

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS  
PARA O CONTROLE DE *LEPTOPHARSA HEVEAE* DRAKE &  
POOR (HEMÍPTERA: HETEROPTERA, TINGIDAE)**

**ERICA ARAUJO RODRIGUES SILVA**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da UNESP -  
Câmpus de Botucatu, para obtenção do  
título de Mestre em Agronomia  
(Programa de Proteção de Plantas)

BOTUCATU - SP  
Fev - 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS  
PARA O CONTROLE DE *LEPTOPHARSA HEVEAE* DRAKE &  
POOR (HEMÍPTERA: HETEROPTERA, TINGIDAE)**

**ERICA ARAUJO RODRIGUES SILVA**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Batista Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Edson Luis Furtado

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da UNESP -  
Câmpus de Botucatu, para obtenção do  
título de Mestre em Agronomia  
(Programa de Proteção de Plantas)

BOTUCATU - SP  
Fev - 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO  
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S586s Silva, Erica Araujo Rodrigues, 1981-  
Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Leptopharsa hevea* Drake & Poor (Hemiptera: Heteroptera, Tingidae) / Erica Araujo Rodrigues Silva . - Botucatu : [s.n.], 2007.  
v, 60 f. : il. gráfs, tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2007  
Orientador: Antonio Batista Filho  
Co-orientador: Edson Luis Furtado  
Inclui bibliografia

1. Fungos entomopatogênicos. 2. Patogenicidade. 3. Fungos-Seleção. 4. Hemiptera - Condições ambientais. 5. Percevejo (Inseto). I. Batista Filho, Antonio. II. Furtado, Edson Luis. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS  
CAMPUS DE BOTUCATU

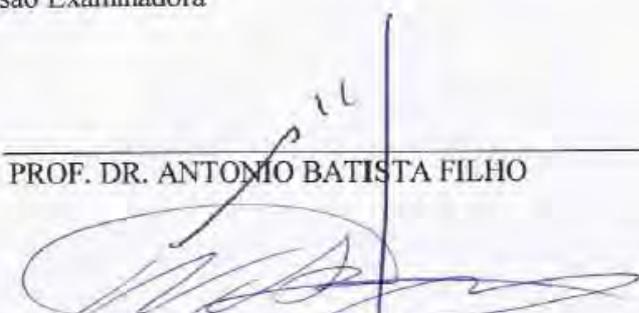
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS PARA  
O CONTROLE DE *LEPTOPHARSA HEVEAE* DRAKE & POOR  
(HEMIPTERA: HETEROPTERA, TINGIDAE)"

ALUNA: ERICA ARAÚJO RODRIGUES SILVA

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO

Aprovado pela Comissão Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO

\_\_\_\_\_  
PROF. DR. WILSON BADIALI CROCOMO

  
\_\_\_\_\_  
PROF. DR. LUIS GARRIGÓS LEITE

Data da Realização: 02 de fevereiro de 2007.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Antonio Batista Filho, que, mesmo distante, não deixou de orientar este trabalho e contribuir com valiosas sugestões.

Ao Professor Edson Luis Furtado, co-orientador desta dissertação e mentor de longa data, que esteve sempre pronto a ajudar.

Aos Professores do Departamento de Proteção de Plantas da Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu – UNESP, que de alguma forma contribuíram para minha formação.

À Plantações E. Michelin Ltda., pela disponibilização do material necessário ao desenvolvimento desta pesquisa, bem como apoio financeiro concedido. Em especial, agradeço ao responsável pelo Grupo de Experimentação desta empresa, Fernando da Silva Fonseca.

A todos os funcionários do Departamento de Técnicas Agrícolas da empresa Plantações E. Michelin Ltda., em especial à Lurdes, Julio, Tatiane e Damaris. Sem eles este trabalho não seria o mesmo.

Às minhas companheiras Fernanda e Flávia, que tornaram muito mais divertidos os dias em Itiquira.

A todos os meus amigos de Botucatu, os quais prefiro não nomear, evitando a injustiça de esquecer algum, pois são todos igualmente importantes.

À empresa Klabin S.A., para qual trabalho atualmente, por compreender a importância deste trabalho e me conceder o tempo necessário para sua conclusão.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro à pesquisa.

À minha família, que esteja perto ou longe,  
sempre encontra maneiras de me ajudar e apoiar. São  
aqueles que se sacrificam por mim e os quais  
nunca me deixarão.

## **OFEREÇO**

Ao querido Raphael, namorado e amigo,  
que sempre me estimulou a continuar este trabalho  
e fez de meus dias momentos mais felizes.

## **DEDICO**

**SEM VOCÊS, ESTE TRABALHO NÃO EXISTIRIA**

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	1
SUMMARY.....	3
1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
2.1 Cultura da seringueira.....	8
2.2 Pragas da seringueira.....	9
2.3 O percevejo-de-renda.....	10
2.3.1 Aspectos bioecológicos.....	10
2.3.2 Danos e prejuízos causados.....	11
2.3.3 Controle.....	12
2.4 Fungos como agentes de controle microbiano.....	13
2.5 Seleção de isolados.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Seleção de isolados.....	16
3.2 Produção e viabilidade de conídios.....	19
3.3 Avaliação de eficiência em condições de campo.....	21
3.4 Processamento dos dados .....	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1 Seleção de isolados.....	24
4.2 Produção e viabilidade de conídios.....	27
4.3 Avaliação de eficiência em condições de campo.....	32
4.3.1 Teste número 1.....	33
4.3.2 Teste número 2.....	40
5 CONCLUSÕES.....	49
5.1 Seleção de isolados.....	49
5.2 Produção e viabilidade de conídios.....	49
5.3 Avaliação de eficiência em condições de campo.....	50
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
APÊNDICES.....	56

SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS PARA O CONTROLE DE *LEPTOPHARSA HEVEAE* DRAKE & POOR (HEMIPTERA: HETEROPTERA, TINGIDAE). Botucatu, 2006. 60p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: ERICA ARAUJO RODRIGUES SILVA

Orientador: ANTONIO BATISTA FILHO

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar e comparar a eficiência dos fungos *S. insectorum*, *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *Paecilomyces* spp. no controle de *Leptopharsa heveae* em diferentes concentrações de aplicação e condições climáticas, este trabalho foi constituído de seleção de isolados em laboratório, testes de produção e viabilidade de conídios em laboratório e análises de eficiência em condições de campo. Foram analisados vinte e sete isolados procedentes de diversos hospedeiros e regiões. A produção de conídios dos patógenos foi efetuada em placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Insetos de terceiro instar da praga foram então inoculados através de pulverizações com suspensão de conídios na concentração de  $1 \times 10^9$  conídios/mL. Avaliações de mortalidade foram efetuadas a cada dois dias e os valores de mortalidade confirmada contabilizados. Neste experimento ocorreu grande variação na patogenicidade entre os isolados testados, sendo que os mais patogênicos foram: 1189, E9, PL63, IBCB87 e 1225. Os dois isolados padrão, SJRC e 1200 não atingiram resultados satisfatórios neste experimento. Os cinco isolados mais patogênicos resultantes da seleção de isolados, mais os dois tipos como padrão, foram então submetidos aos testes de produção, onde foram avaliados quanto ao número de conídios viáveis produzidos. Para tanto, pré-matrizes em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA, foram preparadas. A partir destas placas, matrizes contendo arroz como meio de cultura foram inoculadas com suspensão de conídios originária das pré-matrizes na concentração de  $5 \times 10^7$  conídios/mL. Concluído o desenvolvimento dos patógenos nas matrizes, sacos de polipropileno contendo canjica de milho como meio de cultura foram inoculados com 40mL da suspensão obtida a partir as matrizes. Após um período de incubação de quinze dias, o conteúdo das sacolas foi avaliado quanto à produção e viabilidade de conídios. O isolado 1200, de *Paecilomyces*

*fumosoroseus*, apresentou a maior quantidade de conídios viáveis produzidos/mL, tendo o isolado 1189, de *M. anisopliae*, apresentado os piores resultados para este quesito. Os mesmos isolados resultantes da seleção de isolados realizada em laboratório foram encaminhados aos testes de eficiência em condições de campo. Três concentrações de aplicação da suspensão fúngica foram testadas para cada isolado:  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  conídios/mL. Cada tratamento foi composto por três mudas dentro de gaiolas teladas dispostas distantes umas das outras no campo, tendo as mesmas sido pulverizadas por suspensão inoculante ajustada, após terem sido infestadas por indivíduos de diversos instares da praga *L. heveae*. Avaliações foram realizadas de cinco em cinco dias, visando obter resultados de mortalidade confirmada para cada tratamento ao longo do tempo. Este experimento foi instalado duas vezes, de modo a possibilitar a avaliação de interferências climatológicas nos resultados. Houve diferenças significativas entre os resultados obtidos no teste número 1 e no teste número 2, evidenciando a importância de se considerar em estudos desta natureza variáveis como umidade relativa, temperatura e precipitação. Concentrações inferiores a  $1 \times 10^7$  conídios/mL mostraram-se, em geral, ineficientes. Em ambos os testes, o isolado PL 63 de *Beauveria bassiana* apresentou os melhores índices de mortalidade confirmada.

---

Palavras-chave: fungos entomopatogênicos, concentração, condições ambientais e percevejo-de-renda.

ISOLATES ELECTION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI FOR THE CONTROL OF *LEPTOPHARSA HEVEAE* DRAKE & POOR (HEMIPTERA: HETEROPTERA, TINGIDAE). Botucatu, 2006. 60p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: ERICA ARAUJO RODRIGUES SILVA

Orientador: ANTONIO BATISTA FILHO

## SUMMARY

With the objective to evaluate and compare the efficiency of the fungi *S. insectorum*, *M. anisopliae*, *B. bassiana* and *Paecilomyces* spp. in the biological control of *Leptopharsa heveae*, in different concentrations of application and climatic conditions, this research was consisted by an election of isolates in laboratory, tests of production and viability of conidia in laboratory, and analyses of efficiency in field conditions. Twenty-seven isolates from different hosts and regions had been evaluated and seven of them were elected. The pathogens production of conidia was made in Petri dishes with BDA as the culture media. Nymphs from the third instar of the pest were then inoculated through sprayings of the conidia suspension in the concentration of  $1 \times 10^9$  conidia/mL. Evaluations of mortality had been done each two days and the values of confirmed mortality registered. In this experiment, a great variation of pathogenicity among the isolates was observed, but the most pathogenic were: 1189, E9, PL63, IBCB87 and 1225. The two standard isolates, SJRC and 1200 had not reached satisfactory results in this experiment. The five more pathogenic isolates resultants from the election, plus the two standards, had been submitted to production tests, where they were evaluated about the number of viable conidia produced. With this objective, pre-matrices in Petri dishes with BDA as culture media were prepared. From these cultures, matrices with rice as culture media were inoculated with the original suspension of conidia obtained from the pre-matrices in the concentration of  $5 \times 10^7$  conidia/mL. After the development of the pathogens in the matrices, polypropylene bags with maize as culture media were inoculated with 40mL from the gotten suspension in the matrices. After an incubation period of fifteen days, the content of the bags was evaluated about the production of conidia and their viability. The isolate 1200, of *Paecilomyces fumosoroseus*, presented the biggest amount of viable conidia produced/mL. The isolate 1189, of *M. anisopliae*,

presented the worse results in the same subject. The same isolates resultants from the election in laboratory had been used for efficiency tests in field conditions. The treatments were composed by three shoots inside of cages covered with specific cloth and placed distant from each other in the field. Three different concentrations of the fungi suspension were tested for each isolate:  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^9$  conidia/mL. The shoots were then sprayed with the adjusted suspension, after infestation with the lace bug in different instars. Evaluations had been carried out each five days, aiming to get results of confirmed mortality for each treatment throughout time. This experiment was installed two times, in order to make possible some evaluation of weather interferences in the results. Significant differences between the results gotten in the test number 1 and the test number 2 were observed, evidencing the importance of considering weather changes in studies of this nature. The concentrations lower than  $1 \times 10^7$  conidia/mL have revealed, in general, inefficient. In both tests, the isolate PL 63 of *Beauveria bassiana* presented the best result of confirmed mortality.

---

Key-words: entomopathogenic fungi, concentration, weather conditions and lace bug.

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Heveae* pertence à família Euphorbiaceae. Todas as espécies são lenhosas, arbóreas, em geral árvores medianas e até grandes; alguns exemplares podem atingir até 50m de altura na floresta alta. A seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) tem como habitat natural a região amazônica brasileira, onde existem dez espécies das onze conhecidas (GASPAROTTO et al., 1997).

Trata-se da principal fonte de borracha natural produzida no mundo. É o único produto natural que possui elasticidade, plasticidade, resistência ao desgaste, propriedade isolante de eletricidade, e impermeabilidade para líquidos e gases, sendo essencial como matéria prima para o transporte, indústria, etc. A borracha sintética obtida do petróleo possui quase a mesma composição química da natural, porém suas propriedades físicas ficam restritas a alguns manufaturados (TANZINI, 2002).

Ainda segundo o mesmo autor, o Brasil, apesar de ser o centro de origem da seringueira, continua sendo grande importador de borracha natural. Em 1999, foram

importadas 98 mil toneladas de borracha natural, para um consumo nacional estimado em 170 mil toneladas. Nesse mesmo ano, o Brasil atingiu a produção recorde de 70 mil toneladas.

Atualmente, a produção de borracha natural no país é de 100 mil toneladas por ano, no entanto, o consumo interno anual é de cerca de 300 mil toneladas. A Associação Paulista de Produtores e Beneficiadores de Borracha (Apabor) estima que, em 2030, a demanda brasileira deva alcançar 1 milhão de toneladas ([www.anba.com.br/noticia.php?id=10992](http://www.anba.com.br/noticia.php?id=10992)).

Diversas tentativas foram realizadas para tornar o país auto-suficiente nessa matéria-prima, como o Programa de Incentivo à Produção de Borracha Natural (Probor I, II, III). Porém, o aparecimento de doenças e pragas nos seringais tem tornado muito difícil a implantação destas florestas.

Dentre as pragas que atingem a referida cultura está a *Leptopharsa heveae*, popularmente conhecida como percevejo-de-renda ou mosca-de-renda. Esta praga vem merecendo destaque devido à sua ampla distribuição geográfica e alta capacidade reprodutiva, mas principalmente em função dos prejuízos por ela causados. Seringueiras atingidas por *Leptopharsa heveae* têm a produção de látex reduzida e fenologia alterada, o que provoca a troca precoce das folhas, num período que favorece o ataque de *Microcyclus ulei* (WILCKEN et al., 1995).

A convivência com esta praga é, no entanto, inevitável, pois se encontra distribuída em grande parte do território nacional, o que torna a escolha de seu método de controle fator de suma importância. Em contra partida, as pesquisas de seringueira no Brasil dirigem esforços às áreas de melhoramento genético e fitopatologia, resultando na carência de informações disponíveis sobre artrópodos e seu controle. Dessa forma, a abundante e contínua utilização de pesticidas químicos tem resultado em problemas sérios com resistência, contaminação pessoal e ambiental.

O manejo integrado de pragas (MIP) é uma alternativa que, além de favorecer várias opções para o controle de pragas, mantém as mesmas em níveis baixos, mesmo com a diminuição do uso de defensivos químicos (PAPECEK & SMITH, 1994).

Segundo Fonseca (2005), o controle biológico vem sendo usado por empresas do ramo juntamente com a aplicação reduzida de defensivos químicos. Dentre os fungos entomopatogênicos, tem-se utilizado para tanto o *Sporothrix insectorum*.<sup>4</sup>

Este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a eficiência dos fungos *Sporothrix insectorum*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, e *Paecilomyces* spp. no controle de *Leptopharsa heveae* em diferentes concentrações de aplicação e condições de umidade relativa e temperatura ambiente. As avaliações incluem seleção de isolados em laboratório, análises de eficiência em condições de campo e testes de produção e viabilidade de conídios.

---

<sup>4</sup> FONSECA, R.B. (Plantações E. Michelin Ltda.). Comunicação pessoal, 2005.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Cultura da seringueira**

A partir da exploração de seringais nativos em 1841, a borracha ganhou importante papel na economia nacional, com apogeu entre 1880 e 1910, quando constituiu o segundo produto na pauta de exportações brasileiras (VIRGENS FILHO, 1983, citado por GASPAROTTO et al, 1997). Com a expansão da produção de borracha na Ásia, em 1912, o Brasil perdeu a hegemonia mundial por não conseguir competir com os preços praticados pelos asiáticos. Em 1950, com o aumento da demanda de borracha natural, em virtude do início da indústria automobilística, e com o declínio da produção, o Brasil passou a importador (GASPAROTTO et al., 1997).

As regiões de produção comercial compreendem latitudes de 22° Norte na China e 25° Sul no estado de São Paulo, considerando-se tanto sua ocorrência espontânea, como os ecossistemas de culturas comerciais, a seringueira demonstra excepcionais condições de rusticidade e de capacidade de adaptação a grande variedade de padrões climáticos e edáficos (ORTOLANI, 1985).

## 2.2 Pragas da Seringueira

As tentativas de cultivo de seringueiras na região Norte do Brasil não foram bem sucedidas, principalmente devido à alta incidência de doenças e insetos-pragas nos seringais, favorecidos por condições de alta temperatura e umidade relativa do ar. Com isso, a sua produção foi incrementada nas chamadas áreas de escape, em estados das regiões centro-oeste e sudeste, onde as condições ambientais são favoráveis ao seu desenvolvimento e menos favoráveis às doenças e insetos-pragas (PERREIRA et al., 2002).

No Brasil, a partir de 1987, a cultura da seringueira vem crescendo principalmente nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso, São Paulo, Bahia (região Sul), Goiás e Espírito Santo.

A seringueira sofre diversos tipos de agressões durante sua vida produtiva. Através da sangria, grande parte de suas reservas nutricionais são retiradas e pouco se oferece para sua reposição. Fatores ambientais, tais como a influência do clima (ventos, chuvas, temperaturas, etc.) agregados às condições desfavoráveis relacionadas à sangria são responsáveis pela exposição direta da planta aos mais diversos tipos de patógenos e pragas.

As pragas que atacam a cultura da seringueira podem ocorrer em todos os estágios da cultura, desde as mudas em formação nos viveiros até as plantas adultas, em sangria.

Em uma lista de organismos associados à seringueira e às plantas de cobertura em todo o mundo, Brasil (1971) citado por Vendramin (1986) relacionou cerca de 275 espécies de animais, as quais são responsáveis pela perda de 5% de borracha. Perfazendo cerca de 80% desse total, 218 espécies pertencem à classe Insecta, estando distribuídas em dez ordens (VENDRAMIN, 1986). Deste total, segundo o mesmo autor, 38 espécies já foram referidas no Brasil, sendo as mais importantes relacionadas à parte aérea da planta.

Os maiores problemas com pragas em seringueira têm sido verificados principalmente na Amazônia e Bahia, sendo no estado de São Paulo mais baixas as infestações.

As principais pragas da seringueira são o Mandarová (*Erinny ello* e *E. alope*), o ácaro (*Calacarus heveae*) e o percevejo de renda (*Leptopharse heveae*). Naturalmente, a importância de cada uma delas está diretamente relacionada ao local de

cultivo da seringueira, bem como às condições ambientais nele encontradas, podendo ter como pragas também as formigas, vaquinhas, mosca-branca, cochonilhas, cupins, paquinhas, coleobrocas, etc.

### **2.3 O Percevejo de renda**

*L. heveae* tornou-se praga dos seringais primeiramente no município de Mosqueiro/PA, em 1977, onde a infestação ocorreu em viveiros e seringais jovens de cinco anos de idade (RODRIGUES, 1977, citado por TANZINI, 1998). Na região Centro-Oeste, Kuffner (1986), citado pelo mesmo autor, relatou ocorrência da praga no estado do Mato Grosso. Mais recentemente, na região Sudeste do estado de São Paulo, Batista Filho et al. (1995) observaram a presença desse inseto no município de Buritama.

Estudos realizados por Batista Filho et al. (1995), concluíram que a população de ninfas e adultos de *Leptopharsa heveae* concentra-se entre os meses de novembro a março, sendo agosto o mês de menor incidência do inseto. O ciclo biológico deste inseto foi estudado por Tanzini & Lara (1996) e Fonseca (2001).

#### **2.3.1 Aspectos bioecológicos**

O Percevejo-de-renda é um inseto da família Tingidae, e, como outras espécies da mesma família, é monófago, apresentando como único hospedeiro a seringueira.

Segundo Tanzini (1996), este inseto apresenta postura endofítica, fecundidade média de 89 ovos/fêmea, postura diária de 2,66 – 2,83 ovos/fêmea; período de incubação de 12 a 15 dias; períodos ninfais com duração de 2,13; 2,83; 3,44; 3,32; 3,32 dias para os cinco ínstares respectivamente; longevidade dos adultos tenerais de 3,50 dias e dos adultos de 17,02 dias. Ainda de acordo com o mesmo autor, o percevejo-de-renda ataca as folhas de seringueira enviveiradas, em plantios jovens e em plantios produtivos.

Segundo Moreira (1985), tanto as formas jovens de percevejo-de-renda, quanto os adultos, se localizam na face abaxial das folhas, sugando a seiva, destruindo o parênquima e dificultando a função clorofiliana da planta, além de produzir lesões que favorecem o aparecimento de microrganismos.

O sintoma ocasionado pela praga, segundo Wilcken (1999), citado por Scomparin (2000), é a perda do brilho das folhas, sendo as baixas com coloração prateada e pontuações brancas, com um grande número de insetos na parte inferior da folha. Segundo Tanzini (1997) citado pelo mesmo autor, o percevejo de renda é um inseto de pequeno porte (até 5mm de comprimento), de coloração esbranquiçada e com asas reticuladas, que suga as folhas da seringueira provocando o aparecimento de pontuações brancas. Com o ataque intenso, a folhagem perde o brilho e fica com aparência prateada, em seguida encarquilha, seca e cai precocemente.

### **2.3.2 Danos e prejuízos causados**

Os adultos e ninfas de *L. heveae* permanecem na página inferior das folhas jovens e adultas, sugando a seiva e destruindo o parênquima, reduzindo a atividade fotossintética e produzindo lesões que predis põem a planta ao ataque de microrganismos nos seringais. Nas regiões onde a seringueira renova a folhagem no período mais seco e mais frio do ano (áreas de escape às doenças foliares), o percevejo de renda provoca a senescência precoce, ou queda anormal das folhas, forçando a planta à renovação de folhagem em períodos quentes e úmidos, favorecendo assim o ataque epidêmico de doenças que incidem somente em folhas jovens, como o mal das folhas (*Microcyclus ulei*) e a mancha aureolada (*Thanatephorus cucumeris*) (TANZINI, 1998).

Os prejuízos causados pelo ataque deste inseto foram calculados por Moreira em 1985 e citados por Tanzini (1998). Comparando-se o desenvolvimento de plantas infestadas e não infestadas por *L. heveae*, o autor constatou que há redução de 27,7% no crescimento em altura e 43,5% no diâmetro do colo das plantas.

Trabalhos desenvolvidos por Tanzini, porém não publicados, mostraram que mudas infestadas com 2, 4 e 8 insetos/folíolo, comparando-se com a testemunha, apresentaram redução no crescimento de 12, 60 e 64%, respectivamente, sendo que com 2 insetos/folíolo não houve diferença significativa para com a testemunha após 30 dias de infestação. Noutro ensaio de avaliação de influência na produção com os clones IAN 863, RRIM 527, PB 235 e GT 1 foi observada redução na produção em relação à área não atacada de 30% em média (SCOMPARIN, 1997).

Portanto, além dos danos diretos referidos, o ataque deste inseto aumenta os custos operacionais devido à necessidade de intenso combate, o que deixa o Brasil em desvantagem quanto ao custo de produção de borracha seca frente aos países asiáticos, maiores produtores mundiais.

### 2.3.3 Controle

O controle químico dessa praga tem oferecido resultados satisfatórios, mas o alto custo, e, somado ao elevado número de pulverizações requeridas para seu controle, têm induzido produtores a desistirem de seus seringais.

Ainda, o controle químico apresenta-se bastante oneroso devido ao porte das árvores de seringueira. Quando comparado ao método biológico, mostra-se em desvantagem também devido aos riscos de contaminação ao ambiente e ao homem, além de possibilitar que pragas tidas como secundárias tornem-se primárias por ocasião do extermínio de seus inimigos naturais.

Quanto ao controle biológico pelo uso de predadores, Scomparin (1997) realizou levantamento das espécies de crisopídeos que ocorrem no agro ecossistema da cultura, encontrando 39 espécies, sendo as mais abundantes *Chrysoperla externa*, *Ceraochrysa claveri*, *Ceraochrysa cincta* e *Ceraochrysa cubana*. Neste trabalho, o autor observou que *C. cincta* foi a espécie mais abundante e a que permaneceu na copa das árvores por mais tempo, com longevidade de 54 dias e fecundidade de 353 ovos/fêmea. A capacidade de predação de uma larva desse inseto foi de 124 adultos e 2812 ninfas de 1º instar do percevejo de renda. Tem-se realizado estudos sobre modos de liberação e criação desse predador, sendo a forma mais econômica até o momento a utilização de cartelas de cartolina de 1pol<sup>2</sup> com 50 ovos de *C. cincta* cada.

## 2.4 Fungos como agentes de controle biológico

O controle biológico de pragas por fungos entomopatogênicos tem sido relatado por diversos autores, como Alves (1998), Faria & Magalhães (2001), Junqueira et al. (1999) e Rangel (2000).

O interesse pelos programas de controle biológico de pragas tem crescido consideravelmente no mundo, em função do novo direcionamento internacional da produção agrícola de favorecer a conservação e o uso sustentável dos recursos biológicos.

Políticas internacionais demandam fortemente alternativas para os agrotóxicos, e a utilização de entomopatógenos contra pragas é uma alternativa promissora. Entre os fungos utilizados como agentes no controle microbiano de insetos, estão *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Sporothrix insectorum*, *Paecilomyces* spp. e diversos outros.

No entanto, a eficiência de um entomoparasita no controle de uma praga é influenciada tanto por fatores bióticos como abióticos. Entre os fatores bióticos, Alves (1998) relatou que, para haver uma epizootia, é necessário que a população da praga esteja elevada para favorecer a disseminação do parasita na plantação; haja dispersão do inseto contaminado na área; o patógeno apresente alta virulência, alta capacidade de reprodução e capacidade de sobrevivência no ambiente.

Entre os fatores abióticos, temperatura, umidade relativa do ar e radiação solar no ambiente são os que mais influenciam na eficiência de um parasita no controle biológico de um inseto-praga qualquer.

Para o controle microbiano do percevejo-de-renda poucos trabalhos foram realizados, entretanto, autores como Celestino Filho & Magalhães (1986) relatam ser o fungo *Sporothrix insectorum* o entomopatógeno mais promissor para este controle. O fungo *Sporothrix insectorum* Hoog & Hevans, um inimigo natural de adultos e ninfas do percevejo-de-renda, foi constatado no Amazonas (CELESTINO FILHO et al., 1986) e testado no campo pela primeira vez por Junqueira et al. (1987 e 1988), citados por Junqueira et al. (1999) em seringais de cultivo no estado do Amazonas, e introduzido no estado do Mato Grosso, em 1987, nos municípios de Poconé, Pontes e Lacerda, Barra do Bugres, Canarana, São José do Rio Claro e Itiquira (Fazenda Michelin), e mais recentemente nos estados de São Paulo e Goiás.

Em experimento realizado por Junqueira et al. (1999), *S. insectorum* reduziu em 90% a população de *L. heveae*, quando esta atingiu seu nível máximo de infestação e as condições ambientais eram favoráveis, indicando alta eficiência biológica do inimigo natural. Em surtos ocorridos no Centro Nacional de Pesquisa da Seringueira e Dendê, em Manaus, foi utilizado este microrganismo, chegando ao controle de 93% das ninfas e 73% de adultos em árvores com copas densas (CELESTINO FILHO & MAGALHÃES, 1986; citados por TANZINI, 1998). O fungo mostrou-se eficiente agente no controle do percevejo de renda, mas sua eficiência está diretamente ligada às condições ambientais. Com a utilização desse fungo, o controle pode variar de 25,5% a 93,5% do período mais seco ao mais úmido, respectivamente, apresentando, portanto, baixo índice de parasitismo e eficiência em períodos de umidade relativa baixa, segundo o mesmo autor citado. Ainda, de acordo com Tanzini (1998), defensivos agrícolas como Benomil e Paratiom Metílico inibem completamente o desenvolvimento do fungo, enquanto o monocrotofós não interfere em sua eficiência e Abamectin acresce o controle em 27% .

O gênero *Metarhizium* é um deuteromiceto da família Moniliaceae (ALVES, 1998). Segundo o mesmo autor, o primeiro trabalho de controle microbiano usando um fungo entomopatogênico foi realizado pelo zoologista e patologista russo Ilya Metchnikoff em 1879, que aplicou *M. anisopliae* para o controle de larvas de um curculionídeo, importante praga da beterraba. De acordo com Alves (1998), a partir dessa época, as variedades e as diversas raças de *M. anisopliae* vêm sendo estudadas sobre muitas espécies de insetos. Acredita-se que esse patógeno ocorra naturalmente sobre mais de 300 espécies de insetos das diferentes ordens, incluindo pragas importantes.

O gênero *Beauveria* é parasito de um grande número de artrópodos, ocorrendo em mais de 200 espécies de insetos e ácaros, incluindo carrapatos (ALVES, 1998). O autor relata ainda ser *Beauveria bassiana* a espécie mais freqüente sobre insetos e em amostras de solo, onde pode subsistir por longo tempo em saprogênese. Segundo Alves (1998), em condições de laboratório, o fungo pode colonizar a maioria dos insetos, sendo que em campo ocorre de forma enzoótica e epizoótica em coleópteros, lepidópteros, hemípteros e em ocorrências enzoóticas sobre dípteros, himenópteros e ortópteros. *Beauveria bassiana*, segundo Murphy & Moore (1990), foi observado em muitos países atacando a broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, e é considerado por alguns autores o mais eficiente agente de controle

microbiano para esta praga. Estudos em laboratório indicam que esse fungo tem potencial para ser utilizado, desde que exista suficiente potencial de inóculo para induzir o processo infeccioso no campo (FERNANDES et al., 1985).

Segundo Alves (1998), o gênero *Paecilomyces* reúne diversas espécies entomopatogênicas, tendo uma delas sido observada provocando epizootias sobre a população de lagartas de um dalcerídeo, praga de eucalipto no Espírito Santo. Também é muito comum a ocorrência do gênero causando epizootias em populações de lagartas dos coqueiros do gênero *Brassolis* no Sudeste do Brasil. *Paecilomyces* sp. já foi observado sobre lepidópteros, coleópteros, homópteros e ortópteros.

## 2.5 Seleção de isolados

A seleção de isolados de fungos entomopatogênicos é de extrema importância para o uso destes microrganismos em programas de controle biológico, pois são agentes com alto grau de variabilidade genética dentro das espécies.

De acordo com Almeida & Batista Filho (2001), a seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de uma praga é uma das etapas mais importantes para a determinação da virulência, aspectos reprodutivos e produção em meio de cultura artificial, para a posterior utilização como bioinseticida.

Segundo Paccola-Meirelles & Azevedo (1990) e Kleespies & Zimmermann (1994), a variabilidade genética dos isolados resulta em diferenças na produção de enzimas (amilase, protease, lipase) e toxinas, na velocidade de germinação dos conídios, na atividade mecânica de penetração na cutícula e na capacidade de colonização dos isolados.

Moino Junior (1993) estudou a patogenicidade de 72 isolados do fungo *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a três espécies de pragas de grãos armazenados (Cucurliionidae). O autor encontrou uma grande variação na mortalidade, obtendo isolados ineficientes e outros com 100% de mortalidade.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Seleção de isolados

Esta etapa do trabalho teve por objetivo medir e comparar, em laboratório, a patogenicidade de isolados dos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* spp., e *Sporothrix insectorum* ao percevejo de renda (*Leptopharsa heveae*) da seringueira.

Nos bioensaios foram utilizados isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* sp., e *Sporothrix insectorum* provenientes da Micoteca de fungos do Laboratório Agro-Biológico das Plantações E. Michelin Ltda. e da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico de São Paulo. Foram testados 27 isolados procedentes de diversos hospedeiros e regiões (Tabela 1).

Tabela 1. Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios com ninfas de *Leptopharsa heveae*.

<b>Isolado</b>	<b>Patógeno</b>	<b>Procedência</b>	<b>Hospedeiro</b>
969	<i>Beauveria bassiana</i>	Piracicaba - SP	<i>Blatella germanica</i>
1196	<i>Beauveria bassiana</i>	Corumbá - MS	Solo
307	<i>Beauveria bassiana</i>	Araras - SP	<i>Diatrea saccharilis</i>
PL 63	<i>Beauveria bassiana</i>	Guairá - SP	<i>Atta</i> sp.
447	<i>Beauveria bassiana</i>	Cuiabá - MT	<i>Solenopsis invicta</i>
IBCB66	<i>Beauveria bassiana</i>	S. J. do Rio Pardo/SP	<i>Hypothenemus hampei</i>
IBCB87	<i>Beauveria bassiana</i>	Goiânia - GO	<i>Cosmopolites sordidus</i>
IBCB330	<i>Beauveria bassiana</i>	Guaraniaçu - PR	Mata nativa
E9	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Boca da Mata – AL	<i>Mahanarva posticata</i>
E6	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Pernambuco	<i>Diatrea saccharalis</i>
1149	<i>Metarhizium anisopliae</i>		
RJC	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Desconhecido	Desconhecido
1189	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Corumbá - MS	Solo
1175	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Córrego Rico - SP	Solo
IBCB425	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Iporanga - SP	Lagarta
1200	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Amélio Rodrigues/BA	<i>Mahanarva posticata</i>
IBCB148	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Limeira - SP	Solo
IBCB124	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Campinas - SP	Solo
1205	<i>Paecilomyces farinosus</i>	Santa Fé do Sul – SP	<i>Bemisia tabaco</i>
IBCB108	<i>Paecilomyces farinosus</i>	Cosmópolis - SP	Solo
SJ1S	<i>Sporothrix insectorum</i>		
CPAC5	<i>Sporothrix insectorum</i>		

SJRC	<i>Sporothrix insectorum</i>		
IBCB79	<i>Sporothrix insectorum</i>	Itiquira - MT	<i>Leptopharsa heveae</i>
IBCB88	<i>Sporothrix insectorum</i>	Curitiba - PR	<i>Leptopharsa heveae</i>
1225	<i>Sporothrix insectorum</i>	S.J. do Rio Claro/MT	<i>Leptopharsa heveae</i>
1226	<i>Sporothrix insectorum</i>	Itiquira - MT	<i>Leptopharsa heveae</i>

Todos os isolados foram previamente revigorados a partir do próprio inseto.

A produção de conídios dos patógenos foi efetuada em placas de Petri com meio de cultura BDA (200g de batata, 20g de dextrose, 15g de ágar e 1000mL de água), em câmara climatizada a 26 +/- 0,5°C e fotofase de 12 horas. Após dez a doze dias de incubação, os conídios foram colhidos com espátula para a preparação da suspensão inoculante.

Insetos de 3º instar foram coletados no seringal das Plantações E. Michelin Ltda., em Itiquira/MT. O bioensaio foi constituído de 28 tratamentos (27 isolados e 1 testemunha), com 5 repetições, sendo cada repetição constituída por 10 insetos em placa de Petri.

Cada placa teve a superfície interna revestida por papel filtro umedecido e folhas de seringueira. Dez insetos por placa foram colocados com o auxílio de um pincel nº0, visando minimizar os danos mecânicos aos mesmos. Em seguida, realizou-se a inoculação destes insetos nas placas com suspensão do patógeno na concentração de  $1 \times 10^9$  conídios/mL e volume de 1mL por placa. Após a inoculação, os recipientes com os insetos foram vedados e mantidos em câmara climatizada a 26 +/- 2°C e fotofase de 12 horas durante todo o período experimental. Para o tratamento testemunha, o mesmo procedimento foi efetuado, substituindo-se a suspensão inoculante por água destilada.

As avaliações foram realizadas a cada dois dias, registrando-se o número de insetos vivos e mortos. Para confirmação da mortalidade pelo patógeno, os insetos mortos foram lavados em álcool 70% por 10 segundos e enxaguados em água destilada por 20 segundos para descontaminação externa. Em seguida, foram acondicionados em placas de

Petri com câmara úmida por 15 dias, tornando possível a visualização da extrusão e reprodução do patógeno (confirmação da morte), ou não.

Os cadáveres foram observados e aqueles que confirmaram morte pelo fungo foram anotados, perfazendo os dados de mortalidade confirmada. Os cinco isolados que apresentaram mortalidade confirmada superior a 80% até o sexto dia após inoculação foram selecionados para a etapa seguinte do trabalho (testes de produtividade e avaliações de desempenho em campo), além dos dois isolados tidos como padrão por empresas do ramo: SJRC (*Sporothrix insectorum*) e 1200 (*Paecilomyces fumosoroseus*).

Foram calculados os dados de mortalidade confirmada e mortalidade total (mortalidade independente da causa), até que a testemunha atingisse 100% de mortalidade.

### **3.2 Produção e viabilidade de conídios**

Com base na seleção de isolados realizada previamente entre os fungos *Sporothrix insectorum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces* spp., foram realizados testes de produtividade e viabilidade de conídios, objetivando a identificação daqueles que, além de mais patogênicos em laboratório, fossem capazes de produzir os maiores números de conídios viáveis dentro de um prazo pré-estabelecido.

Neste estudo, cada isolado representou um tratamento, totalizando 7 tratamentos compostos por 5 repetições.

Os isolados PL63, IBCB87, SJRC, 1225, 1189, E9 e 1200 foram repicados em placas de Petri contendo meio BDA. As placas foram incubadas durante dez dias em câmara climatizada a 26 +/- 2°C e fotofase de 12 horas para promover o desenvolvimento dos fungos, estas placas foram chamadas de pré-matrizes. Após dez dias os conídios foram retirados com o auxílio de uma alça metálica e uma suspensão fúngica na concentração de  $5 \times 10^7$  conídios/mL foi preparada pra ser inoculada nas matrizes.

Para as matrizes utilizou-se arroz como meio de cultura, sendo este colocado na quantidade de 100g em frasco Erlenmeyer de 1000mL acrescido de 50mL de água destilada e ácido cítrico na concentração de  $0,3\text{gL}^{-1}$ . O frasco foi lacrado com papel alumínio e levado à autoclave por 30 minutos com temperatura de 120°C.

Em câmara de fluxo laminar, procedeu-se a inoculação dos frascos Erlenmeyers (matrizes) adicionando-se 20 mL da suspensão de conídios preparada. Estes foram então lacrados com papel alumínio e fita crepe para serem agitados de modo a possibilitar uma boa distribuição do inóculo. Prontas as matrizes, estas permaneceram em sala de germinação climatizada a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotofase de 12 horas por 12 dias.

A partir das matrizes foram produzidas as sacolas, que correspondem à forma como estes fungos são produzidos em escala industrial. Em câmara de fluxo laminar, as matrizes foram raspadas com o auxílio de espátula de metal esterilizada, tendo seu conteúdo sido transferido para Becker de 2000mL contendo 750 mL de água esterilizada. A suspensão resultante foi passada por peneira de 0,84mm e acrescida de uma cápsula de tetraciclina.

No preparo das sacolas, fez-se uso de 5 sacos plásticos de poppropileno para cada tratamento, nas dimensões de 30 X 15 cm, contendo 400g de canjica de milho e 200mL de solução de água mais ácido cítrico a  $0,3\text{gL}^{-1}$ . As sacolas foram lacradas com grampos metálicos e autoclavadas por 40 minutos a  $120^\circ\text{C}$ . Após esfriarem, foram inoculadas com 40mL da suspensão obtida a partir das matrizes, utilizando-se para tanto uma seringa de vidro de 20mL. Prontas, as 35 sacolas obtidas (5 repetições para cada tratamento) foram identificadas e transferidas para sala de germinação climatizada a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotofase de 12 horas por 15 dias. Ressalta-se aqui que todas as etapas de produção foram realizadas de forma intercalada, permitindo que as avaliações respeitassem rigorosamente o período de incubação de 15 dias para cada tratamento.

Para verificação da concentração e viabilidade dos conídios após o período de incubação de 15 dias, o conteúdo de cada sacola, separadamente, foi diluído em 1000mL de água destilada, homogeneizado e peneirado. A esta suspensão de conídios foi adicionado espalhante adesivo Tween a 0,1%. A suspensão foi diluída 3 vezes e o número de conídios quantificado em câmara de Neubauer. Para cada tratamento foram feitas 3 diluições, 1 por sacola, correspondendo ao número de repetições.

Para leitura da viabilidade foram preparadas três lâminas recobertas com meio de cultura BDA por tratamento, tendo as mesmas sido previamente marcadas com um círculo na face inferior. Sobre o meio de cultura foi inoculado, na área delimitada, 0,5mL de suspensão fúngica com  $10^5$  conídios/mL. Estas lâminas, acondicionadas individualmente em placa de Petri com algodão umedecido e esterilizadas, permaneceram incubadas na ausência

de luz por 15 horas em câmara climatizada a 26 +/- 2°C. A seguir, representadas pela Figura 1, estão 3 placas de Petri utilizadas para os testes de viabilidade do isolado 1200 de *Paecilomyces fumosoroseus*.

Após este período, foi colocada uma gota do corante azul de Arman sobre a área do círculo para deter a germinação e facilitar a visualização dos conídios. Foram quantificados 100 conídios na área pré-delimitada das lâminas em microscópio óptico com objetiva de 400X. Anotou-se o número de germinados e não germinados para posterior definição da porcentagem de germinação.



Figura 1: Teste de viabilidade do isolado 1200.

### 3.3 Avaliação de eficiência em condições de campo

Com base na seleção realizada entre os fungos *Sporothrix insectorum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces* spp., um grupo de 5 isolados foi considerado superior. Ao grupo, foram adicionados os isolados 1200 de *Paecilomyces fumosoroseus* e SJRC de *Sporothrix insectorum*, por serem utilizados com sucesso em escala industrial por empresas do setor, perfazendo um grupo de 7 isolados.

Os 7 isolados foram testados em três concentrações distintas de aplicação,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  esporos/mL, totalizando 22 tratamentos, incluída a testemunha. Cada tratamento foi composto por três repetições, portanto, 66 parcelas, cada uma representada por uma folha.

O estudo foi desenvolvido utilizando-se 22 gaiolas teladas (1 para cada tratamento), nas dimensões de 1,5m x 1,5m x 1,5m, onde foram colocadas 3 mudas

provenientes de sementes com aproximadamente 1m de altura. Foram liberados no interior de cada gaiola cerca de 150 insetos em diferentes ínstares da praga *L. heveae*.

O experimento foi instalado no centro da parcela 211, quadra “A” do Campo de Clones 1 da fazenda pertencente à Plantações E. Michelin em Itiquira/MT. Trata-se de uma parcela onde não há qualquer tipo de tratamento fitossanitário, portanto, livre de interferências desta natureza.

Em laboratório, preparou-se a suspensão de esporos na concentração adequada para cada tratamento e procedeu-se a pulverização das mudas engaioladas. Foi considerado o fato de os esporos perderem viabilidade se deixados em repouso por período excessivo, sendo assim, a cada suspensão preparada, a pulverização era prontamente realizada. Um pulverizador costal com capacidade para 5L foi utilizado no experimento, tendo sido a ele acoplado um bico regulador de pressão para que esta se mantivesse constante ao longo das pulverizações. O volume de calda utilizado por gaiola foi de 35mL, volume este definido através de testes prévios objetivando o não encharcamento da muda, mas sim uma cobertura uniforme e total. As pulverizações foram realizadas de baixo para cima, já que a praga em questão tem preferência pela face abaxial das folhas e as pulverizações em campo são feitas neste sentido, girando a haste em torno das mudas.

Após a pulverização, 15 folhas por gaiola (tratamento) foram envolvidas por tecido voal, isolando os insetos nelas presentes. Este procedimento possibilitou a marcação prévia das repetições a serem avaliadas em cada tratamento, bem como a garantia da permanência dos insetos nas mudas pulverizadas.

As avaliações foram realizadas em intervalos de cinco dias, verificando-se o número de insetos vivos e mortos nas folhas marcadas. Insetos mortos foram acondicionados em placas de Petri para verificação da possível extrusão do patógeno após 15 dias, processo para confirmação da causa de morte, como descrito no item 3.1.

Visando fidelidade às condições climáticas do período, cada pulverização teve seus efeitos acompanhados por 25 dias. Ao final do período, o experimento foi remontado, ou seja, gaiolas foram higienizadas, mudas trocadas, novos insetos introduzidos, nova pulverização realizada e folhas novamente envoltas por tecido voal. O processo descrito se repetiu por duas vezes ao longo dos meses de outubro e novembro de

2006. Os dados climatológicos de temperatura, umidade relativa e precipitação foram acompanhados durante todo o período experimental através de estação climatológica digital.

Ressalta-se que as mudas utilizadas foram irrigadas a cada dois dias e que as gaiolas foram dispostas no campo de forma desalinhada e distantes umas das outras, de forma a evitar deriva nas pulverizações, conforme Figura 2.

A comparação dos resultados obtidos nos diferentes tratamentos, confrontados com os dados climatológicos do período, possibilitou a definição do entomopatógeno mais eficiente para o controle do percevejo de renda, bem como sua concentração ideal de aplicação.



Figura 2: Disposição desalinhada dos tratamentos em campo.

### **3.4 Processamento dos dados**

Os dados foram processados no programa computacional SAEG. Para determinar as diferenças significativas entre tratamentos empregou-se os testes de agrupamento Scott-Knott ou Tukey, de acordo com cada situação, para um nível de significância de 5%, além de análises de variância.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Seleção de isolados

Para facilitar a compreensão dos resultados, os nomes dos isolados estão apresentados acompanhados das iniciais do fungo a que se referem, sendo: Bb = *Beauveria bassiana*; Ma = *Metarhizium anisopliae*; Si = *Sporothrix insectorum*; Pf = *Paecilomyces fumosoroseus* e Pfa = *Paecilomyces farinosus*.

Neste experimento ocorreu grande variação na patogenicidade entre os isolados testados.

Foram considerados eficientes nesta seleção, e estão apresentados na Tabela 2, os isolados que atingiram porcentual de mortalidade confirmada superior a 80% até o sexto dia após aplicação da suspensão fúngica. O teste de agrupamento Scott-Knott, Tabela 3, confirma a seleção realizada, que pôde ser validada estatisticamente pela análise de variância para o fator mortalidade confirmada (apêndice I), porém, Scott-Knott evidencia que muitos tratamentos obtiveram mortalidade inferior à da testemunha em alguns momentos, o que pode ser justificado pela sensibilidade do inseto ao estresse ocasionado pelo manuseio e que não interfere nos resultados, uma vez que o mesmo se baseia em valores de mortalidade confirmada

Tabela 2: Isolados considerados eficientes.

	Isolado	Mortalidade confirmada (%)
<i>Metarhizium anisopliae</i>	1175	82
<i>Metarhizium anisopliae</i>	E9	94
<i>Metarhizium anisopliae</i>	1189	90
<i>Beauveria bassiana</i>	PL 63	88
<i>Beauveria bassiana</i>	IBCB 87	88
<i>Beauveria bassiana</i>	307	82
<i>Sporothrix insectorum</i>	1225	84

Tabela 3: Porcentagem de mortalidade média confirmada e total de *L. hevea* até o sexto dia após aplicação da suspensão fúngica.

ISOLADOS	DIAS APÓS APLICAÇÃO					
	2		4		6	
	Mcon	Mtot	Mcon	Mtot	Mcon	Mtot
E9 Ma	46	52	94	100	94 a	100
1189 Ma	60	68	90	100	90 a	100
PL63 Bb	12	22	76	86	88 a	100
IBCB87 Bb	12	12	78	84	88 a	98
307 Bb	20	28	82	90	85 a	100
1225 Si	26	30	82	92	84 a	94
1175 Ma	48	66	76	94	82 a	100
1226 Si	26	32	70	89	80 a	94
IBCB124 Pf	62	76	76	90	80 a	96
1200 Pf	50	74	70	96	74 a	100
IBCB330 Bb	10	11	62	94	66 b	100
E6 Ma	30	50	52	84	64 b	96
IBCB66 Bb	10	28	40	74	62 b	96
IBCB108 Pfa	52	78	58	90	62 b	96
1149 Ma	40	60	60	100	60 b	100
1205 Pfa	34	68	48	96	60 b	98
SJ1S Si	16	18	52	84	56 c	96
SJRC Si	32	62	42	72	50 c	86
CPAC5 Si	30	74	42	88	46 c	96
IBCB88 Si	38	84	44	92	44 c	92
1196 Bb	22	48	38	90	40 c	100
IBCB425 Ma	12	22	36	48	40 c	60
IBCB79 Si	24	74	32	82	38 c	90
969 Bb	20	36	30	80	32 c	94
RJC Ma	12	26	28	56	32 c	70
IBCB148 Pf	18	74	24	78	32 c	92
447 Bb	20	56	24	78	24 c	84
TEST		25		45		60

Mcon = mortalidade confirmada      Mtot = mortalidade total

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de agrupamento Scott - Knott

De acordo com os resultados expostos nas Tabelas 2 e 3, verificou-se que *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* foram os fungos mais eficientes no controle de *L. heveae*, apresentando maior número de isolados selecionados, enquanto que *Sporothrix insectorum* mostrou-se mediano, com apenas 1 representante. Tanzini (2002), observou valores de mortalidade confirmada de *L. heveae* variando entre 25% e 90% quando inoculados por isolados de *Sporothrix insectorum*. Em experimentos de laboratório Scomparin (2000) relata eficiência de controle de 100% do *S. insectorum* sobre *L. heveae* após oito dias de pulverização da suspensão fúngica nas concentrações de  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  e  $1 \times 10^9$  conídios/mL.

*Paecilomyces* sp. pôde ser considerado o fungo de pior desempenho, uma vez que sua máxima eficiência foi conferida pelo isolado IBCB 124, que atingiu mortalidade confirmada de 80% ao sexto dia após aplicação da suspensão fúngica, seguido pelo 1200, com 74%. Tanzini (2002), em experimento semelhante, observou valores de 80% de mortalidade confirmada para *L. heveae* quando inoculado com o isolado 1200. Resultados semelhantes também foram observados por Wraight et al. (1998), que testou isolados de *Paecilomyces* spp. para o controle de *Bemisia argentifolii*. Em casa de vegetação, *P. fumosoroseus* causou 70% de mortalidade em *B. argentifolii* (VIDAL et al., 1998).

Atualmente, algumas empresas vêm praticando o controle microbiano contra *Leptopharsa heveae* através da utilização dos fungos *Sporothrix insectorum* e *Paecilomyces* sp. Estas empresas multiplicam industrialmente os isolados 1200 e SJRC, pulverizando-os em suas plantações e obtendo sucesso no controle da praga. Ambos os isolados fizeram parte deste estudo e alcançaram resultados insatisfatórios, entretanto, tornou-se importante a sua inclusão na etapa seguinte do trabalho, visando confirmação dos testes de laboratório e maior embasamento para possível recomendação de substituição dos isolados na produção de fungos das empresas. Dessa forma, para as próximas etapas do estudo, os isolados selecionados 307 Bb e 1175 Ma, ambos com mortalidades confirmadas de 82%, foram substituídos pelos isolados padrão: 1200 de *Paecilomyces fumosoroseus* e SJRC de *Sporothrix insectorum*.

Os isolados encaminhados para a etapa de avaliações de produtividade e patogenicidade em campo foram: PL63 e IBCB87 - *Beauveria bassiana*, 1189 e E9 -

*Metarhizium anisopliae*, SJRC e 1225 - *Sporothrix insectorum* e 1200 - *Paecilomyces fumosoroseus*.

#### 4.2. Produção e viabilidade de conídios

A patogenicidade de isolados é um fator de extrema importância para o sucesso do controle microbiano de pragas, tendo sido utilizada como primeiro fator de seleção neste estudo. Entretanto, o potencial de utilização destes microrganismos em escala industrial está intimamente ligado à sua capacidade de produção.

Os cinco isolados definidos anteriormente como mais patogênicos (PL 63, IBCB87, 1189, E9 e 1225), mais os dois incluídos como padrão (SJRC e 1200), foram avaliados quanto à produtividade de conídios, considerando-se o fator viabilidade determinante nesta seleção.

A Figura 3 apresenta os resultados de produção média de conídios/mL obtidos. A análise de variância para o mesmo fator pode ser observada no apêndice II.

Verifica-se através da Figura 3 que o isolado 1200 de *Paecilomyces fumosoroseus* apresentou maior produção de conídios ( $13,92 \times 10^7$  conídios/mL) quando comparado aos demais. Em seguida estão PL63 de *Beauveria bassiana* com  $9,5 \times 10^7$  conídios/mL, 1225 de *Sporothrix insectorum* com  $7 \times 10^7$  conídios/mL e, com  $5,67 \times 10^7$  conídios/mL, o isolado IBCB87 de *B. bassiana*. Dentre os analisados, o pior desempenho foi do isolado 1189 de *Metarhizium anisopliae*, com produção de  $1,92 \times 10^7$  conídios/mL. Os resultados de produtividade média de conídios foram submetidos ao teste de Tukey e estão apresentados na Tabela 4, onde é confirmada a superioridade do isolado 1200, diferindo-se estatisticamente dos demais.

Resultados de produtividade de conídios para estes fungos já foram estudados por outros pesquisadores, com resultados semelhantes, variando em decorrência de metodologias distintas entre os trabalhos. Neves & Hirose (2005), em estudo de seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle da broca do café, obtiveram produções de conídios/mL em torno de  $2,5 \times 10^6$ , enquanto Loureiro et al. (2005), estudando a produção de conídios de diversos isolados de *Metarhizium anisopliae*, observou valores superiores aos encontrados neste estudo, pois variam de  $1,75 \times 10^8$  a  $2,30 \times 10^8$  conídios/g de arroz pré-cozido

pelo método da bandeja, e tem viabilidade média superior a 90%. Essa diferença pode ser devida ao método de produção, que, no estudo de Loureiro, foi bifásico, já que a esporulação ocorreu em bandejas e não no meio de cultura inicial. Bastante semelhante a estudo também foram os resultados encontrados por Loureiro et al. (2002), que observou, para *Sporothrix insectorum*, produção de  $1,84 \times 10^7$  a  $2,42 \times 10^7$  conídios/mL.

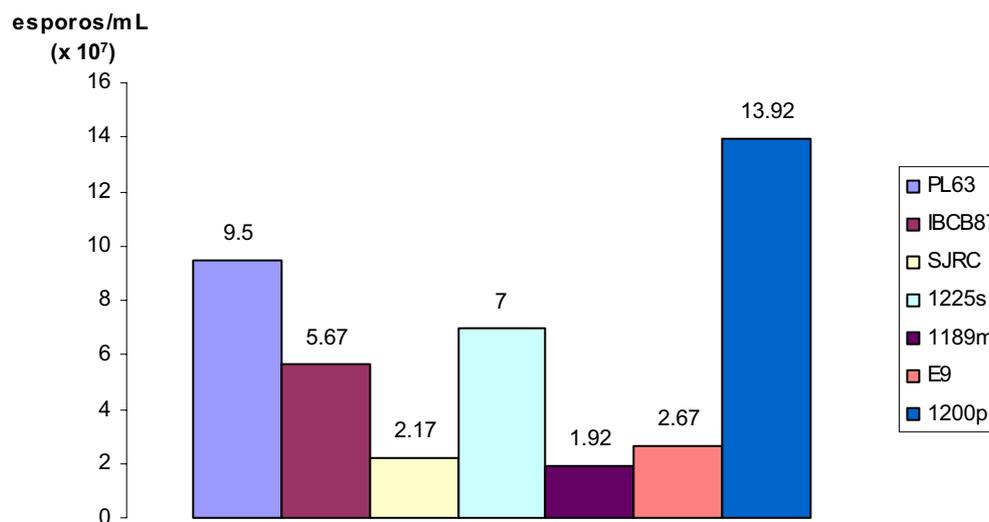


Figura 3. Produtividade média de conídios/mL.

Tabela 4: Comparações pelo teste de Tukey para o fator produção de conídios/mL.

TRATAMENTOS	PRODUÇÃO DE CONÍDIOS/ML ( $10^7$ )*
1200	13,91 67 a
PL 63	9,5000 ab
1225	7, 0000 ab
IBCB 87	5,6667 ab
E9	2,6667 b
SJRC	2,1667 b
1189	1,9167 b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

O isolado PL63 Bb já havia sido um dos mais eficientes quanto à patogenicidade à *Leptopharsa hevea*, e agora, como o segundo mais produtivo, demonstra grande potencial como agente microbiano de controle à praga em questão. E9, de *Metarhizium anisopliae*, que se comportou como o mais patogênico, atingindo 94% de mortalidade confirmada, aparece agora como o 5º mais produtivo, não diferindo estatisticamente dos dois

últimos colocados, SJRC Si e 1189 Ma. SJRC, incluído como padrão, não obteve bom desempenho nos testes anteriores de patogenicidade, e, quanto à produção de conídios, está a frente apenas do 1189, embora não tenha havido diferença significativa entre eles. O menor número de conídios produzidos/mL foi verificado para 1189 de *Metarhizium anisopliae*, que havia se mostrado eficiente na etapa anterior, estando em 2º lugar, com 90% de mortalidade confirmada.

Entretanto, para que a boa produtividade de um isolado possa se refletir em efetiva vantagem na produção industrial e efetivo controle de pragas, é preciso que os conídios produzidos tenham viabilidade para infectar o inseto. A Figura 4 apresenta os resultados de viabilidade média (%) por tratamento (isolado).

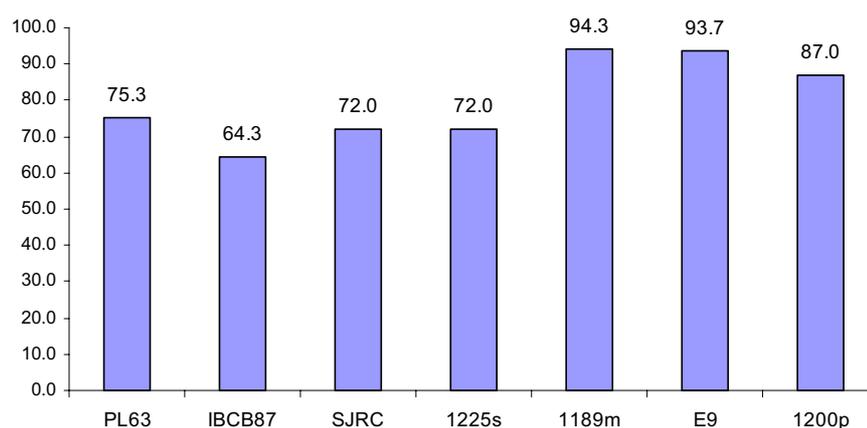


Figura 4: Viabilidade média dos conídios produzidos pelos isolados (%).

Através da Figura 4, observa-se que o isolado 1189 de *Metarhizium anisopliae*, último colocado quanto à produção de conídios e 3º quanto à patogenicidade, apresentou a maior porcentagem de viabilidade média entre os isolados testados, 94,3%. E9, também de *M. anisopliae*, tido como o segundo mais patogênico na seleção de isolados anterior, atingiu 93,7% de viabilidade média, porém seu desempenho produtivo o deixou em 5º lugar quanto ao número de conídios produzidos.

Na Tabela 5 está apresentado o teste de Tukey para o fator viabilidade de conídios produzidos/mL. A análise de variância para o mesmo fator pode ser observada no apêndice II.

Tabela 5: Comparações pelo teste de Tukey para o fator viabilidade de conídios produzidos pelos isolados testados.

TRATAMENTOS	NÚMERO DE REPETIÇÕES	VIABILIDADE MÉDIA (%)
1189	3	94,3333 a
E9	3	93,6667 a
1200	3	87,0000 ab
PL63	3	75,3333 abc
SJRC	3	72,0000 bc
1225	3	72,0000 bc
IBCB87	3	64,3333 c

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo o teste de Tukey, na Tabela 5, não houve diferença significativa quanto à porcentagem de viabilidade média entre os isolados 1189 e E9, ambos de *Metarhizium anisopliae*. IBCB 87, representante de *Beauveria bassiana*, teve a pior taxa de viabilidade, estando significativamente diferenciado dos demais.

É possível verificar, pelos resultados apresentados até então, que uma alta produtividade não significa vantagem quando a viabilidade é baixa e, por outro lado, a baixa produtividade pode não ser prejudicial, desde que possua alta porcentagem de viabilidade. Portanto, para selecionar um isolado é preciso confrontar dados de produtividade de conídios/mL com porcentagem de viabilidade.

A Figura 5 apresenta o número médio de conídios produzidos/mL e, com base nos valores de porcentagem de viabilidade, mostra o número médio de conídios viáveis produzidos pelos isolados, ou seja, a produtividade real. Observa-se que o isolado que produziu o maior número de conídios viáveis/mL, portanto aquele de maior produtividade real, foi 1200 de *Paecilomyces fumosoroseus*. Embora este tratamento não seja o de maior porcentagem de viabilidade média, sua produção alcançou grande destaque entre os avaliados, o que possibilitou o resultado final favorável. Segundo o teste de Tukey, presente na Tabela 6,

este isolado foi significativamente diferente de todos os outros ao nível de 5% de probabilidade, superioridade confirmada para o quesito.

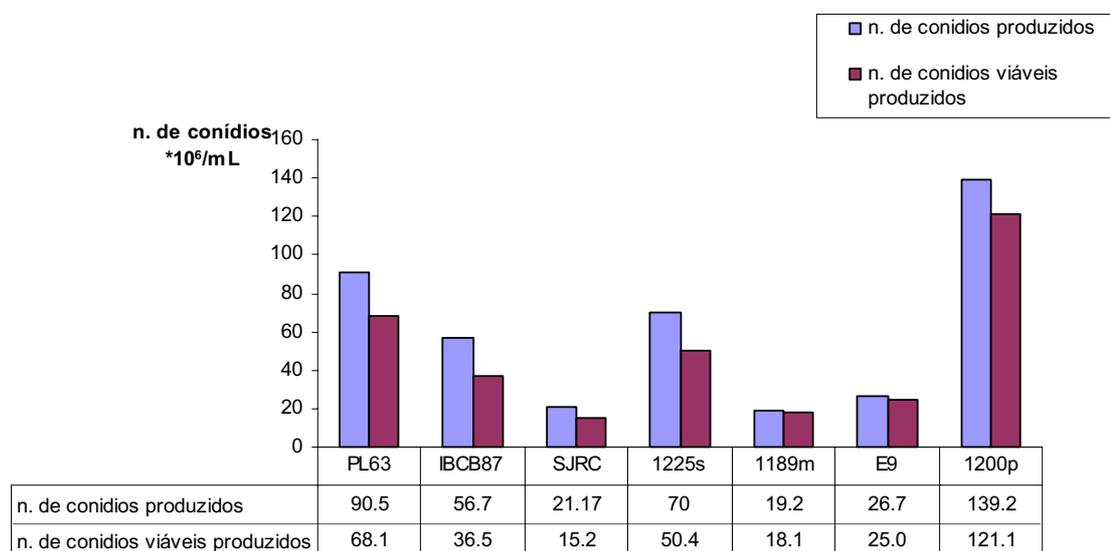


Figura 5: Número de conídios produzidos e número de conídios viáveis resultante.

Tabela 6: Comparações pelo teste de Tukey para o fator número de conídios viáveis produzidos.

TRATAMENTOS	NÚMERO DE REPETIÇÕES	NÚMERO MÉDIO DE CONÍDIOS VIÁVEIS/ML (10 <sup>7</sup> )
1200	3	12,1725 a
PL 63	3	7,1025 ab
1225	3	4,0467 ab
IBCB 87	3	3,6492 b
E9	3	2,5358 b
1189	3	1,8100 b
SJRC	3	1,5550 b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Ainda segundo a Tabela 6, é possível verificar que o isolado 1189 Ma, tido como o de maior porcentagem de viabilidade (94,3%), atingiu apenas  $1,81 \times 10^7$  conídios/mL de produtividade real, não diferindo de forma significativa do último colocado para o quesito, SJRC de *Sporothrix insectorum*.

Para se elevar o índice de assertividade em uma seleção de isolados realizada em condições de laboratório, é preciso avaliar o maior número de dados possível.

Neste trabalho, foram avaliados fatores de patogenicidade, produtividade, viabilidade e produtividade real. O confronto entre os três quesitos citados está apresentado na Tabela 7 e evidencia que o isolado SJRC, de *Sporothrix insectorum*, tido como padrão para o controle microbiano de *L. heveae*, obteve os piores resultados tanto quanto à patogenicidade, como à produtividade real de conídios. 1200 de *Paecilomyces fumosoroseus*, também padrão para algumas empresas, alcançou patogenicidade maior apenas do que SJRC, porém, obteve a maior produtividade real dentre os tratamentos. Os 4 melhores resultados de patogenicidade foram apresentados pelos isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, variando de 88% a 94% de mortalidade confirmada, entretanto, a maior produtividade real atingida dentre os referidos foi de  $68,2 \times 10^6$  conídios/mL para PL 63 (*B. bassiana*), valor estatisticamente diferenciado dos outros 3.

Tabela 7: Patogenicidade, produtividade, viabilidade e produtividade real dos isolados testados.

Isolados	Patogenicidade (% de mcon)	Produtividade (conídios $10^6$ /mL)	Viabilidade (%)	Produtividade real (conídios viáveis $10^6$ /mL)
1189	94	19,2	94,3	18,1
E9	90	26,7	93,7	25,1
PL 63	88	95	75,3	68,1
IBCB 87	88	56,7	64,3	36,5
1225	84	70,0	72,0	50,4
1200	74	139,2	87,0	121,1
SJRC	50	21,7	72,0	15,2

#### 4.3. Avaliação de eficiência em condições de campo.

De acordo com os resultados obtidos através da seleção de isolados em laboratório, sete dentre os testados foram considerados de maior potencial patogênico: PL63 Bb, IBCB87 Bb, 1189 Ma, E9 Ma, 1225 Si, SJRC Si e 1200 Pf. Entretanto, é consenso entre pesquisadores que resultados de laboratório podem, muitas vezes, não condizer com a

realidade de campo, pois não abrangem a variedade de condições ambientais a que os organismos estão sujeitos quando expostos à natureza, tornando fundamental para a credibilidade de qualquer trabalho científico a realização de testes de campo.

Esta etapa do trabalho avaliou o desempenho patogênico dos sete isolados superiores em condições de campo e em diferentes concentrações.

#### 4.3.1 Teste número 1

O teste número 1 foi realizado entre os dias 6 e 31 de outubro de 2005, na fazenda da empresa Plantações E. Michelin Ltda, localizada no município de Itiquira/MT. A Tabela 8 apresenta os resultados médios percentuais de mortalidade confirmada da praga *Leptopharsa heveae* obtidos no período.

Tabela 8: Porcentual médio de mortalidade confirmada da praga *Leptopharsa heveae* obtido ao longo do período experimental do teste 1.

5 daa		10 daa		15 daa		20 daa		25daa	
ISOLADOS	MCON								
E9 - C3	33a	IBCB87 - C3	67a	PL63 - C1	72a	1225 - C3	67a	E9 - C2	61a
1189 - C2	17a	E9 - C2	42a	SJRC - C2	56a	1200 - C3	67a	PL63 - C2	50a
1225 - C2	11a	E9 - C3	33a	IBCB87 - C3	50a	1189 - C2	44a	1225 - C1	44a
1200 - C2	6a	IBCB87 - C2	33a	1225 - C3	33a	IBCB87 - C3	37a	1200 - C3	39a
1189 - C1	0a	1189 - C2	28a	1200 - C3	33a	E9 - C2	33a	PL63 - C3	35a
1189 - C3	0a	1225 - C2	28a	IBCB87 - C2	33a	PL63 - C3	33a	1225 - C3	33a
E9 - C1	0a	PL63 - C3	17b	1189 - C2	17b	IBCB87 - C2	33a	PL63 - C1	33a
E9 - C2	0a	PL63 - C1	11b	E9 - C3	17b	SJRC - C1	22a	IBCB87 - C2	31a
1225 - C1	0a	1189 - C1	0b	PL63 - C2	17b	1189 - C3	17a	E9 - C3	31a
1225 - C3	0a	1189 - C3	0b	SJRC - C1	8b	E9 - C1	17a	IBCB87 - C3	30a
SJRC - C1	0a	E9 - C1	0b	1189 - C1	0b	E9 - C3	11a	SJRC C2	24a
SJRC - C2	0a	1225 - C1	0b	1189 - C3	0b	PL63 - C1	11a	1200 - C2	19b
SJRC - C3	0a	1225 - C3	0b	E9 - C1	0b	SJRC - C2	7a	SJRC - C1	11b
1200 - C1	0a	SJRC - C1	0b	E9 - C2	0b	1200 - C2	2a	IBCB87 C1	8b
1200 - C3	0a	SJRC - C2	0b	1225 - C1	0b	1189 - C1	0a	1200 - C1	7b
PL63 - C1	0a	SJRC - C3	0b	1225 - C2	0b	1225 - C1	0a	1189 - C1	0b
PL63 - C2	0a	1200 - C1	0b	SJRC - C3	0b	1225 - C2	0a	1189 - C2	0b
PL63 - C3	0a	1200 - C2	0b	1200 - C1	0b	SJRC - C3	0a	1189 - C3	0b
IBCB87 - C1	0a	1200 - C3	0b	1200 - C2	0b	1200 - C1	0a	E9 - C1	0b
IBCB87 - C2	0a	PL63 - C2	0b	PL63 - C3	0b	PL63 - C2	0a	1225 - C2	0b
IBCB87 - C3	0a	IBCB87 - C1	0b	IBCB87 - C1	0b	IBCB87 - C1	0a	SJRC - C3	0b
TEST	0a	TEST	0b	TEST	0b	TEST	0a	TEST	0b

daa = dias após aplicação da suspensão fúngica

MCON = mortalidade confirmada

C1 = concentração 1 ( $1 \times 10^6$ )      C2 = concentração 2 ( $1 \times 10^7$ )      C3 = concentração 3 ( $1 \times 10^8$ )

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Para facilitar a análise e compreensão dos resultados, também chamaremos C1 ( $1 \times 10^6$  conídios/mL) de concentração baixa, C2 ( $1 \times 10^7$  conídios/mL) de concentração média e C3 ( $1 \times 10^8$  conídios/mL) de concentração alta.

Para o isolado 1189 de *Metarhizium anisopliae*, verificou-se através da Tabela 8 que durante todo o período experimental a concentração média da suspensão fúngica foi a mais eficiente no controle da praga. Porém, observou-se que houve diferença significativa para com as demais concentrações testadas apenas na avaliação feita 10 dias após aplicação da suspensão inoculante, quando a mortalidade confirmada obteve média de 28%. Este isolado, ainda referente à concentração média, atingiu seu melhor desempenho na avaliação aos 20daa, quando chegou a 44% de mortalidade confirmada, entretanto, não se diferenciou estatisticamente das demais concentrações ou dos demais isolados nesta ocasião.

Outro isolado testado de *M. anisopliae*, E9, pôde ser considerado o mais eficiente na avaliação aos 5daa, com mortalidade confirmada de 33%, no entanto, igual estatisticamente aos demais isolados. Aos 10 dias após aplicação, o isolado E9 aparece entre os mais patogênicos tanto na concentração média, como quando em alta concentração, chegando a mortalidades confirmadas de 42% e 33%, respectivamente. A concentração média para este isolado volta a se destacar na última avaliação realizada, quando a mortalidade confirmada atinge 62%, porém, 11 isolados, incluído E9 Ma em alta concentração, aparecem iguais estatisticamente.

De acordo com a mesma Tabela, aos 5 e 20 dias após aplicação da suspensão fúngica, não houve diferença estatística para o fator mortalidade confirmada entre os isolados testados. É possível que isso se deva ao tamanho das unidades amostrais nas ocasiões, que era de cerca de 20 insetos.

*Leptopharsa heveae* é um inseto muito difícil de ser trabalhado em condições de campo, pois sua sensibilidade ao estresse, tamanho diminuto, e agilidade de vôo limitam o manuseio do mesmo. Ocorreu durante os testes que, embora grande quantidade de insetos tenha sido introduzida nas gaiolas, algumas folhas envoltas por voal apresentavam número reduzido de indivíduos no momento das avaliações. Experimentos de campo são

sempre mais complexos devido à dificuldade de se controlar fatores como esses. Sendo assim, para o teste 1, não vamos considerar os valores obtidos nas avaliações aos 5 e 20 dias. Ressalta-se que os valores de cada avaliação são independentes, não acumulativos.

O isolado 1225 de *Sporothrix insectorum* atingiu mortalidade confirmada de 28% para a concentração média aos 10 daa, estando como o de pior desempenho dentre os estatisticamente superiores (de letra “a” pelo agrupamento Socott-knott). Aos 15 dias após aplicação da suspensão fúngica, a máxima mortalidade confirmada obtida pelo isolado foi de 33% em alta concentração. Já aos 25daa, foi a baixa concentração que atingiu os melhores resultados para o isolado, 50% de mortalidade confirmada. Este isolado apresentou-se, portanto, como pouco dependente da concentração de aplicação da suspensão fúngica no teste 1 deste estudo.

Em se tratando do controle microbiano de *L. heveae*, *Sporothrix insectorum* é tido como agente padrão, referência. Em muitas empresas, o isolado SJRC é o mais utilizado, sendo produzido em escala industrial. Porém, os resultados aqui obtidos o colocam em posição inferior aos demais. Aos 10daa, o isolado não foi eficiente em nenhuma das concentrações testadas. Com 15 daa, seu desempenho melhorou, chegando a 56% de mortalidade confirmada para a concentração média. As demais concentrações não foram eficientes. Aos 25daa, mais uma vez foi a concentração média que colocou SJRC entre os eficientes, com 24% de mortalidade confirmada, porém, bastante inferior a outros isolados.

Por sua vez, os resultados obtidos para o isolado 1200, de *Paecilomyces fumosoroseus*, também este produzido em escala industrial por empresas do ramo, mostram que sua eficiência pode estar diretamente relacionada à concentração de conídios/mL. Aos 10daa, o isolado não foi eficiente, já na avaliação seguinte atingiu 33% de mortalidade confirmada quando em alta concentração, tendo sido C1 e C2 ineficientes no controle do inseto alvo. Aos 20 e 25 daa, mais uma vez foi a alta concentração que levou o isolado a estar bem posicionado entre os eficientes, com mortalidades confirmadas de 67% e 39%, respectivamente. As médias e baixas concentrações aparecem bastante inferiores.

O isolado de *Beauveria bassiana*, PL63, teve comportamento bastante instável durante as avaliações, estando ora entre eficientes, ora entre ineficientes e, variando, ainda, quanto à melhor concentração de aplicação. Aos 10daa, sua porcentagem de mortalidade confirmada o classificou como ineficiente, porém, aos 15daa, mostrou-se o mais

patogênico dentre todos os isolados testados, com 72% de mortalidade confirmada e, surpreendentemente, quando aplicado em baixa concentração. Na última avaliação, foi a concentração média que atingiu os melhores resultados, 50%, entretanto, igual estatisticamente ao resultado obtido em alta concentração, que também aparece entre os considerados superiores, aqueles acompanhados pela letra “a” no agrupamento Scott-Knott.

Também de *B. bassiana*, o isolado IBCB87 obteve desempenho satisfatório aos 10daa, com 33% de mortalidade confirmada para C2; aos 15daa com 50% e 33% para C3 e C2, respectivamente; aos 20daa com 37% 33% para C3 e C2, respectivamente, e aos 25daa com 31% e 30% para C2 e C3, respectivamente. Este isolado apresentou estabilidade de desempenho, um fator importante em programas de controle microbiano. Quanto à concentração de aplicação, apenas a mais baixa não aparece com bons resultados.

Observa-se que nenhuma combinação testada de “isolado + concentração + tempo” atingiu mortalidade confirmada igual ou superior a 80%, valor de referencia utilizado na seleção de isolados em laboratório.

Na Tabela 9 estão apresentadas as melhores concentrações de conídios/mL para cada isolado testado. Observa-se que a concentração média é a que aparece mais vezes, seguida pelas altas e baixas, aparecendo 2 vezes cada uma. Sendo assim, para o teste 1, o fator melhor concentração de aplicação da suspensão fúngica mostrou-se variável para os isolados de *S. insectorum* e *B. bassiana*. Os isolados de *M. anisopliae* podem ser considerados mais eficientes quando aplicados em uma concentração específica,  $1 \times 10^7$  conídios/mL, assim como o isolado 1200 de *P. fumosoroseus* teve seu desempenho favorecido se utilizado na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios/mL.

Tabela 9. Concentrações com melhores resultados médios de mortalidade confirmada para cada isolado testado.

<b>ISOLADO</b>	<b>CONCENTRAÇÕES</b>	<b>MORTALIDADE CONFIRMADA</b>	<b>DIAS APÓS APLICAÇÃO</b>
PL63	Baixa	72%	15
1200	Alta	67%	20
E9	Média	61%	25
SJRC	Média	56%	15
1225	Baixa	50%	25
IBCB87	Alta	50%	15
1189	Média	44%	20

A Tabela 9 permite verificar que o isolado PL63 Bb foi o mais patogênico dentre os avaliados no teste 1, atingindo 72% de mortalidade confirmada aos 15 dias após aplicação da suspensão fúngica.

As análises de variância para o fator mortalidade confirmada em função do isolado e concentração de aplicação aos 5, 10, 15, 20 e 25daa, durante o teste 1, podem ser observadas no apêndice III.

Sabendo-se da importância dos fatores climáticos e da influência por eles exercida sobre os resultados de eficiência de agentes de controle microbiano, as Figuras 6, 7 e 8 apresentam, respectivamente, o desempenho dos isolados em cada uma das três concentrações avaliadas em função das variações climáticas ocorridas no período.

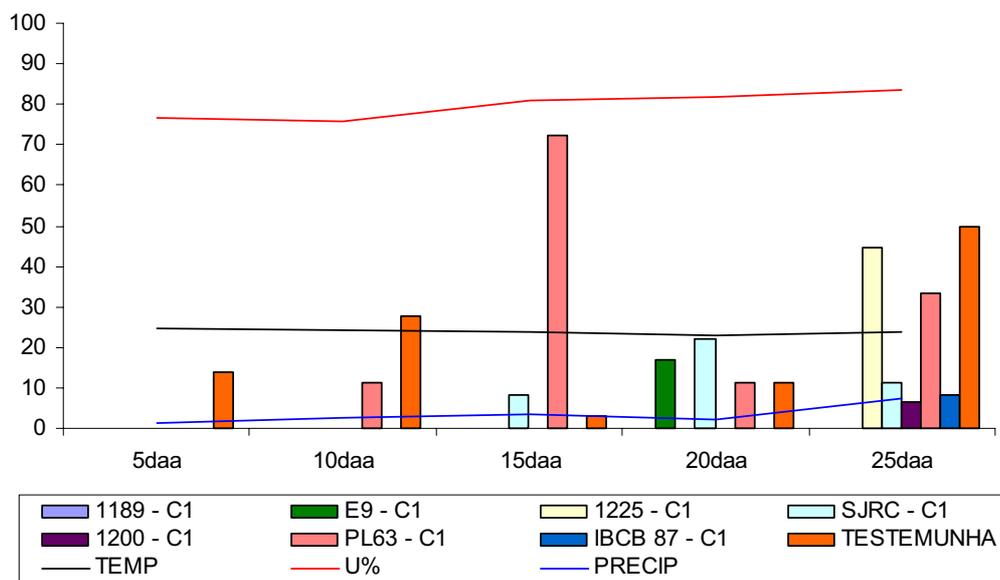


Figura 6. Porcentagem média de mortalidade confirmada atingida pelos isolados na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL, acompanhados de variáveis climáticas.

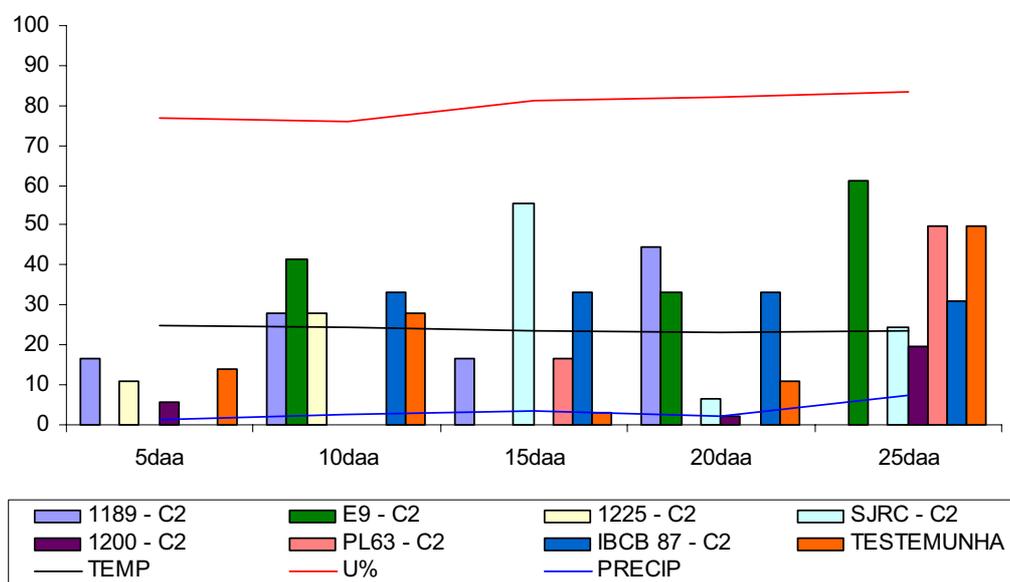


Figura 7. Porcentagem média de mortalidade confirmada atingida pelos isolados na concentração de  $1 \times 10^7$  conídios/mL, acompanhados de variáveis climáticas.

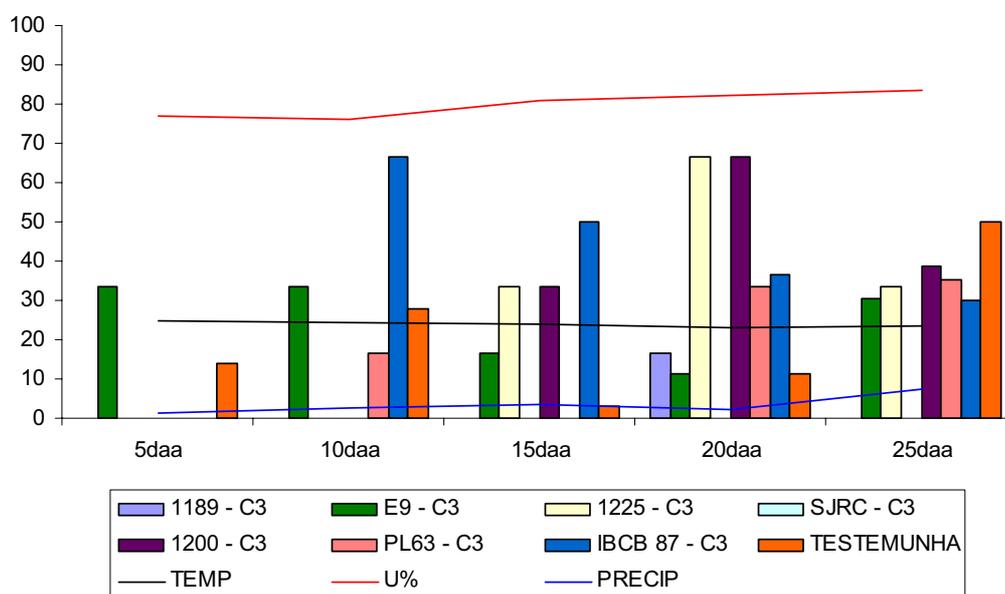


Figura 8. Porcentagem média de mortalidade confirmada atingida pelos isolados na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios/mL, acompanhados de variáveis climáticas.

Segundo Steinhaus (1946), para o desenvolvimento de doenças, as condições ambientais são fundamentais, principalmente em termos de temperatura e umidade relativa. Alta umidade relativa é necessária para germinação e rápido desenvolvimento dos esporos. A formação de esporos sobre insetos mortos é retardada ou não acontece quando as condições ambientais são demasiadamente secas. Embora o ótimo de temperatura varie com a espécie do fungo, normalmente a faixa de desenvolvimento ótimo está entre 20 e 30°C. A densidade populacional do hospedeiro e a quantidade de luz também se constituem em fatores importantes para o desenvolvimento das epizootias.

Ao analisarmos a Tabela 10, é possível verificarmos que os valores de umidade relativa (%) médios foram crescentes ao longo do período experimental do teste 1, atingindo amplitude de 7,6%. Tal fato pode ter favorecido o melhor desempenho geral dos isolados em todas as concentrações aos 25daa, quando também a média de precipitação foi mais elevada nos 5 dias que antecederam esta avaliação. Aos 5 e 10daa, verificou-se mal desempenho de todos os isolados testados, o que coincide com momentos de baixa umidade relativa média (%) antecedendo as avaliações.

Tabela 10. Dados climatológicos médios ocorridos nos intervalos de avaliações durante o período experimental do teste 1.

	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)	%U
5daa	1.2	24.7	76.8
10daa	2.5	24.4	75.9
15daa	3.5	23.7	81.0
20daa	2.3	22.9	82.0
25daa	7.2	23.6	83.5
Média geral	3.3	23.9	79.8

Alves et al. (2002), estudando o controle biológico do percevejo-de-renda da seringueira com o fungo *Sporothrix insectorum*, chegaram à eficiência de 99,7% em campo. Entretanto, a concentração utilizada foi de  $1 \times 10^{12}$  esporos/mL, bem maior do que as avaliadas neste estudo. Ainda, o trabalho não faz referência ao isolado utilizado nem a testes de confirmação de morte, podendo esta eficiência não ser decorrente apenas da ação do fungo.

Alves (1986) relata que, para que haja uma epizootia como a que ocorreu no experimento realizado por Alves et al. (2002), é necessário que a população da praga esteja elevada para favorecer a disseminação do parasita na plantação; haja uma dispersão do inseto contaminado na área; o patógeno apresente uma alta virulência, alta capacidade de reprodução e capacidade de sobrevivência no ambiente.

#### 4.3.2 Teste número 2

O teste número 2 foi realizado entre os dias 3 e 27 de novembro de 2005, no mesmo local utilizado para o teste 1. A Tabela 11 apresenta os resultados médios percentuais de mortalidade confirmada da praga *Leptopharsa heveae* obtidos no período.

Tabela 11: Porcentual médio de mortalidade confirmada de *L. heveea* durante o período experimental do teste 2.

5 daa		10 daa		15 daa		20 daa		25daa	
ISOLADOS	MCON								
1189 - C2	50a	1189 - C3	83a	PL63 - C3	83a	E9 - C2	75a	E9 - C2	61a
1189 - C1	39a	E9 - C2	33b	E9 - C3	72a	E9 - C3	63a	IBCB87 - C2	56a
E9 - C3	33a	PL63 - C3	25b	E9 - C2	67a	SJRC - C2	56a	PL63 - C3	55a
E9 - C2	25a	1200 - C3	23b	1189 - C3	40b	1189 - C3	54a	1189 - C3	50a
1189 - C3	20a	E9 - C3	20b	SJRC - C3	33b	IBCB87 - C3	53a	PL63 - C1	50a
SJRC - C3	17a	1189 - C2	17b	IBCB87 - C3	15c	1189 - C2	44a	PL63 - C2	44a
1200 - C2	14a	1200 - C2	14b	IBCB87 - C1	4c	PL63 - C3	42a	IBCB87 - C3	37a
E9 - C1	7a	IBCB87 - C3	11b	1189 - C1	0c	E9 - C1	33a	1200 - C3	24b
IBCB87 - C3	6a	1189 - C1	0b	1189 - C2	0c	1200 - C3	24b	SJRC - C2	22b
IBCB87 - C1	5a	E9 - C1	0b	E9 - C1	0c	1200 - C1	7b	E9 - C3	19b
1225 - C1	0a	1225 - C1	0b	1225 - C1	0c	1225 - C2	7b	E9 - C1	17b
1225 - C2	0a	1225 - C2	0b	1225 - C2	0c	IBCB87 - C2	7b	1200 - C2	17b
1225 - C3	0a	1225 - C3	0b	1225 - C3	0c	SJRC - C3	6b	1189 - C2	11b
SJRC - C1	0a	SJRC - C1	0b	SJRC - C1	0c	1189 - C1	0b	1189 - C1	8b
SJRC - C2	0a	SJRC C2	0b	SJRC - C2	0c	1225 - C1	0b	SJRC - C3	8b
1200 - C1	0a	SJRC - C3	0b	1200 - C1	0c	1225 - C3	0b	IBCB87 - C1	8b
1200 - C3	0a	1200 - C1	0b	1200 - C2	0c	SJRC - C1	0b	1225 - C2	5b
PL63 - C1	0a	PL63 - C1	0b	1200 - C3	0c	1200 - C2	0b	1225 - C3	5b
PL63 - C2	0a	PL63 - C2	0b	PL63 - C1	0c	PL63 - C1	0b	1225 - C1	0b
PL63 - C3	0a	IBCB87 - C1	0b	PL63 - C2	0c	PL63 - C2	0b	SJRC - C1	0b
IBCB87 - C2	0a	IBCB87 - C2	0b	IBCB87 - C2	0c	IBCB87 - C1	0b	1200 - C1	0b
TEST	0a	TEST	0b	TEST	0c	TEST	0b	TEST	0b

daa = dias após aplicação da suspensão fúngica MCON = mortalidade confirmada

C1 = concentração 1 ( $1 \times 10^6$ ) C2 = concentração 2 ( $1 \times 10^7$ ) C3 = concentração 3 ( $1 \times 10^8$ )

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Para o isolado 1189, de *Metarhizium anisopliae*, é possível observar através da Tabela 11 um comportamento diferente do ocorrido durante o teste 1. Neste momento, foi a alta concentração que atingiu os melhores resultados de mortalidade confirmada, e não a concentração média, tendo chegado a 83% no décimo dia após aplicação da suspensão fúngica, quando o isolado apresentou-se estatisticamente superior aos demais, que não se diferenciaram. Apenas aos 5daa foi verificado melhor desempenho para a concentração média, sendo que  $1 \times 10^6$  conídios/mL não obteve bons resultados em momento algum.

Entretanto, de acordo com os resultados obtidos através do teste de agrupamento Scott-Knott para os percentuais de mortalidade confirmada ao longo do período experimental do teste 2, a avaliação realizada cinco dias após aplicação da suspensão fúngica não gerou diferenças estatísticas entre os tratamentos, o que leva a desconsideração do período. O mesmo ocorreu no teste 1 aos 10daa, podendo-se aplicar a mesma explicação.

O isolado E9, também representante de *M. anisopliae*, não apresentou resultados satisfatórios quando aplicado em baixa concentração, atingindo máximo de 33% de mortalidade confirmada aos 20daa, porém, ao ter o número de conídios/mL aumentado na suspensão para as concentrações média e alta, atingiu bons resultados, estando dentre os superiores tanto aos 15 como aos 20daa. Seu melhor desempenho foi obtido em concentração média, 75% de mortalidade confirmada aos 20 dias após aplicação da suspensão fúngica, embora igual estatisticamente aos 63% verificados para a alta concentração. Aos 25daa, este isolado voltou a se destacar, chegando ao melhor resultado dentre os testados, 61% de mortalidade confirmada.

De modo geral, E9 Ma obteve resultados favoráveis quando comparado aos demais isolados, assim como 1189 Ma.

Os isolados de *Sporothrix insectorum* utilizados neste experimento, SJRC e 1225, não obtiveram bons resultados de mortalidade confirmada nas condições do testadas. A Tabela 11 evidencia o mal desempenho do isolado 1225 ao longo de todo o experimento, já que seu melhor resultado foi de 7% de mortalidade confirmada aos 20 dias após aplicação da suspensão fúngica.

Quanto ao isolado SJRC Si, tido como padrão neste estudo, aos 10 daa não houve resultado significativo de mortalidade confirmada em nenhuma das concentrações testadas, resultado este que se manteve até o fim do período para a concentração baixa. Quando aplicado em média concentração, o isolado atingiu seu melhor desempenho, 56% de mortalidade confirmada aos 20daa, estando estatisticamente dentre os superiores e superando os valores obtidos pela alta concentração. O mesmo ocorreu aos 25 daa, quando a concentração média atingiu 22% e a alta apenas 8% de mortalidade confirmada. O melhor resultado conseguido com altas concentrações deste isolado foi obtido aos 15daa, porém, não satisfatório, 33%, e estatisticamente inferior aos demais tratamentos. Resultados semelhantes

ocorreram durante o teste 1 para este isolado, inclusive a não correlação direta entre os fatores concentração e mortalidade confirmada.

O fungo *Paecilomyces fumosoroseus* foi aqui representado pelo isolado 1200, também tido como padrão devido a sua larga utilização em seringais comerciais. Assim como ocorrido durante o teste 1, o isolado apresentou relação entre concentração e patogenicidade. Durante todo o período experimental foi a alta concentração a responsável pelos melhores resultados de mortalidade confirmada atingidos. Aos 10daa, a alta concentração possibilitou controle de 23% dos insetos alvo, enquanto que média e baixa chegaram a 14% e 0%, respectivamente. Estes resultados não são satisfatórios, e pioraram aos 15 daa, momento no qual todas as concentrações testadas foram totalmente ineficientes para o proposto. As duas últimas avaliações reforçam o comportamento patogênico do isolado, ambas resultando em 24% de mortalidade confirmada para a alta concentração, melhor resultado atingido pelo isolado, que durante o teste 1 chegou a 67% de mortalidade confirmada. Esta diferença de desempenho ocorrida entre os testes pode estar relacionada às condições climáticas distintas em cada momento.

O isolado PL63 Bb, diferentemente do ocorrido durante o período experimental do teste 1, apresentou resultados que evidenciam a eficácia do aumento de concentração para chegar a bons níveis de controle. Aos 10, 15 e 20 dias após aplicação da suspensão fúngica, as concentrações média e baixa não reduziram a população de *L. heveae*. Foi apenas aos 25daa que C1 e C2 apresentaram resultados, chegando a 50% e 44% de mortalidade confirmada e estando estatisticamente igual aos outros tratamentos tidos como superiores, e à alta concentração do mesmo isolado. Este resultado pode significar não a ineficiência da baixa concentração para este isolado, mas sim a necessidade de mais tempo para infectar os insetos de forma a causar sua morte. Já a alta concentração deste isolado esteve presente dentre os considerados superiores durante todo o período experimental do teste 1, variando a porcentagem de mortalidade confirmada obtida, entre 25% aos 10daa, e 83% aos 15daa. Em geral, o isolado apresentou bons resultados, desde que aplicado em altas concentrações.

Também de *Beauveria bassiana*, o isolado IBCB87 não obteve bom desempenho nas três primeiras avaliações, quando chegou a um máximo de 15% de mortalidade confirmada para a alta concentração. No entanto, aos 20 e 25 dias após aplicação

da suspensão fúngica, seu desempenho melhorou. A alta concentração de aplicação gerou bons resultados aos 20daa, com 53% de mortalidade confirmada e estatisticamente igual aos tratamentos mais eficientes, média e baixa concentrações permaneceram com baixos índices de controle do inseto alvo. Somente aos 25daa, a concentração média mostrou-se capaz de diminuir a população da praga e chegou a 56% de mortalidade confirmada, o que colocou o isolado como o segundo mais eficiente dentre os tratamentos, estando à frente inclusive da alta concentração para o mesmo isolado. Diferentemente do ocorrido durante o teste 1, o isolado não apresentou estabilidade de desempenho, tendo oscilado significativamente entre bons e maus resultados.

Quando comparados, os testes 1 e 2 apresentam comportamentos bastante diferenciados, inclusive quanto ao valor referência utilizado nos teste de laboratório. Durante o teste 1, nenhum tratamento chegou aos 80% de mortalidade confirmada. Entretanto, no teste 2, 1189 Ma e PL63 Bb, ambos em alta concentração, chegaram a 83% de MCON, o primeiro aos 10daa e o segundo aos 15daa. Mais uma vez, a diferenciação pode ter sido causada por variáveis climáticas.

A Tabela 12 apresenta as melhores concentrações de conídios/mL para cada isolado testado. Observa-se que, assim como no teste 1, a concentração média foi a que apareceu mais vezes, seguida pela alta. Neste teste, a concentração mais baixa não obteve o melhor resultado em nenhuma das avaliações realizadas.

Através da mesma Tabela, verifica-se que, assim como no teste 1, PL63 de *Beauveria bassiana* foi o isolado que atingiu o melhor nível de controle da praga em questão. Entretanto, na primeira ocasião este resultado foi alcançado pela baixa concentração, fato oposto ao ocorrido neste segundo momento. O fato pode ser explicado quando se considera as mortalidades confirmadas em cada situação, pois, na primeira ocasião, era de 72%, sendo inferior à atingida agora, 83%.

O mesmo bom desempenho foi atingido pelo isolado 1189 de *Metarhizium anisopliae* em alta concentração, que no teste anterior obteve seu melhor resultado em concentração média, porém com resultado bastante inferior aos 83% atuais.

Verifica-se que, embora no teste 1 estes isolados tenham apresentado seu melhor resultado em concentrações médias, as porcentagens de mortalidades confirmadas são inferiores àquelas atingidas pelos mesmos em altas concentrações no teste 2. Já o isolado

IBCB87 Bb, que no teste 2 chegou a porcentagem de mortalidade confirmada de 56% quando aplicado em média concentração, havia obtido apenas 50% no teste 1, mesmo com concentração alta de inoculo.

O melhor desempenho de SJRC Si foi muito semelhante nos dois testes, variando apenas quanto ao período pós aplicação.

O isolado 1200 Pf teve comportamento bastante diferente nos dois testes. Enquanto no primeiro chegou a 67% de mortalidade confirmada e ficou como segundo colocado entre os mais eficientes, neste momento do estudo não passou dos 24% de MCON, mesmo quando aplicado em alta concentração.

1225 Si também se mostrou bem menos eficiente nesta etapa, tendo caído de 50% de mortalidade confirmada no teste 1, aplicado em baixa concentração, para apenas 7% no teste 2, com concentração média.

De forma similar a este estudo, Tanzini (2002) concluiu que as eficiências de mortalidade são comumente observadas a partir dos 20 dias após aplicação da suspensão fúngica, e que os fungos *P. fumosorouseus*, *B. bassiana* e *M. anisopliae* são mais eficientes no controle de *L. heveae*, se comparados ao *S. insectorum*. Ambos, este estudo e o realizado por Tanzini (2002), contradizem os resultados apresentados por Celestino Filho & Magalhães (1986) que relataram ser o fungo *Sporothrix insectorum* o entomopatógeno mais promissor para o controle de *L. heveae*.

Tabela 12. Concentrações com melhores resultados médios de mortalidade confirmada para cada isolado testado.

ISOLADO	CONCENTRAÇÕES	MORTALIDADE CONFIRMADA	DIAS APÓS APLICAÇÃO
PL63	Alta	83%	15
1189	Alta	83%	10
E9	Média	75%	20
IBCB87	Média	56%	25
SJRC	Média	56%	20
1200	Alta	24%	20 e 25
1225	Média	7%	20

Na literatura existem vários trabalhos mostrando a eficiência de fungos em condições de campo, como o de Wright (1993), que avaliou a eficiência do micoinseticida Naturalis-L, a base de *Beauveria bassiana*, contra o bicudo *Anthonomus grandis*, e concluiu que as parcelas tratadas com o fungo foram tão produtivas quanto às pulverizadas com produtos químicos. Entretanto, na cultura da seringueira são escassos os trabalhos de controle microbiano. Junqueira et al. (1987) utilizaram *S. insectorum* para o controle de *L. heveae* e relataram que a concentração da suspensão conidial deve ser superior a  $10^7$  conídios/mL, resultados que se assemelham aos encontrados neste estudo, não só para *Sporothrix insectorum*, quando o controle foi mais efetivo quando altas concentrações de conídios foram aplicadas.

As análises de variância para o fator mortalidade confirmada em função do isolado e concentração de aplicação aos 5, 10, 15, 20 e 25daa para o teste 2 podem ser observadas no apêndice IV.

Sabendo-se da importância dos fatores climáticos e da influência por eles exercida sobre os resultados de eficiência de agentes de controle microbiano, as figuras 9, 10 e 11 apresentam, respectivamente, o desempenho dos isolados em cada uma das três concentrações avaliadas em função das variações climáticas ocorridas no período.

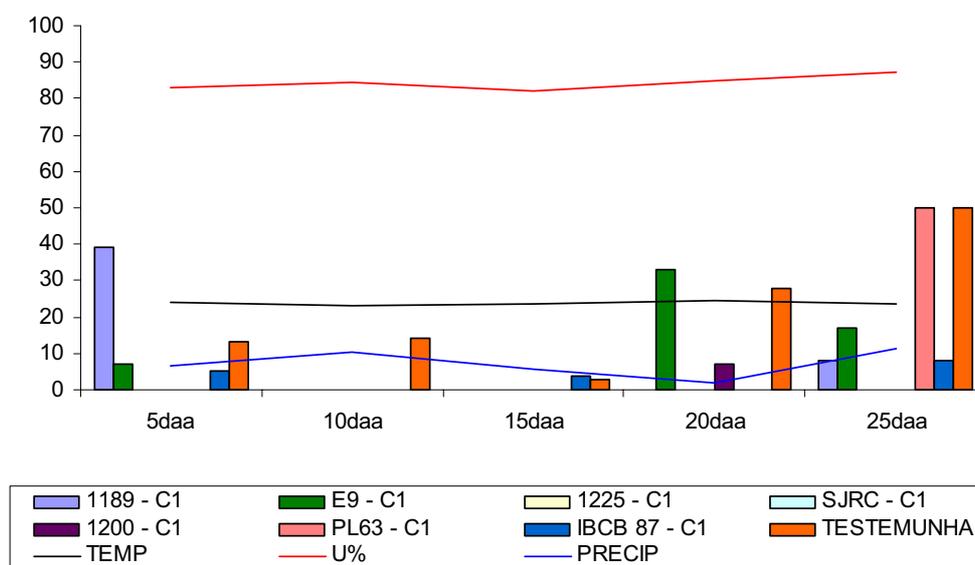


Figura 9. Porcentagem média de mortalidade confirmada atingida pelos isolados na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL, acompanhados de variáveis climáticas.

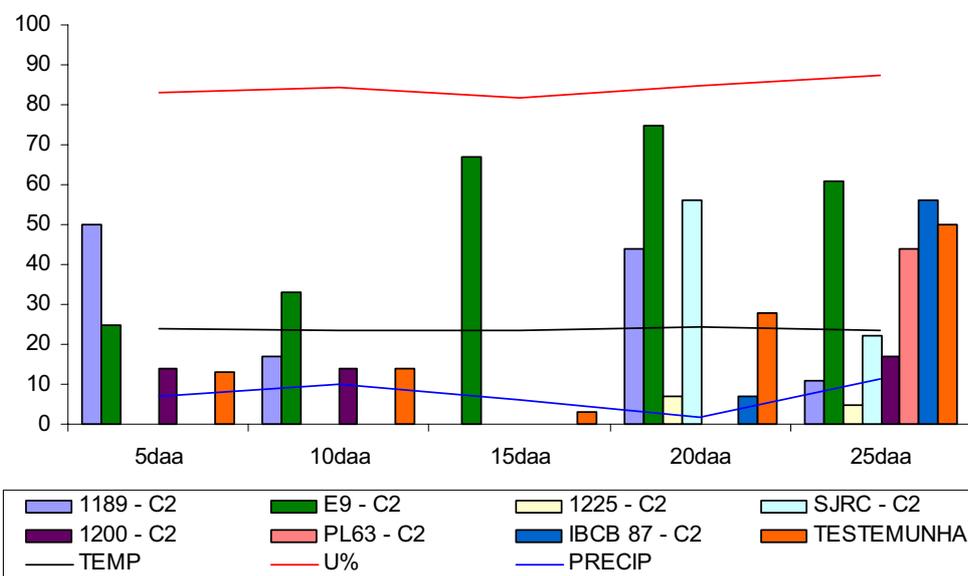


Figura 10. Porcentagem média de mortalidade confirmada atingida pelos isolados na concentração de  $1 \times 10^7$  conídios/mL, acompanhados de variáveis climáticas.

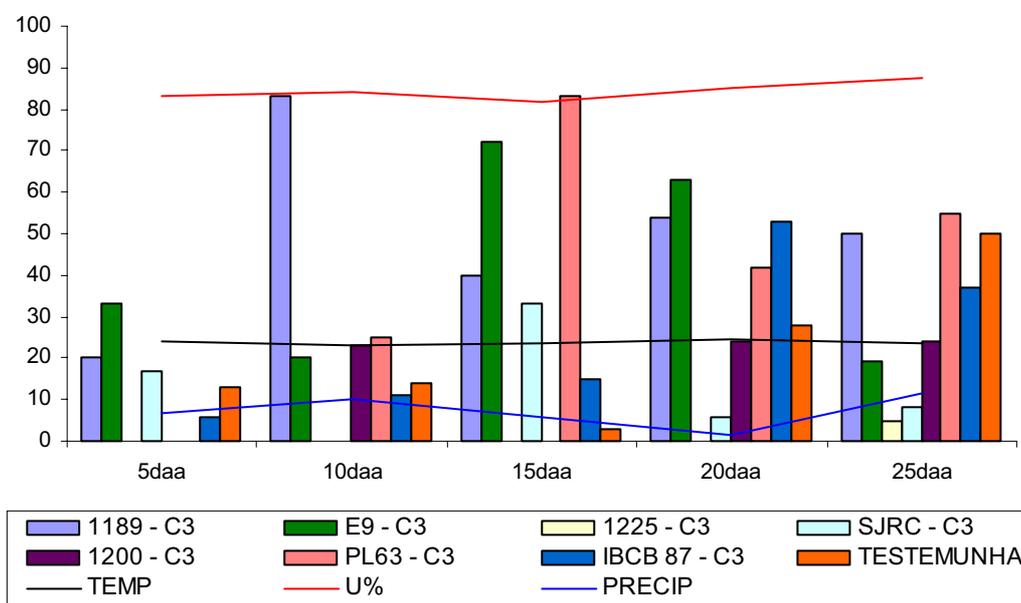


Figura 11. Porcentagem média de mortalidade confirmada atingida pelos isolados na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios/mL, acompanhados de variáveis climáticas.

A Tabela 13 permite observar que os valores médios de temperatura não variaram significativamente entre os testes 1 e 2, porém, valores de umidade relativa e precipitação apresentaram-se mais elevados no período de realização do teste 2, quando a precipitação média geral aumentou 3,9mm e a umidade relativa 4,5%. Esta variação climática pode ter sido responsável pelo melhor desempenho geral apresentado pelos isolados neste momento do estudo, quando, ao contrário do teste 1, alguns isolados atingiram mortalidades confirmadas da praga acima de 80%.

Os isolados PL63 Bb e 1189 Ma, que neste teste atingiram ótimos resultados aos 15 e 10daa, respectivamente, não se comportaram da mesma forma no teste anterior. O acontecimento pode ser explicado se os considerarmos fortemente influenciáveis por valores de umidade relativa e precipitação altos.

Tabela 13. Dados climatológicos médios ocorridos nos intervalos de avaliações durante o período experimental do teste 2.

	Precipitação (mm)	Temperatua (°C)	%U
5daa	6.8	23.9	83.1
10daa	10.2	23.3	84.3
15daa	5.9	23.7	81.9
20daa	1.7	24.4	84.9
25daa	11.5	23.5	87.5
média geral	7.2	23.7	84.3

## 5 CONCLUSÕES

### 5.1 Seleção de isolados

O grau de patogenicidade entre isolados é bastante variável, mesmo em se tratando do mesmo fungo.

O isolado E9, de *Metarhizium anisopliae*, é o mais patogênico dentre os avaliados, causando mortalidade de até 94% dos insetos em 6 dias. Em seguida estão 1189 (*Metarhizium anisopliae*), PL63 (*Beauveria bassiana*), IBCB87 (*Beauveria bassiana*), 1225 (*Sporothrix insectorum*), 307 (*Beauveria bassiana*) e 1175 (*Metarhizium anisopliae*), em ordem de patogenicidade.

Os isolados SJRC e 1200, de *Sporothrix insectorum* e *Paecilomyces fumosoroseus*, respectivamente, utilizados em escala industrial por algumas empresas, causam mortalidade inferior a 80% para *Leptopharsa. heveae*.

### 5.2 Produção e viabilidade de conídios

O isolado 1200, de *Paecilomyces fumosoroseus*, apresenta os melhores resultados de produção e viabilidade de conídios dentre os testados.

O isolado 1189, de *Metarhizium anisopliae*, apresenta os piores resultados de produção de conídios dentre os testados, cerca de 10 vezes menos produtivo que o 1200.

O isolado SJRC, de *Sporothrix insectorum*, apresenta o pior desempenho quanto ao número de conídios viáveis produzidos.

Não é possível estabelecer uma relação direta entre patogenicidade e produtividade de conídios viáveis para os isolados pertencentes a este estudo.

### 5.3 Avaliação de eficiência em condições de campo

Precipitação e umidade relativa são fatores condicionantes ao bom desempenho dos isolados testados neste estudo.

PL 63, de *Beauveria bassiana*, apresenta os melhores resultados de mortalidade confirmada, até 83%. Ainda, mostra-se menos influenciado por variações de umidade relativa e precipitação.

Os isolados testados não atingem percentuais de mortalidade confirmada acima de 80% quando a umidade relativa é menor que 80%, sendo PL 63, de *Beauveria bassiana*, o melhor nestas condições, chegando a 72% de controle do inseto alvo.

Quando a umidade relativa está acima de 80%, 1189, de *Metarhizium anisopliae*, chega a 83% de eficiência, porém, quando a mesma encontra-se abaixo deste valor, o isolado atinge apenas 44% de mortalidade, mostrando-se bastante dependente das condições ambientais.

A concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL mostra-se muito baixa, sendo capaz de comprometer a eficiência dos isolados.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. E. M. & BATISTA FILHO , A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. Ver. Biotecnol. Cienc. Desenvolvimento., v. 20, n.2, p.31-33, 2001.

ALVES, R.T.; SILVA, E. A. F.; SOUSA, K. M.; OLIVEIRA, M. A. S.; PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C; JUNQUEIRA, N. T. V.; ICUMA, I. M. Controle biológico do percevejo-de-renda da seringueira através de micoinseticida formulado em óleo emulsionável. 2002. <http://bbeletronica.cpac.embrapa.br>. 27/11/2006. 11:18.

ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2º ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. Ed. Manoele Ltda. São Paulo, 1986, 407p.

BATISTA FILHO, A.; BASTOS CRUZ, B. P.; SAAD, C. M. Produção de fungos entomopatogênicos a nível de propriedade agrícola. Informação técnica nº26. Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Coordenadoria da Pesquisa Agropecuária. Instituto Biológico. Campinas, 1995. 3p.

CELESTINO FILHO, P.; MAGALHÃES, F.E. L. Ocorrência do fungo *Sporothrix insectorum* Hoog & Evans parasitando a mosca de renda (*Leptopharsa heveae* Drake & Poor) em seringal de cultivo. Manaus, EMBRAPA – CNPSD, 1986. 2p. (EMBRAPA – CNPSD, Pesquisa em andamento, 42).

FARIA, M. R. & MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: Situação atual e perspectivas. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, nº22. p. 18-21, 2001.

FERNANDES, P. M.; LECUONA, R. E.; ALVES, S. B. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, a broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari 1867) (Coleoptera: Scolytidae). Ecosistema, nº 10. p. 176-182, 1985.

FONSECA, F. S. Exigências térmicas e distribuição vertical de *Leptopharsa heveae* Drake & Poor, 1935 (Heteroptera: Tingidae) em seringueira. Jaboticabal: 2001. 89p. [Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP].

GASPAROTTO, L.; SANTOS, A. F.; PEREIRA, S. C. R.; FERREIRA, F. A. Doenças da seringueira no Brasil, p.10, 1997.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PINHEIRO, E.; ALVES, R. T.; CELESTINO FILHO, P.; PEREIRA, A. V.; OLIVEIRA, M. A.; FIALHO, J. F.; GASPAROTTO, L. Controle biológico do percevejo-de-renda (*Leptopharsa heveae* Drake & Poor) em seringais de cultivo. EMBRAPA Cerrados. Planaltina, D. F. (Circular Técnica, 03), 1999. 30p.

JUNQUEIRA, N. T. V.; LIMA, M. M. I. P.; MARTINS, M. A. M.; MAGALHÃES, F. E. L. Isolamento e cultivo do fungo *Sporothrix insectorum* (Hoog & Evans), a ser utilizado para o controle da mosca-de-renda da seringueira. Manaus: EMBRAPA, CNPSD, 1987. 4p. (EMBRAPA/CNPSD. Comunicado Técnico, 56).

KLEESPIES, R. G., ZIMMERMANN, G. Efeito de aditivo na produção, viabilidade e virulência de blastosporos de *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci. Technol.*, v. 4, p. 19-309, 1994.

LOUREIRO, E. S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; PESSOA, L. G. A. Produção de isolados de *Metarhizium anisopliae* selecionados para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (STAL, 1854). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 469 – 472, 2005.

LOUREIRO, E. S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; LAMAS, C. Efeito da temperatura e da luminosidade no desenvolvimento do fungo *Sporothrix insectorum* (Hoog & Evans). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 79-83, 2002.

MOINO JUNIOR, A. Utilização de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de pragas de grãos armazenados. Piracicaba, 1993. 100p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

MOREIRA, I. P. S. A *Leptopharsa heveae* (Drake & Poor) e seus danos às mudas de *Hevea brasiliensis* (Muell.). Dissertação (Mestrado em Ciências, Engenharia Florestal) Universidade do Paraná, Curitiba, PR, 1985. 48p.

MURPHY, S. T. & MOORE, D. Biological control of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), previous program and possibilities for the future. *Biocontrol news and information*, nº 11 p. 107-117, 1990.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 34, n. 1, 2005

ORTOLANI, A. A. Aptidão climática para cultura da seringueira em Minas Gerais. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 11 (121): 8-12, 1985.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D., AZEVEDO, J. L. Variabilidade natural do fungo entomopatogênico *Beauveria bassina*. Arq. Biol. Tecnol., v.3, p. 72-657, 1990.

PAPECEK, D.; SMITH, D. Manejo integrado de pragas nos citruss: Linhas gerais de um programa comercial de MIP em Queensland, Austrália. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITRUS – MIP, 3, Bebedouro, p. 153 – 175, 1994.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; FIALHO, J. F.; JUNQUEIRA, N. T. V. Escolha de área para plantio de seringueira no cerrado. Guia Técnico do Produtor Rural. EMBRAPA Cerrados. Planaltina, DF, 2002. v. 28. 2p.

RANGEL, D. E. N. Virulência de *Aphanocladium album* e *Verticillium lecanii* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) para o percevejo-de-renda da seringueira *Leptopharsa heveae* (Hemíptera: Tingidae) e comportamento de *V. lecanii* em meio de cultura. Dissertação (Mestrado em microbiologia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP, 2000. 70p.

SCOMPARIN, A. L. X. Bioecologia de percevejo-de-renda (*Leptopharsa heveae* Drake & Poor, 1935) (Hemíptera: Heteroptera, Tingidae) e a avaliação do fungo entomopatogênico *Sporothrix insectorum* (Hoog & Evans). Dissertação de Mestrado, UNESP, Botucatu, SP, 2000. 51p.

SCOMPARIN, C. H. J. Estudo dos crisopídeos (Neuroptera, Chrysopidae) em seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.), aspectos biológicos e potencial de controle biológico de *Leptopharsa heveae* Drake & Poor (Hemíptera, Tingidae). Dissertação de Mestrado, UNESP, Jaboticabal, SP, 1997. 173p.

STEINHAUS, E. A. Insect Microbiology. New York, Comstock Publishing Company, 1946. 763p.

TANZINI, M. R. Controle do percevejo de renda da seringueira (*Leptopharsa heveae*) com fungos entomopatogênicos. 2002. Tese (Doutorado em Agronomia, Área de Concentração

em Entomologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2002.

TANZINI, M. R. Manejo integrado do percevejo de renda da seringueira e ácaros na *heveae*. In: I CICLO DE PALESTRAS SOBRE A HEVEICULTURA PAULISTA. Barretos-SP, 1998. Anais...p. 31.

TANZINI, R. M. & LARA, F. M. Biologia do percevejo de renda da seringueira *Leptopharsa heveae* Drake & Poor (Heteroptera: Tingidae). *Ecosistema*, v. 23, p. 65 – 67. 1996.

VENDRAMIN, J. D. Pragas da seringueira no estado de São Paulo. In: Simpósio sobre a cultura da seringueira no estado de São Paulo, 1. 1986. Piracicaba, Resumos... p. 173-84.

VIDAL, C.; OSBORNE, L. S.; LACEY, L. A.; FARGUES, J. Effect of host plant on the potencial of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for controlling the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses. *Biological control*, v. 12, n. 3. p. 191-199, 1998.

WILCKEN, C. F.; FURTADO E. L.; SILVEIRA, A. P. Mosca de renda em São Paulo. Comunicado técnico, 2p., 1995.

WRAIGHT, S. P.; CARRUTHERS, R. I.; BRADLEY, C. A.; JARONSKI, S. T.; LACEY, L. A.; WOOD, P.; WRAIGHT, S. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 71, n. 3, p.217-226, 1998.

WRIGHT, J. E. Control of the boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) with Naturalis-L: a mycoinsecticide. *Journal of Economic Entomology*, v. 86, n. 5, p. 1355-1358, 1993.

[www.anba.com.br/noticia.php?id=10992](http://www.anba.com.br/noticia.php?id=10992) 24/06/2006 – 14hs

## APÊNDICE I

Análise de variância para o fator mortalidade confirmada em função do isolado utilizado na seleção em laboratório.

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Isolado	27	58457,34	2165,086	14,92	0.0000
Resíduo	112	16252,80	145,1143		
<b>Total</b>	<b>139</b>	<b>74710,14</b>			

## APÊNDICE II

Análise de variância para o fator produção de conídios/mL.

<b>FONTES DE VARIÇÃO</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	6	355,2440	59,20734	4,31	0,0114
Resíduo	14	192,3333	13,73810		
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>547,5774</b>			

Análise de variância para o fator viabilidade de conídios produzidos pelos isolados testados.

<b>FONTES DE VARIÇÃO</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	6	2508,572	418,0952	8,45	0,0005
Resíduo	14	692,6667	49,47620		
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>3201,238</b>			

## APÊNDICE III

Análises de variância para o fator mortalidade confirmada em função do isolado e concentração de aplicação aos 5, 10, 15, 20 e 25daa, respectivamente, durante o teste 1.

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	4023,569	191,5985	0,91	0
Resíduo	44	9259,259	210,4377		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>13282,83</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	21941,29	1044,823	1,81	0,488
Resíduo	44	25416,66	577,6513		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>47357,95</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	29710,64	1414,793	1,69	0,716
Resíduo	44	36898,14	838,5942		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>66608,79</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	28708,22	1367,058	1,43	0,1556
Resíduo	44	41996,97	954,4766		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>70705,20</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	22991,29	1094,823	1,65	0,802
Resíduo	44	29181,69	663,2202		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>52172,97</b>			

## APÊNDICE IV

Análises de variância para o fator mortalidade confirmada em função do isolado e concentração de aplicação aos 5, 10, 15, 20 e 25daa, respectivamente, durante o teste 2.

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	13868,34	660,3961	1,49	0,1299
Resíduo	44	18461,34	442,3031		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>33329,68</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	23697,49	1128,452	3,08	0,0008
Resíduo	44	16116,25	366,2784		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>39813,74</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	45197,55	2152,264	5,87	0
Resíduo	44	16140,54	366,8305		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>61338,09</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	41954,93	1997,854	3,28	0,0004
Resíduo	44	26772,02	608,4551		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>68726,95</b>			

<b>Fontes de Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>SIG</b>
Tratamento	21	28055,57	1335,979	2,33	0,0090
Resíduo	44	25230,75	573,4261		
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>53286,32</b>			