isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* com Imidaclopride sobre *Diaprepes abbreviatus*, verificaram que esta associação afetou o comportamento do inseto. Os autores acreditam que este efeito dificulta a remoção dos conídios da superfície da cutícula do inseto.

Resultados semelhantes foram obtidos por Jaramillo *et al.* (2005) no controle de percevejo da família Cydinidae, no qual observou que as interações entre o fungo *M. anisopliae* e o inseticida Imidacloprid foram predominantemente aditivas, mesmo em concentrações baixas, elevando a mortalidade do inseto de 39,5% para 88,1% .

3.2.4. CONCLUSÕES

Todos os isolados mostraram-se virulentos a *C. psidii*, porém com algumas diferenças, devido a variações fisiológicas e genéticas próprias entre isolados.

A formulação à base de Óleo de girassol melhorou o desempenho dos isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, aumentando a mortalidade e reduzindo o TL₅₀ em relação a Tween 80.

A associação entre *B. bassiana* e *M. anisopliae* e o Confidor[®] demonstrou efeitos sinérgico conferindo aos isolados uma maior

eficiência, provavelmente devido à ação estressante deste inseticida sobre os insetos.

O desempenho dos fungos entomopatogênicos nas formulações à base de Óleo de girassol e à base de Confidor® devem ser testadas no campo.

3.2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S. B. (1998) Fungos entomopatogênicos. In ALVES, S.B. ed. Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba: FEALQ, p. 289-369.
- Bailez, O. E., Viana, A. M. B., (2001) Comportamento reprodutivo do gorgulho-da-goiaba *Conotrachelus psidii* Marshal (Coleoptera: Curculionidae). In XIX Congresso Brasileiro de Etologia, Juiz de Fora, Brasil.
- Bailez, O. E., Viana, A. M. B., Lima, J. O. G. (2003) Life-history of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae), under laboratory conditions. Neotrop. Entomol.,32: 203-207.
- Barelli N. L. & Galli, J.C. (1998). Avaliação de danos causados por *Anastrepha* spp. (Dip. Tephritidae) e por *Conotrachelus psidii* (Marshall, 1922) (Coleoptera: Curculionidae) em frutas de goiaba da cultivar 'paluma'. XVII Congresso Brasileiro de Entomologia, pp. 12. Rio de Janeiro
- Bateman R P. (1997). Methods of application of microbial pesticide formulations for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171: 67-79.

- Batta, Y.A.(2003). Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphmycetes).Crop Protection 22 p.415-422.
- Brandão, A. S. P. (2004) O pólo de fruticultura irrigado no Norte e Noroeste Fluminense. Revista de Política Agrícola ano XIII n 2.
- Castro, J., Sigrist, J. (1991) Matéria prima. In: Goiaba. ITAL- Campinas. p: 121-139.
- Choudbyry, M. M. (2001). Agronegócio da goiaba. In: Goiaba pós-colheita. Petrolina, PE.
- Driesche V.R.G. & Bellows Jr.T.S. (1996). Biological Control. New York. Chapman & Hall. 539 p.
- Feng, M. G., Pu, X. Y., Ying, S.H., Wang, Y. G. (2004). Field trials of an oil-based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false-eye leafhopper *Empoasca vitis* on tea in southern China. Crop Protection 23:489-496.
- Gallo, D., Nakano, O. , Silveira Neto, S., Carvalho, R. P. L. ; Batista, G. C. de, Berti Filho, E., Parra, J.R.P., Zucchi, R. A., Alves, S. B., Vendramim, J.D. (2002) Pragas das frutíferas-bananeira. In: Gallo, D. , Nakano, O. , Silveira Neto, S., Carvalho, R. P. L. , Batista, G. C. de, Berti Filho, E., Parra, J.R.P., Zucchi, R.
- Hirromori, H. and Nishigaki, J. (2001). Factor analisys of synergistic effect between the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and synthetic insecticides. Appl. Entomol. Zool. 36: 321-236.
- IBGE. Censo referente ao ano de 2002. Instituto Brasileiro de Geografia e Economia.
- Icuma, I.N. In: Manica, In; Icuma, I.n Junqueira, N.T.V., Salvador, J.O., Moreira, A. Malavolta(2000) E., ed. Fruticultura Tropical 6 Goiaba.Porto Alegre: Cinco Continentes. 374p.

- Jaramillo, J., Borgemeister C., Ebssa, L., Gaigl, A., Tobón, R., Zimmermann G. (2005). Effects of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Foerschner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control* 34: 12-20
- Lomer C J, Bateman R P, Dent D, De Groote H, Douro-Kpindou O-K, Kooyman C, Langewald J, Ouambama Z, Peveling R, Thomas M. (1999). Development of strategies for the incorporation of biological pesticides into the integrated management of locusts and grasshoppers. *Agricultural and Forest Entomology* 1: 71-88.
- Maranga, R. O., Kaaya, G. P., Mueke, M. J., Hassanali, A. (2005). Effects of combining the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the mortality of the tick *Amblyomma variegatum* (Ixodidae) in relation to seasonal changes. *Mycopathologia* 159: 527-532.
- Orlando, A., Sampaio, A.S., Carvalho, A., Sacaraari, H. J., Arruda, H.V. (1974) "Notas sobre o gorgulho das goiabas *Conotrachelus psidii*, Marshal, 1922 (Coleóptera: Curculionidae), e experimentos de combate. *O Biológico*, (Brasil), São Paulo, 40:251-269".
- Prior C, Jollands P, Le Patourel G. (1998). Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 52: 66-72.
- Quintela, E. D. and McCoy, C. W. (1998). Conidial attachment of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the larval cuticle of *Diapreps abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) treated with imidacloprid. *Journal of Invert. Pathol.* 72: 220-230

- Sampaio, A. 1975. Gorgulho-da-goiaba tem agora um moderno controle. *Agricultura e Pecuária* 619: 40-41.
- SEBRAE-RJ, (2003) Informe do Pólo de Fruticultura do Norte/Noroeste do Estado do Rio de Janeiro. Publicação Mensal ano 3, nº 7, Setembro.
- Sobrinho, R.B. Cardoso, J.E., Freire, F.C.O. (1998) Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial. Serviço de produção de informações- Embrapa-SPI, Brasília-DF; Fortaleza: Embrapa-CNPAT,209p.
- Thomas, M.B., Langewald, J. and Wood, S. N. (1996) Evaluating the effects of a biopesticide on populations of the variegated grasshopper, *Zonocerus variegates*. *J Appl.Ecol.*33, 1509-1600.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Ocorreram diferenças de virulência entre isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, tanto para *Corythaica* sp quanto para *C. psidii*, provavelmente, devido aos níveis de especificidade em relação ao hospedeiro.

A formulação à base de Óleo de girassol melhorou o desempenho dos isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, aumentando a mortalidade e diminuindo o TL₅₀ em relação a Tween 80 para ambas as pragas estudadas.

Os isolados LPP114 e LPP91 não tiveram seu crescimento afetado pelo Filtue[®], portanto este pode ser utilizado em formulações de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sem comprometer a germinação dos esporos e seu crescimento vegetativo.

Entre os isolados testados o LPP 91 demonstrou maior virulência a *Corythaica* sp. nas três formulações, havendo uma pequena variação de TL₅₀, entre elas de 5.15 em Tween 0,05% , 5,21 em Filtue[®] 10% e 5.5 em Óleo de girassol 8%.

O isolado LPP114 foi o mais estável nas formulações avaliadas e uma melhor produção de conídios no substrato utilizado, razão pela qual este isolado foi selecionado para os ensaios de campo.

A diminuição da população de *Corythaica* sp. nas plantas submetidas aos tratamentos Filtue[®] e Filtue[®] + LPP114 podem ter ocorrido devido ao efeito de repelência conferido ao kaolin conforme verificados por Glenn e Puterka em outras pragas.

A associação entre *B. bassiana* e *M. anisopliae* e o Confidor® demonstrou efeitos sinérgicos, conferindo aos isolados uma maior eficiência, na mortalidade de *C. psidii*, provavelmente devido à ação estressante deste inseticida sobre os insetos a ele submetidos, fragilizando assim seu sistema imune.

O desempenho das formulações estudadas visando o controle de *C. psidii* deve ser testado no campo para verificar seu desempenho em condições adversas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaro, A. (1979). O mercado interno de frutas in natura . *In*: Congresso Brasileiro de Fruticultura, Pelotas, Brasil, p. 1172 – 1186.
- Alves, S. B. (1998) Fungos entomopatogênicos. In ALVES, S.B. ed. Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba: FEALQ, p. 289-369.
- Badilla F.F. & Alves, S.B. (1991) Controle do gorgulho da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* com *Beauveria* spp. em condições de laboratório e campo. *An. Soc. Entomol. Brasil* 20: 251-253.
- Bailez, O. E., Viana, A. M. B., Lima, J. O. G. Moreira, D.D.O.(2003) Life-history of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae), under laboratory conditions. *Neotrop. Entomol.* 32: 203-207.
- Batta, Y.A. (2003) Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metahizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphmycetes). *Crop Protection* 22:415-422.
- Bateman R P. (1997). Methods of application of microbial pesticide formulations for the control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171: 67-79.
- Batista Filho, A., Sato, M.E., Leite, L.G., Raga, A., Prada, W.A. (1991) Utilização de *Beuaveria bassiana* (Bals) Vuill. No controle do moleque da bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleóptera: Curculionidae). *Revista brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas*, 13:35-40.
- Barelli NL & JC Galli. (1998) Avaliação de danos causados por *Anastrepha* spp. (Dip. Tephritidae) e por *Conotrachelus psidii* (Marshall, 1922) (Coleoptera:

- Curculionidae) em frutas de goiaba da cultivar 'paluma'. XVII Congresso Brasileiro de Entomologia, pp. 12. Rio de Janeiro
- Cochran, W. G. (1955) Técnicas de amostragem. Rio de Janeiro. Fundo de Cultura, 555p.
- Driesche VRG & TS Bellows Jr. (1996) Biological Control. New York. Chapman & Hall. 539 p.
- Feng, M. G., Pu, X. Y., Ying, S.H., Wang, Y. G. (2004) Field trials of an oil-based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false-eye leafhopper *Empoasca vitis* on tea in southern China. *Crop Protection* 23:489-496.
- Ferron, P. (1978) Biological control of insect pestes by entomogenous fungi. *Annu.Rev. Entomi.* 23, 409-442.
- Ferron, P., Farques, J., Riba, G. (1991) Fungi as microbial insecticides against pests. In: Arora, D. k., Ajella, L., Mukerji, K.G. (eds). *Handbook of applied mycology Volume 2: Humans, animals and insects*. Marcel Dekker, New York, p. 665-705.
- Gallo, D., Nakano, O. , Silveira Neto, S., Carvalho, R. P. L. ; Batista, G. C. de, Berti Filho, E., Parra, J.R.P., Zucchi, R. A., Alves, S. B., Vendramim, J.D. (2002) Pragas das frutíferas-bananeira. In: Gallo, D. , Nakano, O. , Silveira Neto, S., Carvalho, R. P. L. , Batista, G. C. de, Berti Filho, E., Parra, J.R.P., Zucchi, R. A., Alves, S. B., Vendramim, J.D., ed. *Manual de Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 593-599.
- Garcia, M. E., Berkett, L. P. AND Bradshaw, T. (2002) Does surround® have non-target impacts on New England Orchards. www.massfruitgrowers.org/neftmtg/proc. (Acesso em março 2005)
- Glare, T.R., Milner, R.J. (1991) Ecology of entomopathogenic fungi. In: Arora, D.K., Ajello, L., Mukerji, K.G. (eds) *Handbook of applied mycology Volume 2: Humans, animals and insects*. Marcel Dekker, New York, p.237-256
- Glenn, D. M., Putreka, G. J., Vanderzwet, T., Byers, R. E. and Feldhake, C. (1999) Hydrophobic particle film: A new paradigm for suppression of arthropod pest and plant diseases. *Journal of Economic Entomology* 92:759-771.

- Glenn, D. M. and Puterka, G. J., Drake, S. R., Unruh, T. R. and Knight, A. L., Baherle, P. and Prado, E., Baugher, T.A. (2001) Particle film application influences apple leaf physiology, fruit yield, and fruit quality. *Journal of American Horticulture: Sci.* 126: 175-181.
- Glenn, D. M., Prado, E., Erez, A., McFerson, J., Puterka, G. J. (2002) A reflective processed-kaolin particle film affects fruit temperature, radiation reflection, and solar injury in apple. *Journal of American Horticulture: Sci* 127: 188-193.
- Habib, M. E. M., Alves, S. B., Alves, L. F. A. (1998) Padronização de inseticidas microbianos. In: *Controle microbiano de insetos 2.ed.* Piracicaba:FEALQ, p.798-790.
- Hickel, E.R.; Ducroquet, J.P.H. (1993) Pragas da Goiabeira Serrana (*Feijoa sellowiana*): Il-percevejo-de-renda (*Ulontingis nitor*) (Hemiptera: Tingidae). *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*, v.22, n.1, p. 169-173.
- Hiromori, H. and Nishigaki, J. (2001) Factor analysis of synergistic effect between the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and synthetic insecticides. *Appl. Entomol. Zool.* 36: 321-236
- Icuma, I.N. In: Manica, In; Icuma, I.n Junqueira, N.T.V., Salvador, J.O., Moreira, A. Malavolta, (2000) E., ed. *Fruticultura Tropical 6 Goiaba*. Porto Alegre: Cinco Continentes. 374p.
- Jaramillo, J., Borgemeister C., Ebssa, L., Gaigl, A., Tobón, R., Zimmermann G. (2005) Effects of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Foerschner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control* 34: 12-20
- Leathers, T.D., Subharsh, C.G., Alexander, N.J. (1993) *Mycopesticides: status, challenges and potencial.* J. Indust. Microbiol. USA. Macmillan Press Ltda, 12: 69-75.
- Lima, A. F., Racca Filho, F. (1991) Ocorrência de *Ulontigis brasiliensis* (Drake, 1922) no Estado do Rio de Janeiro (Hemiptera: Tingidae). In: *Congresso Brasileiro de Entomologia*, 13, Recife. Resumos. Recife. SEB. P. 136.

- Lomer C J, Bateman R P, Dent D, De Groote H, Douro-Kpindou O-K, Kooyman C, Langewald J, Ouambama Z, Peveling R, Thomas M. (1999) Development of strategies for the incorporation of biological pesticides into the integrated management of locusts and grasshoppers. *Agricultural and Forest Entomology* 1: 71-88.
- Manica, I., Isuma, I.M. Junqueira, N.T.V. Salvador, J.O. Moreira, A. Malavolta, (2000) In. *Fruticultura Tropical* 6 Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes 374p.
- Maranga, R. O., Kaaya, G. P., Mueke, M. J., Hassanali, A. (2005) Effects of combining the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the mortality of the tick *Amblyomma variegatum* (Ixodidae) in relation to seasonal changes. *Mycopathologia* 159 : 527-532.
- Oliveira, A.S., Alves, R.T., Fialho, J.F.de, Junqueira, N.T.V. (2001) Controle do percevejo rendado da mandioca (*Vastiga illudens*) com fungo entomopatogênicos. Comunicado técnico- Embrapa Cerrado, Planaltina n. 45: 1-4.
- Orlando, A., Sampaio, A.S., Carvalho, A., Sacaraari, H. J., Arruda, H.V. (1974) "Notas sobre o gorgulho das goiabas *Conotrachelus psidii*, Marshall, 1922 (Coleoptera: Curculionidae), e experimentos de combate. *O Biológico*, (Brasil), São Paulo, 40:251-269".
- Pereira, F.M. Bortoli, S.A. (1998) Pragas da Goiabeira. In: *Pragas das Fruteiras Tropicais de Importância Agroindustrial*. Brasília. Braga Sobrinho, R., Cardoso, J.E., Freire, F.C.O. ed. Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, p. 119-130.
- Prior C, Jollands P, Le Patourel G. (1988) Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 52: 66-72.
- Puterka, G.J., Reinke, M., Luvisi, D., Ciomperik, M., Bartels, D., Wendel, L., and Glenn, D. M. (2003) Particle films surround WP effects on glassy-winged

- sharpshooter behavior and its utility as a barrier to sharpshooter infestations in grape. Online. Plant Health Progress doi: 10.109/PHP-2003-0321-01 RS.
- Puterka, G. J., Glenn, D. M., Sekutowski, D. G., Unruh, T. R. and Jones, S. K. (2000) Progress toward liquid formulation of particle film for insect and disease control in pear. *Environmental Entomology*. 29: 329-339;
- Pereira, F.M. Bortoli, S.A. (1998) Pragas da Goiabeira. In: Pragas das Fruteiras Tropicais de Importância Agroindustrial. Brasília. Braga Sobrinho, R., Cardoso, J.E., Freire, F.C.O. ed. Embrapa-SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, p. 119-130.
- Quintela, E. D. and McCoy, C. W. (1998) Conidial attachment of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the larval cuticle of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) treated with imidacloprid. *Journal of Invert. Pathol.* 72: 220-230
- Sampaio, A. (1975) Gorgulho-da-goiaba tem agora um moderno controle. *Correio Agrícola* 2: 20 - 21
- Sampaio A. (1977) Gorgulho apodrece goiabas. *Agricultura e Pecuária* 619: 40 - 41
- Samson, R. A., Evans, H.C. and Latgé, J.P. (1988) Atlas of entomopathogenic fungi. Springer, Berlin 189p.p.
- Samuels, R. I.; Charnley, A. K. & Reynolds, S. E. (1988) The role of destruxins in the pathogenicity of three strains of *Metarhizium anisopliae* for the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Mycopathologia*. 104: 51-58.
- Samuels, R.I., Coracini, D. L. A., Martins, S. C. A., Gava, C. A. T. (2002) Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biological Control* 23: 269-273.
- Samuels, R.I., Coracini, D. L. A. (2004) Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for the control of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae). *Sci. Agric. (Piracicaba, Brasil)*, 61: 271-275.
- Sobrinho, R.B. Cardoso, J.E., Freire, F.C.O. (1998) Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial. Serviço de produção de informações-Embrapa-SPI, Brasília-DF; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 209p.

Thomas, M.B., Langewald, J. and Wood, S. N. (1996) Evaluating the effects of a biopesticide on populations of the variegated grasshopper, *Zonocerus variegates*. *J Appl.Ecol.*33, 1509-16.

Universidade Federal De Viçosa. SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas: Versão 7.1. Viçosa, MG: UFV, 1997. 150p.

APÊNDICES

Tabela 1 A - Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, usados nos testes de patogenicidade e virulência a *Corythaica sp.*

Número de acesso	Espécies	Insetos atacados	Origem
CG 24	<i>B. bassiana</i>	<i>Euschistus heros</i> Fabr. (Hemiptera: <i>Pentatomidae</i>)	Londrina
LPP 114	<i>B. bassiana</i>	<i>Conotrachelus psidii</i> (Coleoptera: Curculionidae)	Campos/UENF
ESALQ 818	<i>M. anisopliae</i>	Isolado do solo	Piracicaba
LPP 91	<i>M. anisopliae</i>	Isolado do solo	Rondônia
LPP 110	<i>B. bassiana</i>	Acromyrmex (Himenoptera: Formicidae)	Pará
LPP19	<i>B. bassiana</i>	<i>Blissus antillus</i> (Hemiptera: Lygaeidae)	Ibitioca

Quadro 1 A. Efeito do Tween80 (0,05%) e Filtue[®] (10%) sob o crescimento médio de colônias dos isolados de fungos entomopatogênicos LPP114 (*B. bassiana*) e LPP91 (*M. anisopliae*) em meio SDA1/4.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO	F
TRAT	3	0,28	6,48**
RESIDUO	44	0,44	
CV(%)	-	9,03	

** - significativo pelo Teste F (P= 0,01).

Quadro 2 A. Mortalidade média de adultos de *Corythaica* sp. submetidos as formulações de *B. bassiana* (LPP114) e *M. anisopliae* (LPP91) na concentração 1×10^8 conídio ml⁻¹ em Tween 80 (0,05%), Filtue[®] e Surround[®] na concentração 10% em laboratório.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO	F
TRAT	5	149,13	28,08**
RES	30	5,94	
CV (%)	-		

** - significativo pelo Teste F (P = 0,01; n = 3; N = 30)

Quadro 3 A – Mortalidade média de adultos de *Corythaica* sp. submetidos as formulações de *B. bassiana* e *M. anisopliae* (1×10^8 conídio ml^{-1}) em Tween 0,05%, Filtue[®] (10%) e Óleo de girassol (8%) no laboratório, 6 repetições (n= 20 insetos)

FV	GL	QUADRADO MÉDIO	F
ISOL	5	3.071.380	7,86 **
ESP	2	5.481.481	0,93 ^{ns}
ISOL X ESP	10	1.621.481	2,76 ^{ns}
RESÍDUO	85	5.885.403	-
TOTAL	107	-	-
MÉDIA	-	16.019	-
CV (%)	-	15.145	-

^{ns} - Não significativo pelo teste F (P= 0,05)

** - Significativo pelo Teste F (P= 0,01)

Tabela 2 A - Levantamento populacional de *Corythaica* sp por meio de amostragem em plantas submetidas aos tratamentos: Água, Filtue® (10%), Óleo de girassol (8%) Água + Fungo, Filtue® (10%) + Fungo e Óleo de girassol (8%) + Fungo em pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), Campos dos Goytacazes/RJ, 2005 (N= 4; n= 6).

Tratamentos	Média Insetos / Planta±DP	IC
Fungo + Água	60,7±18,5	7,8
Fungo + Filtue® (10%)	27±16	6,7
Fungo + Óleo de Gir. (8%)	55±17,9	7,5
Água	45,2±18,2	7,6
Filtue®	30,3±14,9	6,3
Óleo de Gir. (8%)	41,4±19,4	8,2

N - número de plantas/ Tratamento

n - número de amostras

DP – Desvio Padrão

IC – Intervalo de Confiança

Tabela 3 A - Levantamento de insetos com conidiogênese por meio de amostragem em plantas tratadas com as formulações: Água + Fungo, Filtue® (10%) + Fungo e Óleo de girassol (8%) + Fungo em pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), Campos dos Goytacazes/RJ, 2005 (N= 4; n= 6).

Tratamentos	Média conidiogênese±DP	I.C
Fungo + Água	1,4±1,2	0,51
Fungo + Filtue® (10%)	1,5±0,9	0,4
Fungo + Óleo de Gir. (8%)	0,6±0,9	0,4
Água	0	0
Filtue®	0	0
Óleo de Gir. (8%)	0	0

N – número de plantas/ Tratamento

n - número de amostras

DP – Desvio Padrão

IC – Intervalo de Confiança

Quadro 4 A – Populações de *Corythaica* sp e o período amostral do monitoramento de 18 dias em pomar de goiaba da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo (ETEAAS), Campos dos Goytacazes/RJ.

		QUADRADO					
		MÉDIO					
FV	GL	Água	Filtue [®] 10%	Óleo 8%	Fungo +Água	Fungo + Filtue [®]	Fungo +Óleo
REGRESÃO	1	3818,41	914,41	742,62	112,80	2285,71	4058,41
INDEPENDENTES	22	184,45	227,70	302,87	292,51	129,16	211,42
MÉDIAS		60,75	27,00	55,08	45,16	30,33	41,41
D.P.		18,50	16,04	17,94	18,13	14,23	19,45
F		20,70 ^{**}	4,02 ^{ns}	2,45 ^{ns}	3,86 ^{ns}	17,70 ^{**}	19,20 ^{**}

^{**}Significativo pelo Teste F (P=0,01)

^{ns} Não significativo pelo Teste F (P=0,01)

Quadro 5.A Cadáveres da população de *Corythaica sp* com conidiogênese durante o período amostral de 18 dias em condições de campo.

FV	GL	QUADRADO MÉDIO		
		FUNGO	FUNGO + FILTUE®	FUNGO +ÓLEO
REGRESÃO	2	0.9446429 ^{ns}	0.3991071 ^{ns}	0.1595238 ^{ns}
INDEPENDENTES	21	1.511214 ^{ns}	1.009609 ^{ns}	0.9054422 ^{ns}
MÉDIAS	-	1.3750	1.5000	0.6667
D.P.	-	1.2091	0.9780	0.9168

ns – não significativo pelo teste F (P = 0,05)

Tabela 1 B - Isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium. anisopliae* usados nos testes de patogenicidade e virulência a *C. psidii*.

Denominação	Espécies de fungos	Hospedeiro / fonte	Fornecedores
CG 24	<i>B. bassiana</i>	<i>Euschistus heros</i> Fabr. (Hemiptera: <i>Pentatomidae</i>)	EMBRAPA- CENARGEN/DF
LPP19	<i>B. bassiana</i>	<i>Blissus antillus</i> (Hemiptera: <i>Lygaeidae</i>)	UENF/ RJ
LPP110	<i>B. bassiana</i>	<i>Acromyrmex</i> (Hymenoptera: <i>Formicidae</i>)	UENF/ RJ
LPP114	<i>B. bassiana</i>	<i>Conotrachelus psidii</i> (Coleoptera: <i>Curculionidae</i>)	UENF/ RJ
LPP138	<i>B. bassiana</i>	<i>Conotrachelus psidii</i> (Coleoptera: <i>Curculionidae</i>)	UENF/ RJ
ESALQ 818	<i>M. anisopliae</i>	Amostra de solo	ESALQ Piracicaba / SP
LPP91	<i>M. anisopliae</i>	<i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: <i>Crambidae</i>)	UENF/ RJ

Quadro 1 B. Efeito de diferentes concentrações de Confidor® na mortalidade de adultos de *C. psidii*, (n=15), três repetições.

FV	GL	QM	F
REPETIÇÃO	2	0,2	1,19 ^{ns}
DIA	4	5,21	28,68**
CONCENTRAÇÃO	3	10,2	55,16**
DIAS X CONC.	12	2,5	13,94**
RESÍDUO	38	0,18	-
MÉDIA	-	0,58	-
CV	-	73,04	-

** - Significativo pelo teste F (P>0,01)

ns - Não significativo pelo teste F (P>0,01)

Quadro 2 B. Efeito estressor de diferentes concentrações de Confidor® a adultos de *C. psidii*, (n=15), três repetições.

FV	GL	QM	F
REPETIÇÃO	2	10,1	20,57**
DIA	4	4,7	9,52**
CONCENTRAÇÃO	3	74,8	153,09**
DIAS X CONC.	12	0,9	2,04 ^{ns}
RESÍDUO	38	1,48	-
MÉDIA	-	5,2	-
CV	-	13,4	-

** - Significativo pelo teste F (P>0,01)

ns - Não significativo pelo teste F (P>0,01)

Quadro 3 B. Efeito de diferentes concentrações de Confidor® no comportamento de adultos de *C. psidii*, (n=15), três repetições.

FV	GL	QM	F
REPETIÇÃO	2	11,81	23,59**
DIA	4	0,06	0,13 ^{ns}
CONCENTRAÇÃO	3	133,61	266,77**
DIAS X CONC.	12	1,03	2,06 ^{ns}
RESÍDUO	38	0,5	
MÉDIA		4,2	
CV		16	

** - Significativo pelo teste F (P>0,01)

ns - Não significativo pelo teste F (P>0,01)

Quadro 4 B. Mortalidade média de *C. psidii* causada por isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em três formulações.

FV	GL	QM	F
BLOCOS	2	13,77	-
TRAT	6	22,22	4,96*
ISOL	2	174,3	38,92**
TRAT X ISOL	12	5,69	1,27 ^{ns}
RESÍDUO	40	4,47	-
MÉDIA	-	11,77	-
CV(%)	-	17,96	-

* - Significativo pelo teste F (P>0,05)

** - Significativo pelo teste F (P>0,01)

ns - Não significativo pelo teste F (P>0,05)

Quadro 5 B. Conodiogênese em cadáveres de *C. psidii* inoculados com isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em três formulações

FV	GL	QM (X10 ¹⁵)	F
BLOCO	14	235449	
TRAT	2	0,172	0,023 ^{ns}
ISOL	6	630,006	85,04 ^{**}
TRAT X ISOL	12	42,692	5,76 [*]
RESIDUO	280	7,409	
MÉDIA		203,451	
CV		42,31	

* - Significativo pelo teste F (P>0,05)

** - Significativo pelo teste F (P>0,01)

ns - Não significativo pelo teste F (P>0,05)