

DESEMPENHO DO FUNGO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. E DO ÓLEO DE  
MAMONA PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:  
PLUTELLIDAE)

por

VANDO MIOSSI RONDELLI

(Sob Orientação do Professor Dirceu Pratissoli)

RESUMO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) é considerada a principal praga no mundo nos sistemas produtivos de brássicas. Devido a grande utilização de agrotóxicos para o seu controle, métodos alternativos para o manejo dessa praga se fazem necessários, e o uso do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e óleo vegetal apresentam-se como alternativas. Desta forma, 17 isolados desse fungo foram estudados objetivando selecionar isolados para ser utilizado no controle da traça-das-crucíferas. O formulado comercial Boveril<sup>®</sup> PM (isolado ESALQ-PL63) também foi incluído nos bioensaios. Entre os isolados avaliados, os isolados CCA/UFES-4, 18, 31 e 35 foram selecionados por causarem mortalidade confirmada de larvas do segundo instar superior a 90%. O isolado padrão ESALQ-447 e o formulado comercial (Boveril<sup>®</sup> PM) tiveram resultados semelhantes e também foram selecionados. Adicionalmente, os isolados CCA/UFES-4, 18, 31, ESALQ-447 e o Boveril<sup>®</sup> PM foram considerados eficientes para o controle da traça-das-crucíferas, mediante os resultados das estimativas da CL<sub>50</sub>. O óleo de mamona foi avaliado quanto a sua eficiência e estabilidade, como também a sua compatibilidade com *B. bassiana* sobre *P. xylostella*. O óleo de mamona com 1 dia proporcionou mortalidade de 53,9% para *P. xylostella*. As atividades inseticidas, no entanto, foram instáveis ao longo do

tempo, sendo necessários estudos adicionais. Os resultados também indicam compatibilidade entre o óleo de mamona e *B. bassiana*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Traça-das-crucíferas, manejo integrado de pragas, *Ricinus communis*, controle microbiano.

PERFORMANCE OF THE FUNGUS *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. AND CASTOR  
BEAN OIL FOR *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) CONTROL

by

VANDO MIOSSI RONDELLI

(Under the Direction of Professor Dirceu Pratissoli)

ABSTRACT

The diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) is considered the most important pest of brassicas productive systems. Due to the high use of pesticides for DBM control, alternative methods to be applied against DBM are necessary. The use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and vegetable oils present as promising alternatives to control DBM. Thus, 17 isolates of *B. bassiana* were studied aiming to select isolates to be used for DBM control. The commercial formulation Boveril<sup>®</sup> WP (isolate ESALQ-PL63) was also included in the bioassays. Among the evaluated isolates, the isolates CCA/UFES-4, 18, 31 e 35 were selected because they caused mortality confirmed for 2nd-instar larvae greater than 90%. The standard isolate ESALQ-447 and the commercial formulation (Boveril<sup>®</sup> WP) had similar results and were also selected. In addition, the isolates CCA/UFES-4, 18, 31, ESALQ-447 and Boveril<sup>®</sup> WP were considered efficient for DBM control based on the lethal concentrations LC<sub>50</sub>-values. The castor bean oil has its efficacy and stability evaluated, as its compatibility with *B. bassiana* upon *P. xylostella* as well. The castor bean oil 1-d old caused 53.9% mortality for *P. xylostella*. The insecticidal activities, however, were unstable over time

which requires further studies. The results also indicate compatibility between the oil of castor bean and *B. bassiana*.

**KEY WORDS:** Diamondback moth, integrated pest management, *Ricinus communis*, microbial control.

DESEMPENHO DO FUNGO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. E DO ÓLEO DE  
MAMONA PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:  
PLUTELLIDAE)

por

VANDO MIOSSI RONDELLI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2010

DESEMPENHO DO FUNGO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. E DO ÓLEO DE  
MAMONA PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:  
PLUTELLIDAE)

por

VANDO MIOSSI RONDELLI

Comitê de Orientação:

Dirceu Pratissoli – UFES

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Ricardo Antonio Polanczyk – UFES

DESEMPENHO DO FUNGO *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. E DO ÓLEO DE  
MAMONA PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:  
PLUTELLIDAE)

por

VANDO MIOSSI RONDELLI

Orientador: \_\_\_\_\_  
Dirceu Pratissoli – UFES

Examinadores: \_\_\_\_\_  
Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

\_\_\_\_\_  
Jorge Braz Torres – UFRPE

\_\_\_\_\_  
Elza Áurea de Luna Alves Lima – UFPE

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antonio Rondelli e Davina Maria Miossi Rondelli, pelos ensinamentos, apoio e incentivo.

Aos meus irmãos, Wagner Miossi Rondelli, Viviane Miossi Rondelli e Vinício Miossi Rondelli, pela amizade e ajuda.

À minha namorada, Patrícia de Sousa Vicente, que sempre me apóia, incentiva e faz o que está ao seu alcance para me ajudar.



## AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar comigo em todos os momentos, me dando forças para eu alcançar os meus objetivos.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de realizar este curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI), situado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES), em Alegre-ES por ter me fornecido todo o suporte para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, professor Dirceu Pratissoli, pelo apóio e ensinamentos acadêmicos transmitidos.

Aos meus co-orientadores, professores Edmilson Jacinto Marques e Ricardo Antonio Polanczyk, pelas valiosas sugestões.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE pela competência e dedicação em passar suas experiências profissionais aos seus alunos, especialmente aos professores Jorge Braz Torres e Edmilson Jacinto Marques, com os quais tive um convívio maior.

Aos professores Jorge Braz Torres, Edvaldo Fialho dos Reis, Hugo José Gonçalves dos Santos Junior e Ulysses Rodrigues Vianna, pelo apoio técnico nesse trabalho.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal do CCA/UFES, pela amizade e troca de experiências.

Aos estagiários do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI, especialmente aos que de alguma forma me auxiliaram.

Aos amigos de república, Robson José do Nascimento do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia e Eduardo Moreira Barros, pela ótima receptividade e convívio.

Aos amigos do PPGEA/UFRPE, Flanklin Magliano da Cunha, Adauto Tavares, Maria Cleoneide da Silva “Cleo”, Lilian Maria da Soledade Ribeiro, Eliana Maria dos Passos, Cinthia Conceição Matias da Silva e a todos os outros com quem tive um ótimo convívio.

Os amigos do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Jean Herllington Araújo Monteiro e Cícero Nicolini, pelo auxílio na área de informática.

Aos funcionários, Darci e Romildo da secretaria de fitossanidade do PPGEA/UFRPE e Leonardo, Carlota e Carlos Magno do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI, pelas inúmeras ajudas prestadas.

Ao chefe do Laboratório de Fitopatologia do CCA/UFES, professor Fábio Ramos Alves, a professora Lilian Katiany Castello Rabelo e a funcionária Regina Gonçalves dos Santos Oliveira, pela permissão de utilização de suas instalações.

À família Peixoto (namorada), pela ajuda, amizade e convívio agradável.

## SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	01
LITERATURA CITADA.....	06
2 SELEÇÃO DE ISOLADOS DE <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. PARA O CONTROLE DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) ....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT .....	12
INTRODUÇÃO.....	13
MATERIAL E MÉTODOS .....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
AGRADECIMENTOS .....	23
LITERATURA CITADA .....	23
3 EFICIÊNCIA E ESTABILIDADE DO ÓLEO DE MAMONA E SUA COMPATIBILIDADE COM <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. PARA O CONTROLE DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) ....	31
RESUMO.....	32
ABSTRACT .....	33
INTRODUÇÃO.....	34
MATERIAL E MÉTODOS .....	35

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
AGRADECIMENTOS .....	43
LITERATURA CITADA .....	43

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) é considerada a principal praga em todas as regiões do mundo que cultivam espécies da família Brassicaceae. Isso devido ao seu alto potencial reprodutivo e ciclo curto, o que lhe proporciona várias gerações por ano (Talekar & Shelton 1993, Castelo Branco & Gatehouse 2001, Castelo Branco & Medeiros 2001, Ulmer *et al.* 2002, Torres *et al.* 2006).

A maior intensidade de infestação de *P. xylostella* ocorre nos meses de menor precipitação, sendo que o período crítico de ataque da praga, em repolho, ocorre na formação da cabeça (Czepak *et al.* 2005). Os prejuízos ocasionados pela traça-das-crucíferas são relacionados à alimentação das larvas, as quais perfuram as folhas causando sua desvalorização, além de retardar o crescimento da planta e ocasionar conseqüentemente sua morte caso medidas de controle não forem adotadas (Barros *et al.* 1993, Monnerat *et al.* 2004), comprovando a necessidade de se estudar métodos para o seu controle.

*P. xylostella* é um microlepidóptero de coloração parda. A fêmea deposita os ovos, de coloração esverdeada, na página inferior das folhas, isolados ou em grupo de dois a três, propiciando a eclosão das larvas com 3,3 dias. Estas penetram no interior da folha passando a se alimentar do parênquima. O ciclo larval ocorre em pouco mais de oito dias, quando empupam e se transformam em adultos em 4,3 dias (Temp.:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e 14h de fotofase) (Gallo *et al.* 2002, Torres *et al.* 2006).

Plantas da família Brassicaceae (couve, couve-flor, repolho e brócolis) ocorrem em climas temperados e tropicais, representando um importante grupo (Talekar & Shelton 1993). O seu

cultivo é explorado geralmente por pequenos produtores (Filgueira 2000, Ferreira *et al.* 2003). O repolho é uma espécie anual e herbácea. A cabeça é formada pelo embricamento das folhas, sendo a parte comestível da planta. É cultivado tanto para subsistência quanto para comercialização (Medeiros *et al.* 2004). A couve-flor é rentável para os produtores especialmente na entressafra. Com a redução populacional de *P. xylostella* é possível incrementar ainda mais os lucros (Dias *et al.* 2004, Camargo *et al.* 2009).

Entre as medidas de controle, o método químico é o mais adotado para o controle de *P. xylostella*, sendo os piretróides e os fosforados, os grupos mais utilizados (Castelo Branco & Medeiros 2001, Monnerat *et al.* 2004). Quando utilizado sem critérios, os agrotóxicos podem selecionar populações resistentes desta praga às moléculas sintéticas (Melo *et al.* 1994, Godonou *et al.* 2009). A utilização de agrotóxicos para o controle de insetos-praga ocasiona ainda outros problemas. Dentre eles, destacam-se danos aos inimigos naturais, polinizadores e animais silvestres, além dos efeitos tóxicos ao homem no momento da aplicação e por resíduos deixados nos alimentos e no ambiente (Castelo Branco *et al.* 2003, Monnerat *et al.* 2004, Silva *et al.* 2009). Devido a estes problemas surgiu o Manejo Integrado de Pragas (MIP), que visa à manutenção das pragas abaixo do nível de dano econômico, utilizando para isso, métodos alternativos de controle, como também a associação desses métodos (Gallo *et al.* 2002).

O manejo da traça-das-crucíferas pode ser feito lançando mão de diversos métodos. Dentre eles, o controle biológico oferece uma solução para o controle sustentável da traça-das-crucíferas (Godonou *et al.* 2009). Esse método pode ser feito utilizando o predador de ovos e larvas *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neu.: Chrysopidae) (Almeida *et al.* 2009) ou diversos parasitóides (Castelo Branco & Medeiros 2001) como o de ovos de espécies do gênero *Trichogramma* Westwood (Hym.: Trichogrammatidae) (Pereira *et al.* 2007, Pratisoli *et al.* 2008) e o parasitóide de larvas e pupas *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hym.: Eulophidae), importante

agente de controle natural em várias regiões produtoras (Ferreira *et al.* 2003, Silva-Torres *et al.* 2009).

O controle biológico utilizando entomopatógenos também vem apresentando resultados significantes, como os observados utilizando a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Medeiros *et al.* 2006). Contudo, já se tem conhecimento de caso de populações resistentes da traça-das-crucíferas (Castelo Branco *et al.* 2003) e também de *Heliothis virescens* (Fabr.) (Lep.: Noctuidae) (Jurat-Fuentes & Adang 2006) a essa bactéria. Outra opção para o manejo de *P. xylostella* é a utilização de fungos entomopatogênicos (Silva *et al.* 2003, Godonou *et al.* 2009).

Os fungos entomopatogênicos são responsáveis por cerca de 80% das doenças de insetos e foram os primeiros patógenos de insetos a serem utilizados no controle microbiano. Hoje, esta é uma opção que apresenta potencial de utilização sobre diversas espécies. Existem importantes projetos de controle de pragas no Brasil envolvendo estes entomopatógenos, tais como, *Mahanarva posticata* (Stal) (Hem.: Cercopidae), *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hem.: Cercopidae), *Deois flavopicta* (Stal) (Hem.: Cercopidae), *Zulia entreriana* (Berg) (Hem.: Cercopidae), *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Iso.: Termitidae), *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Col.: Curculionidae), *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col.: Scolytidae), entre outros (Alves 1998b, Neves & Hirose 2005).

*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é um dos fungos entomopatogênicos mais conhecidos no mundo. Trata-se de um organismo encontrado na natureza causando doença e morte de vários insetos. Pesquisas têm demonstrado que este fungo é um agente capaz de infectar insetos em diferentes estádios de desenvolvimento, causando elevados índices de mortalidade, podendo chegar a 100% em condições de laboratório (Alves 1998b, Rohde *et al.* 2006). Este fungo também pode causar efeitos subletais a larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lep.: Crambidae),

diminuindo a viabilidade larval (56,6%), a fecundidade (33,6%), a viabilidade de ovos (48,6%) e a longevidade de adultos (Oliveira *et al.* 2008).

Os patógenos de insetos apresentam uma série de vantagens em relação aos agrotóxicos: podem se multiplicar e se dispersar no ambiente afetando insetos não atingidos diretamente pela aplicação; dificilmente ocorrerá caso de resistência de pragas, pois elas certamente já a desenvolveram ao máximo; possibilidade de comercialização dos alimentos produzidos por preços mais elevados; podem ser empregados juntamente com inseticidas menos agressivos ao meio ambiente; não poluem o ambiente e não são tóxicos ao homem e a outros animais; e os gastos com registros são de 80 a 90% menores (Alves 1998a).

Estudos em laboratório mostraram que *B. bassiana* é virulento a *P. xylostella*, proporcionando concentração letal (CL<sub>50</sub>) para o isolado ESALQ-447 de  $8,6 \times 10^6$  conídios/mL (Silva *et al.* 2003). Em teste de campo, *B. bassiana* controlou a traça-das-crucíferas, proporcionando menor número de larvas vivas por planta e maior peso médio das cabeças de repolho de aproximadamente três vezes (Godonou *et al.* 2009).

Com o passar dos anos, algumas plantas evoluíram e passaram a sintetizar substâncias nocivas a herbívoros, por serem tóxicas ou atuarem como repelentes. Essas substâncias podem ser extraídas dos tecidos vegetais que a contém por destilação, prensagem ou utilizando solventes orgânicos, como álcool, éter ou acetona, sendo então denominados de inseticidas naturais podendo ser utilizados na agricultura objetivando o controle de insetos-praga (Savy Filho 2001, Wiesbrook 2004, Lima 2009).

Os inseticidas naturais apresentam algumas vantagens, como a sua degradação rápida sob condições ambientais, sendo menos persistentes, o que reduz seu impacto sobre organismos benéficos e não-alvo; possuem ação rápida, matando os insetos rapidamente ou fazendo com que eles não se alimentem; e geralmente possuem baixa toxicidade a mamíferos (Wiesbrook 2004).



A utilização de plantas inseticidas surgiu como um método alternativo de controle de pragas, sendo os extratos naturais, como o óleo de mamona, obtido pela prensagem das sementes, uma opção que vem proporcionando resultados importantes. Lima (2009) obteve mortalidade de aproximadamente 95% de larvas de primeiro instar de *Diaphania nitidalis* Cramer (Lep.: Crambidae) imergindo discos foliares de abóbora em óleo de mamona na concentrações de 1%. O extrato do fruto verde de mamoneira na concentração de 10% em dieta artificial proporcionou bioatividade, no aumento da duração larval e pupal e diminuição da viabilidade larval e do peso pupal de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) (Santiago *et al.* 2008).

O tratamento de sementes de feijão com 5 e 10% de sementes de mamona triturada foi eficiente no controle da infestação por *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Col.: Bruchidae) durante 180 dias de armazenamento. Entretanto, utilizando sementes de mamona desengorduradas, foi observado presença da praga e grãos perfurados já aos 90 dias de armazenamento (Almeida *et al.* 2005).

Esses efeitos contra insetos são devidos a uma toxina denominada de ricina, que é uma das mais tóxicas estudadas pelo homem (Moshkin 1986), sendo encontrada no endosperma das sementes de mamona (Pinkerton *et al.* 1999). Esta toxina possui duas subunidades com diferentes funções, porém agindo de forma conjunta. Uma delas tem efeito de inibidor de digestibilidade pela ação de inibidores protéicos da enzima alfa-amilase, impedindo a digestão e absorção do amido (Olsnes & Kozlov 2001) e a outra tem efeito inseticida devido à ação de proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs) que promove a morte da célula por inibição da síntese protéica (Lord *et al.* 1994).

*P. xylostella* é suscetível ao fungo entomopatogênico *B. bassiana*, tanto em laboratório quanto em condições de campo e são escassos de estudos utilizando óleo de mamona para o controle de insetos-praga. Desta forma, foram realizados estudos objetivando selecionar isolados

de *B. bassiana* mais viáveis para utilização no controle microbiano de *P. xylostella*, como também, avaliar a eficiência, a estabilidade do óleo de mamona e a sua compatibilidade com *B. bassiana* sobre *P. xylostella*, para possibilitar a utilização no campo desses métodos de controle e se possível a associação de ambos.

### Literatura Citada

- Almeida, I.P., M.E.M. Duarte, M.E.R.M.C. Mata, R.M.M. Freire & M.A. Guedes. 2005.** Armazenamento de feijão macassar tratado com mamona: estudo da prevenção do *Callosobruchus maculatus* e das alterações nutricionais do grão. Rev. Bras. Prod. Agroind. 7: 133-140.
- Almeida, M.F., R. Barros, M.G.C. Gondim Júnior, S. Freitas & A.L. Bezerra. 2009.** Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Cienc. Rural 39: 313-318.
- Alves, S.B. 1998a.** Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens, p. 21-38. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B. 1998b.** Fungos entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Barros, R., I.B. Albert Júnior, A.J. Oliveira, A.C.F. Souza & V. Loges. 1993.** Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. An. Soc. Entomol. Brasil 22: 463-469.
- Camargo, M.S., S.C. Mello, D.E. Foltran & Q.A.C. Carmello. 2009.** Produtividade e podridão parda em couve-flor 'Sharon' influenciadas pela aplicação de nitrogênio e boro. Hortic. Bras. 27: 30-34.
- Castelo Branco, M. & A.G. Gatehouse. 2001.** A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. Neotrop. Entomol. 30: 327-332.
- Castelo Branco, M. & M.A. Medeiros. 2001.** Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. Pesqu. Agropec. Bras. 36: 7-13.
- Castelo Branco, M., F.H. França, L.A. Pontes & P.S.T. Amaral. 2003.** Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas em algumas áreas do Brasil. Hortic. Bras. 21: 549-552.

- Czepak, C., P.M. Fernandes, H.G. Santana, F.S. Takatsuka & C.L. Rocha. 2005.** Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Pesqu. Agropec. Trop.* 35: 129-131.
- Dias, D.G.S., C.M.S. Soares & R. Monnerat. 2004.** Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. *Hortic. Bras.* 22: 553-556.
- Ferreira, S.W.J., R. Barros & J.B. Torres. 2003.** Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. *Neotrop. Entomol.* 32: 407-411.
- Filgueira F.A.R. 2000.** Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, UFV, 402p.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Godonou, I., B. James, C. Atcha-Ahowé, S. Vodouhé, C. Kooyman, A. Ahanchédé & S. Korie. 2009.** Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* 28: 220-224.
- Jurat-Fuentes, J.L. & M.J. Adang. 2006.** Cry toxin mode of action in susceptible and resistant *Heliothis virescens* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 92: 166-171.
- Lima, V.L.S. 2009.** Manejo fitossanitário para broca das cucurbitáceas *Diaphania nitidalis* Cramer (Lep.: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFES, Alegre, 56p.
- Lord, M.J., L.M. Roberts & J.D. Robertus. 1994.** Ricin: structure, mode of action and some current applications. *Faseb J.* 8: 201-208.
- Medeiros, P.T., J.M.C.S. Dias, E.G. Barreto, C.M.S. Silveira & R.G. Monnerat. 2004.** Susceptibilidade da traça-das-crucíferas a produtos formulados a base de *Bacillus thuringiensis* na cultura do repolho no Distrito Federal. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 10p. (Comunicado Técnico 109).
- Medeiros, P.T., E.H. Sone, C.M.S. Soares, J.M.C.S. Dias & R.G. Monnerat. 2006.** Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. *Hortic. Bras.* 24: 245-248.
- Melo, P.E., M. Castelo Branco & N. R. Madeira. 1994.** Avaliação de genótipos de repolho para resistência à traça das crucíferas. *Hortic. Bras.* 12: 19-24.
- Monnerat, R.G., S.C.M. Leal-Bertioli, D.J. Bertioli, T.M. Butt & D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Hortic. Bras.* 22: 607-609.

- Moshkin, V.A. 1986.** Castor. New Delhi, Amerind, 315p.
- Neves, P.M.O.J. & E. Hirose. 2005.** Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). Neotrop. Entomol. 34: 77-82.
- Oliveira, M.A.P, E.J. Marques, V. Wanderley-Teixeira & R. Barros. 2008.** Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). Acta Sci. Biol. Sci. 30: 220-224.
- Olsnes, S. & J. Kozlov. 2001.** Ricin. Toxicon 39: 1723-1728.
- Pereira, F.F., R. Barros, D. Pratisoli, C.L.T. Pereira, U.R. Vianna & J.C. Zanuncio. 2007.** Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em diferentes temperaturas. Cienc. Rural 37: 297-303.
- Pinkerton, S.D., R. Rolfe & D.L. Auld. 1999.** Selection of castor with divergent concentration of ricin and *Ricinus communis* agglutinin. Crop Sci. 39: 353-357.
- Pratisoli, D., R.A. Polanczyk, A.M. Holtz, L.P. Dalvi, A.F. Silva & L.N. Silva 2008.** Selection of *Trichogramma* species for controlling the diamondback moth. Hortic. Bras. 26: 259-261.
- Rohde, C., L.F.A. Alves, P.M.O.J. Neves, S.A. Alves, E.R. Silva & J.E.M. Almeida. 2006.** Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop. Entomol. 35: 231-240.
- Santiago, G.P., L.E.M. Pádua, P.R.R. Silva, E.M.S. Carvalho & C.B. Maia. 2008.** Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. Ciênc. Agrotec. 32: 792-796.
- Savy Filho, A. 2001.** A mamoneira: técnicas de cultivo. O agrônomo 53: 16-17.
- Silva, V.C.A., R. Barros, E.J. Marques & J.B. Torres. 2003.** Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Neotrop. Entomol. 32: 653-658.
- Silva, M.Z., C.A.L. Oliveira & M.E. Sato. 2009.** Seletividade de produtos fitossanitários sobre o ácaro predador *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae). Rev. Bras. Frutic. 31: 388-396.
- Silva-Torres, C.S.A., R. Barros & J.B. Torres. 2009.** Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop. Entomol. 38: 512-519.

- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Torres, A.L., A.L. Boiça Júnior, C.A.M. Medeiros & R. Barros. 2006.** Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. *Bragantia* 65: 447-457.
- Ulmer, B., C. Gillott, D. Woods & M. Erlandson. 2002.** Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. *Crop Prot.* 21: 327-331.
- Wiesbrook, M.L. 2004.** Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? III. *Pest. Rev.* 17: 1-8.

## CAPÍTULO 2

### SELEÇÃO DE ISOLADOS DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)<sup>1</sup>

VANDO M. RONDELLI<sup>2</sup>, DIRCEU PRATISSOLI<sup>3</sup>, EDMILSON J. MARQUES<sup>2</sup> E RICARDO A.  
POLANCZYK<sup>3</sup>

<sup>2</sup> Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av.  
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Produção Vegetal – NUDEMAFI, Centro de Ciências Agrárias da  
Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre, ES, Brasil.

---

<sup>1</sup>Rondelli, V.M., D. Pratissoli, E.J. Marques & R.A. Polanczyk. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). A ser submetido.

RESUMO – A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) é considerada a principal praga das brássicas no mundo, sendo o uso de inseticidas o método mais usado para controlar esta praga. Assim, o objetivo desta pesquisa foi selecionar isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com viabilidade para utilização no controle da traça-das-crucíferas. Dezesete isolados e o formulado comercial de *B. bassiana* Boveril<sup>®</sup> PM (isolado ESALQ-PL63) foram testados. Larvas do segundo instar da traça-das-crucíferas foram pulverizadas com suspensão de conídios na concentração de  $10^7$  conídios/mL. Para o bioensaio de concentração letal sete concentrações espaçadas em escala logarítmica foram testadas. Os isolados CCA/UFES-4, 18, 31 e 35 foram selecionados por causarem mortalidade confirmada de larvas do segundo instar superior a 90%. O isolado padrão ESALQ-447 e o formulado comercial (Boveril<sup>®</sup> PM) tiveram resultados semelhantes e também foram selecionados para o controle da traça-das-crucíferas. Adicionalmente, baseado nas estimativas da  $CL_{50}$ , os isolados CCA/UFES-4, 18, 31, ESALQ-447 e o Boveril<sup>®</sup> PM podem ser selecionados para utilização no controle da traça-das-crucíferas.

PALAVRAS-CHAVE: Traça-das-crucíferas, controle microbiano, fungo entomopatogênico

SELECTION OF *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. ISOLATES FOR *Plutella xylostella* (L.)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) CONTROL

ABSTRACT – Diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) is considered the most important pest of brassicas worldwide, being the use of insecticides the most used method to control this pest. Thus, the objective of this research was to select isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with viability to control DBM. Seventeen isolates and the commercial formulation of *B. bassiana* Boveril<sup>®</sup> WP (ESALQ-PL63 isolate) were tested. DBM 2nd-instar larvae were treated with conidial suspension at concentration of  $10^7$  conidia/mL. For lethal concentration bioassay seven concentrations spaced on logarithmic scale were tested. The isolates CCA/UFES-4, 18, 31 and 35 were selected because they caused confirmed mortality for larvae of 2nd-instar greater than 90%. The standard isolate ESALQ-447 and the commercial formulation (Boveril<sup>®</sup> WP) had similar results and were also selected to control DBM. In addition, based on the values estimated for  $LC_{50}$ , the isolates CCA/UFES-4, 18, 31, ESALQ-447 and Boveril<sup>®</sup> WP can be selected for use in DBM control.

KEY WORDS: Diamondback moth, microbiological control, entomopathogenic fungus



## Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) é considerada a principal praga em todas as regiões que cultivam espécies da família Brassicaceae no Brasil e no mundo. Isso devido ao seu alto potencial reprodutivo e ciclo curto, o que lhe proporciona várias gerações por ano (Talekar & Shelton 1993, Castelo Branco & Gatehouse 2001, Castelo Branco & Medeiros 2001, Ulmer *et al.* 2002, Torres *et al.* 2006). Os prejuízos ocasionados pela traça-das-crucíferas são relacionados à alimentação das larvas, as quais perfuram as folhas causando sua desvalorização, além de retardar o crescimento da planta e ocasionar conseqüentemente sua morte se medidas de controle não forem adotadas (Barros *et al.* 1993, Monnerat *et al.* 2004).

Entre as medidas de controle, o método químico é o mais adotado para o controle de *P. xylostella*, sendo os piretróides e os fosforados os grupos mais utilizados (Castelo Branco & Medeiros 2001, Monnerat *et al.* 2004). Quando utilizado sem critérios, os agrotóxicos podem selecionar populações resistentes desta praga às moléculas sintéticas (Melo *et al.* 1994, Godonou *et al.* 2009), além de causar efeitos tóxicos ao homem e a outros animais (Monnerat *et al.* 2004). Devido a estes problemas surgiu o Manejo Integrado de Pragas (MIP), que visa à manutenção das pragas abaixo do nível de dano econômico, utilizando para isso, métodos alternativos de controle, como também a associação deles (Gallo *et al.* 2002).

O manejo da traça-das-crucíferas pode ser feito lançando mão de diversos métodos. Dentre eles, o controle biológico no MIP oferece uma solução para o controle sustentável da traça-das-crucíferas (Godonou *et al.* 2009). Esse método pode ser feito utilizando predadores (Almeida *et al.* 2009) ou parasitóides (Pratissoli *et al.* 2008, Silva-Torres *et al.* 2009). O controle biológico utilizando entomopatógenos também vem apresentando resultados relevantes, como os observados utilizando a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Medeiros *et al.* 2006). Contudo, já se tem conhecimento de caso de populações resistentes da traça-das-crucíferas a essa bactéria

(Castelo Branco *et al.* 2003). Outra opção para o manejo de *P. xylostella* é a utilização de fungos entomopatogênicos, que demonstram ser virulento a essa importante praga (Silva *et al.* 2003, Godonou *et al.* 2009).

*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é um dos fungos entomopatogênicos mais conhecidos no mundo. Trata-se de um organismo encontrado na natureza causando doença e morte de vários insetos. Pesquisas têm demonstrado que este fungo é um agente capaz de infectar insetos em diferentes estádios de desenvolvimento, causando elevados índices de mortalidade, podendo chegar a 100% em condições de laboratório (Alves 1998, Rohde *et al.* 2006). Também pode causar efeitos subletais a larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lep.: Crambidae), diminuindo a viabilidade larval (56,6%), a fecundidade (33,6%), a viabilidade de ovos (48,6%) e a longevidade de adultos (Oliveira *et al.* 2008).

Em teste de campo, *B. bassiana* controlou a traça-das-crucíferas, proporcionando menor número de larvas vivas por planta e peso médio das cabeças de repolho de aproximadamente três vezes maior (Godonou *et al.* 2009). Diante disso, e dada a grande variabilidade genética apresentada pelos fungos entomopatogênicos, destaca-se a importância da realização de bioensaios para a seleção de isolados altamente virulentos (Alves 1998). Assim, o objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de *B. bassiana* com viabilidade para utilização no controle microbiano da traça-das-crucíferas.

## **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no setor de entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI), no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES), situado em Alegre-ES e constou das seguintes etapas:

**Obtenção e criação de *P. xylostella*.** Os insetos usados nos experimentos foram provenientes da criação estoque do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI, originários de plantios de brássicas do município de Alegre-ES (20° 45' 50" S 41° 31' 58" O), criadas em folhas de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*), de acordo com as recomendações de Barros & Vendramim (1999).

**Obtenção, produção e revigoramento dos isolados de *B. bassiana*.** Foram testados 17 isolados de *B. bassiana* oriundos do banco de entomopatógenos do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI e do Laboratório de Patologia de Insetos da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) (Tabela 1), além do formulado comercial Boveril<sup>®</sup> PM (isolado ESALQ-PL63) (Itafor, SP). Por ocasião dos testes, os isolados foram repicados em placas de Petri de 9,5 x 1,5 cm (diâmetro e altura) contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (Alves *et al.* 1998) acrescido de extrato de levedura, 15 g e antibiótico (tetraciclina), 200 mg (BDAY+A). Em todas as etapas da pesquisa o desenvolvimento do fungo ocorreu em câmara climatizada à temperatura de 26 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

A reativação da virulência dos isolados foi feita em besouros da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col.: Scolytidae), oriundos da criação do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI. Após a morte dos insetos e conidiogênese, os isolados foram reisolados em placa de Petri contendo meio de cultura BDAY+A (Leite *et al.* 2003). Para utilização nos bioensaios de seleção, os isolados foram novamente multiplicados para produção de conídios, durante aproximadamente 10 dias.

A viabilidade dos conídios foi aferida pelo método da germinação, inoculando-se 0,1 mL de suspensão (~3 x 10<sup>6</sup> conídios/mL) de cada isolado, inclusive do Boveril<sup>®</sup> PM, em duas placas de Petri contendo meio de cultura BDAY+A e espalhada com auxílio de uma alça de Drigalski.

As placas de Petri foram incubadas por 24h e as leituras feitas em microscópio óptico de luz. Os conídios foram considerados viáveis quando apresentaram taxa de germinação superior a 90%.

**Avaliação da patogenicidade de *B. bassiana*.** As suspensões foram preparadas adicionando-se 10 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween<sup>®</sup> 80 a 0,01% (ADE+E), em placas de Petri contendo meio de cultura e o fungo, sendo submetidas a rápida agitação manual e raspagem com um pincel de cerdas macias esterilizado. Para preparar a suspensão com Boveril<sup>®</sup> PM misturou-se 20 g do produto em 100 mL de ADE+E. As suspensões foram coadas com gaze esterilizada e quantificadas em câmara de Neubauer após diluições sucessivas utilizando pipetador automático de 100 a 1000 µL e agitador de tubo Vortex e ajustadas para a concentração de 10<sup>7</sup> conídios/mL (Alves & Moraes 1998). Essa concentração foi escolhida com base em ensaios preliminares. Na testemunha foi utilizada ADE+E.

Larvas do segundo instar em placas de Petri (repetições) de 9,5 x 1,5 cm (diâmetro e altura) revestidas com papel filtro foram pulverizadas utilizando torre de Potter com pressão de 15 lb/pol<sup>2</sup> e 6 mL de suspensão de cada isolado medido com pipetador automático de 2 a 10 mL. As suspensões permaneceram sob agitação constante em agitador magnético a 500 rpm. Em seguida, foi colocado na placa um disco foliar de couve manteiga (*B. oleracea* var. *acephala*) de 8 cm de diâmetro com a face abaxial da folha para baixo. As placas foram tampadas e vedadas com filme de PVC transparente para prevenir a fuga das larvas. Foram feitos três pequenos furos com um estilete pontiagudo no filme de PVC para possibilitar trocas gasosas. As placas foram mantidas em câmara climatizada à temperatura de 26 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Com a pressão e o volume utilizado na torre de Potter foi depositado um volume médio de 1,62 mg/cm<sup>2</sup>, variando de 1,43 a 1,82 mg/cm<sup>2</sup>, estando de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (“International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious

Animals and Plants/West Palearctic Regional Section”), que é um depósito de 1,5 a 2,0 mg/cm<sup>2</sup> para superfícies de vidro ou folha (Overmeer & van Zon 1982). Para a determinação do volume depositado foi utilizada a parte inferior de uma placa de Petri de 9,5 x 1,5 cm (diâmetro e altura) com papel filtro e sobre este um apoio de acrílico para a lamínula. Foram pulverizadas 10 lamínulas de 2,4 x 3,2 cm (7,68 cm<sup>2</sup>) com ADE+E pesadas antes e logo após a pulverização em balança de três casas decimais.

A patogenicidade dos isolados foi diariamente observada até a morte do último inseto, no momento em que os discos foliares eram trocados. Foi avaliada a mortalidade da fase larval até o último inseto, caracterizada pela total imobilidade dos mesmos quando tocados com um pincel de cerdas macias. Foram consideradas vivas as larvas que empuparam. As larvas mortas foram transferidas para câmara úmida e mantidas em câmara climatizada à temperatura de 26 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12h para confirmação do agente causal.

Empregou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com seis repetições contendo 10 larvas cada. A mortalidade corrigida foi calculada em relação à testemunha pela fórmula de Abbott (1925) e a mortalidade confirmada pela porcentagem de insetos nos quais ocorreu conidiogênese. Estes dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa SAEG (versão 5.0). A sobrevivência larval em decorrência dos isolados selecionados na avaliação da patogenicidade foi comparada aos pares por meio do teste de Log-Rank utilizando-se o Proc LIFETEST do SAS (SAS Institute 2000).

**Avaliação da concentração letal (CL) dos isolados selecionados.** Foram selecionados para a avaliação da concentração letal os isolados que proporcionaram mortalidade confirmada superior a 90%, além do isolado padrão ESALQ-447 e do formulado comercial (Boveril<sup>®</sup> PM). Esses isolados foram novamente revigorados em broca-do-café e, após conidiogênese, foram reisolados

em placas de Petri, contendo meio de cultura BDAY+A para serem novamente repicados para a produção de conídios. A preparação e as aplicações das suspensões fúngicas foram realizadas adotando-se os procedimentos descritos na etapa destinada à avaliação da patogenicidade de *B. bassiana*.

Para a determinação das concentrações letais foram utilizadas sete concentrações espaçadas em escala logarítmica ( $5 \times 10^4$ ,  $1,2 \times 10^5$ ,  $2,9 \times 10^5$ ,  $7 \times 10^5$ ,  $1,7 \times 10^6$ ,  $4,1 \times 10^6$  e  $10^7$  conídios/mL), sendo o limite inferior (CL<sub>15</sub>) e o superior (CL<sub>90</sub>) estimados mediante ensaios preliminares, além da testemunha utilizando ADE+E.

A virulência dos isolados foi diariamente observada avaliando-se até a morte da última larva, caracterizada pela total imobilidade das mesmas. Foram consideradas vivas as larvas que empuparam. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições contendo 10 insetos cada, totalizando 50 insetos por concentração e 350 insetos por isolado. As concentrações letais foram estimadas usando a análise de Probit com auxílio do programa Polo-PC (LeOra Software 1987).

## **Resultados e Discussão**

**Avaliação da patogenicidade de *B. bassiana*.** Os isolados apresentaram diferença quanto a mortalidade corrigida ( $F_{17, 90} = 60,12$ ;  $P < 0,0001$ ). Os isolados CCA/UFES-18, CCA/UFES-24, CCA/UFES-31 e ESALQ-610 causaram mortalidade corrigida de 100% das larvas de *P. xylostella*. Estes, no entanto, não diferiram estatisticamente dos isolados ESALQ-760, CCA/UFES-35, CCA/UFES-4 e CCA/UFES-29, os quais proporcionaram taxa de mortalidade entre 95,2 e 98,3%. Os demais isolados causaram taxas de mortalidade variando de 11,7 a 93,8% (Tabela 2).

Considerando a mortalidade confirmada, também houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos ( $F_{17,90} = 20,04$ ;  $P < 0,0001$ ). Os isolados que causaram mortalidade larval superior a 90% foram CCA/UFES-18 (93,9%), CCA/UFES-4 (92,1%), CCA/UFES-35 (91,4%) e CCA/UFES-31 (91,3%), entretanto não diferiram estatisticamente dos tratamentos CCA/UFES-24 (87,0%), Boveril<sup>®</sup> PM (86,4%), ESALQ-447 (85,8%), CCA/UFES-11 (84,8%), ESALQ-610 (84,2%), CCA/UFES-15 (83,0%) e ESALQ-760 (81,3%). Os demais isolados foram menos eficientes às larvas de *P. xylostella*, proporcionando taxa de mortalidade confirmada variando de 4,5 a 77,3% (Tabela 2).

Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Silva *et al.* (2003), que pulverizou 2 mL de suspensão de conídios dos isolados ESALQ-634, ESALQ-447, IPA-205, ESALQ-900 e ESALQ-760 de *B. bassiana* na concentração de  $10^8$  conídios/mL sobre larvas de *P. xylostella* e observaram mortalidade de 70 a 96%. Em outro estudo, foi pulverizado 2 mL do isolado ESALQ-447 na concentração de  $10^7$  conídios/mL em larvas de *P. xylostella* no terceiro estágio obtendo mortalidade na fase larval de 55% (Santos Junior *et al.* 2006). Aplicações com menores concentrações de suspensão e utilizando insetos em estádios mais avançados, tendem a proporcionarem menores taxas de mortalidade, enquanto que suspensões mais concentradas tendem a causar índices de mortalidade maiores. O volume e a concentração da suspensão de conídios, em pulverização de insetos estão relacionados ao depósito do número de conídios no corpo do inseto, contudo quando se utiliza insetos mais velhos, o patógeno tem menos tempo para agir naquele estágio, podendo ser obtidos menores taxas de mortalidade (Silva 2001).

A morte das larvas pulverizadas com os isolados selecionados na concentração de  $10^7$  conídios/mL, inicia-se a partir do primeiro dia. Com o passar do tempo houve acréscimo na porcentagem de mortalidade larval para todos os isolados avaliados. Em média, quatro dias é o tempo necessário para o fungo matar 50% das larvas. A menor sobrevivência média das larvas foi

observada para os isolados CCA/UFES-35 e CCA/UFES-4, 3,66 e 3,74 dias, respectivamente, sendo a maior sobrevivência média para os isolados ESALQ-447 e o Boveril<sup>®</sup> PM, 5,13 e 5,61 dias, respectivamente. No campo, com a morte precoce do inseto é provável que menos injúrias sejam feitas nas plantas. Apesar de que o Boveril<sup>®</sup> PM foi o tratamento que proporcionou menor mortalidade larval, a sua curva de sobrevivência apresentou diferença estatística quando comparada com a da testemunha por meio do teste de Log-Rank ( $\chi^2_{GL=1} = 66,14$ ;  $P < 0,0001$ ). Também houve diferença estatística entre os tratamentos por meio dos testes de Log-Rank ( $\chi^2_{GL=5} = 85,62$ ;  $P < 0,0001$ ) (Fig. 1).

As larvas mortas pelo fungo normalmente adquiriam coloração rósea, resultante da produção de toxina pelo patógeno, evitando o crescimento de outros organismos sapróbios (Alves 1998) e ficavam mumificadas. Posteriormente apresentavam crescimento externo do fungo, geralmente após 24 a 48h, em câmara úmida. Logo após, ocorria a conidiogênese. Isso é essencial para sua rápida propagação dentro de campo de cultivo, pois outras larvas podem ser infectadas.

Em outro estudo, larvas da traça-das-crucíferas foram expostas a folhas de couve mergulhadas em suspensão de conídios ( $10^8$  conídios/mL) de oito isolados dos fungos *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. por um minuto. Foi observada mortalidade variando de 20 a 94%, sendo os isolados Bba5653 de *B. bassiana* e Ma182 de *M. anisopliae* os que causaram maior mortalidade larval, 94 e 90%, respectivamente, sendo a maior mortalidade confirmada observada para o isolado Bba5653 (31%) (Godonou *et al.* 2009).

Os resultados indicam que vários dos isolados avaliados possuem grande potencialidade de utilização no controle microbiano de *P. xylostella*. No entanto, no controle de pragas agrícolas, o objetivo é reduzir a sua população ao nível que não cause danos econômicos (Gallo *et al.* 2002). Por isso, apesar de que o Boveril<sup>®</sup> PM mais 10 dos 17 isolados estarem estatisticamente no grupo



que causa a maior mortalidade confirmada à traça-das-crucíferas, foram selecionados para o teste de concentração letal, os isolados que proporcionaram mortalidade confirmada superior a 90% (CCA/UFES-4, CCA/UFES-18, CCA/UFES-31 e CCA/UFES-35), além do isolado padrão ESALQ-447 (85,8%) e do Boveril<sup>®</sup> PM (86,4%).

**Avaliação da concentração letal (CL) dos isolados selecionados.** Houve acréscimo na porcentagem de mortalidade de larvas de *P. xylostella* com o aumento da concentração de conídios. Os menores valores de concentração letal (CL<sub>50</sub>) foram observados utilizando os isolados CCA/UFES-4 ( $1,69 \times 10^5$  conídios/mL), ESALQ-447 ( $2,39 \times 10^5$  conídios/mL), Boveril<sup>®</sup> PM ( $3,08 \times 10^5$  conídios/mL), CCA/UFES-18 ( $3,45 \times 10^5$  conídios/mL) e o CCA/UFES-31 ( $4,72 \times 10^5$  conídios/mL). Esses valores não diferiram estatisticamente de acordo com o intervalo de confiança da CL<sub>50</sub> a 95% de probabilidade (IC a 95%). A maior CL<sub>50</sub> foi observada para o isolado CCA/UFES-35 ( $8,53 \times 10^5$  conídios/mL), não diferindo estatisticamente de acordo com o IC a 95% apenas dos isolados CCA/UFES-18 e CCA/UFES-31 (Tabela 3). Maior valor de CL<sub>50</sub> indica menor virulência, assim um isolado menos virulento necessita de maior concentração de conídios para causar a mesma mortalidade de insetos do que um isolado mais virulento. Os valores de CL<sub>50</sub> obtidos foram baixos, demonstrando a alta suscetibilidade de *P. xylostella* a *B. bassiana*. Assim, o uso de *B. bassiana* para o controle da traça-das-crucíferas provavelmente será um método econômico por não necessitar de pulverização de suspensão de conídios muito concentrada.

O isolado CCA/UFES-4 foi cinco vezes mais virulento para larvas da traça-das-crucíferas do que o isolado CCA/UFES-35, demonstrando a necessidade de estudos de seleção de isolados em laboratório. Silva *et al.* 2003, obteve maior CL<sub>50</sub> para o isolado ESALQ-447 ( $8,6 \times 10^6$  conídios/mL) do que o observado neste estudo. Isso provavelmente ocorreu devido a diferença na metodologia de aplicação.

Os tratamentos que proporcionaram menores valores de CL<sub>90</sub> foram Boveril<sup>®</sup> PM (2,53 x 10<sup>6</sup> conídios/mL), ESALQ-447 (4,42 x 10<sup>6</sup> conídios/mL), CCA/UFES-35 (6,91 x 10<sup>6</sup> conídios/mL), CCA/UFES-4 (8,83 x 10<sup>6</sup> conídios/mL), e o CCA/UFES-31 (9,15 x 10<sup>6</sup> conídios/mL). Esses valores não diferiram estatisticamente de acordo com o IC a 95%. A maior CL<sub>90</sub> foi observada para o isolado CCA/UFES-18 (4,40 x 10<sup>7</sup> conídios/mL), não diferindo estatisticamente de acordo com o IC a 95% dos isolados CCA/UFES-4, CCA/UFES-31 e CCA/UFES-31 (Tabela 3).

A curva de concentração versus mortalidade do isolado CCA/UFES-35 e do Boveril<sup>®</sup> PM foram as que proporcionaram a maior inclinação, de acordo com o erro padrão da média (1,4) (Tabela 3). Valores altos de inclinação da curva indicam que pequenas variações na concentração do fungo promovem grandes variações na mortalidade de larvas de *P. xylostella*.

Não foi possível identificar um isolado mais virulento para *P. xylostella*. No entanto, vários isolados proporcionaram baixo valor de CL<sub>50</sub>. Com isso, qualquer um deles podem ser utilizado objetivando o controle desta praga. Contudo, outros pontos importantes devem ser estudados, como a produção em larga escala sobre substrato artificial e a realização de testes em condições de campo, uma vez que microrganismos podem reagir diferentemente quando expostos a diferentes condições ambientais (Santos Junior *et al.* 2009). No campo, *B. bassiana* controlou *P. xylostella*, proporcionando menor número de larvas vivas por planta e maior peso médio das cabeças de repolho de aproximadamente três vezes (Godonou *et al.* 2009). Diversos estudos com outras espécies de lepidópteras comprovam a potencialidade desse fungo no manejo de pragas (Marques *et al.* 2000, César Filho *et al.* 2002). Também sendo possível a sua associação com o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hym.: Eulophidae) no sistema produtivo das brássicas (Santos Junior *et al.* 2006).

Adicionalmente, novos testes devem ser feitos com os isolados que proporcionaram menor CL<sub>50</sub> sobre a traça-das-crucíferas, objetivando a seleção sobre outras pragas-chave das crucíferas, como pulgões e outros lepidópteros, bem como a sua seletividade a parasitóides da traça-das-crucíferas, também importantes para a manutenção de baixos níveis da praga no campo.

Os resultados indicam que os isolados CCA/UFES-4, CCA/UFES-18, CCA/UFES-31 e ESALQ-447, bem como o Boveril<sup>®</sup> PM, possuem viabilidade para serem utilizados no controle da traça-das-crucíferas, podendo ser um substituto eficaz ao controle convencional realizado, normalmente, com inseticidas sintéticos, objetivando o manejo da resistência de *P. xylostella* e, sobretudo na agricultura orgânica, onde não são permitidos agrotóxicos.

### **Agradecimentos**

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudos ao primeiro autor e de produtividade em pesquisa ao segundo autor. Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PPGEA/UFRPE) e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (NUDEMAFI-CCA/UFES) por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa.

### **Literatura Citada**

- Abbot, W.S. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Invertebr. Pathol.* 18: 265-267.
- Almeida, M.F., R. Barros, M.G.C. Gondim Júnior, S. Freitas & A.L. Bezerra. 2009.** Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Cienc. Rural* 39: 313-318.
- Alves, S.B. 1998.** Fungos entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba, FEALQ, 1163p.

- Alves, S.B., J.E.M Almeida, A. Moimo Junior & L.F.A. Alves. 1998.** Técnicas de laboratório, p. 637-711. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B. & S.A. Moraes. 1998.** Quantificação de inoculo de patógenos de insetos, p. 765-777. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Barros, R., I.B. Albert Júnior, A.J. Oliveira, A.C.F. Souza & V. Loges. 1993.** Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. An. Soc. Entomol. Brasil 22: 463-469.
- Barros, R., J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 469-476.
- Castelo Branco, M. & A.G. Gatehouse. 2001.** A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. Neotrop. Entomol. 30: 327-332.
- Castelo Branco, M. & M.A. Medeiros. 2001.** Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. Pesqu. Agropec. Bras. 36: 7-13.
- Castelo Branco, M., F.H. França, L.A. Pontes & P.S.T. Amaral. 2003.** Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas em algumas áreas do Brasil. Hortic. Bras. 21: 549-552.
- César Filho, E., E.J. Marques & R. Barros. 2002.** Selection of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) and *Beauveria bassiana* (Bals.) isolates to control *Alabama argillacea* (Huebner) caterpillars. Sci. Agric. 59: 457-462.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Godonou, I., B. James, C. Atcha-Ahowé, S. Vodouhé, C. Kooyman, A. Ahanchédé & S. Korie. 2009.** Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Crop Prot. 28: 220-224.
- Leite, L.G., A.B. Filho, J.E.M. Almeida & S.B. Alves. 2003.** Controle de qualidade, p. 49-52. In L.G. Leite, A.B. Filho, J.E.M. Almeida & S.B. Alves (eds.). Produção de fungos entomopatogênicos. Ribeirão Preto, S.A. Pinto, 92p.
- LeOra Software. 1997.** POLO-PC: a User's Guide to Probit or Logit Analyses. Berkeley, California.

- Marques, E.J., S.B. Alves & I.M.R. Marques. 2000.** Virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) após armazenamento de conídios em baixa temperatura. An. Soc. Entomol. Brasil 29: 303-307.
- Medeiros, P.T., E.H. Sone, C.M.S. Soares, J.M.C.S. Dias & R.G. Monnerat. 2006.** Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. Hortic. Bras. 24: 245-248.
- Melo, P.E., M. Castelo Branco & N. R. Madeira. 1994.** Avaliação de genótipos de repolho para resistência à traça das crucíferas. Hortic. Bras. 12: 19-24.
- Monnerat, R.G., S.C.M. Leal-Bertioli, D.J. Bertioli, T.M. Butt & D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. Hortic. Bras. 22: 607-609.
- Oliveira, M.A.P, E.J. Marques, V. Wanderley-Teixeira & R. Barros. 2008.** Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). Acta Sci. Biol. Sci. 30: 220-224.
- Overmeer, W.P.J. & A.Q. van Zon. 1982.** A standardized method for testing the side effect of pesticides on the predaceous mite, *Amblyseius potentillae* (Acari: Phytoseiidae). Entomophaga 27: 357- 364.
- Pratissoli, D., R.A. Polanczyk, A.M. Holtz, L.P. Dalvi, A.F. Silva & L.N. Silva 2008.** Selection of *Trichogramma* species for controlling the diamondback moth. Hortic. Bras. 26: 259-261.
- Rohde, C., L.F.A. Alves, P.M.O.J. Neves, S.A. Alves, E.R. Silva & J.E.M. Almeida. 2006.** Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop. Entomol. 35: 231-240.
- Santos Junior, H.J.G., E.J. Marques, R. Barros & M.G.C. Gondim Junior. 2006.** Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Neotrop. Entomol. 35: 241-245.
- Santos Junior, H.J.G., E.J. Marques, R.A. Polanczyk, D. Pratissoli, V.M. Rondelli. 2009.** Suscetibilidade de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae). Arq. Inst. Biol. 76: 625-631.
- SAS Institute. 2000.** SAS User`s guide: statistic version 8 for Windows. Cary, North Carolina, SAS Institute.

- Silva, V.C.A. 2001.** Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok para a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). Dissertação de Mestrado, UFRP, Recife, 43p.
- Silva, V.C.A., R. Barros, E.J. Marques & J.B. Torres. 2003.** Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Neotrop. Entomol. 32: 653-658.
- Silva-Torres, C.S.A., R. Barros & J.B. Torres. 2009.** Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). Neotrop. Entomol. 38: 512-519.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, ecology, and management of the diamondback moth. Annu. Rev. Entomol. 38: 275-301.
- Torres, A.L., A.L. Boiça Júnior, C.A.M. Medeiros & R. Barros. 2006.** Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. Bragantia 65: 447-457.
- Ulmer, B., C. Gillott, D. Woods & M. Erlandson. 2002.** Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. Crop Prot. 21: 327-331.

Tabela 1. Origem e hospedeiros dos isolados de *Beauveria bassiana* utilizados na pesquisa.

Isolados	Origem	Hospedeiros ou substrato
CCA/UFES-1	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>Hypothenemus hampei</i>
CCA/UFES-4	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-8	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-11	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-15	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-18	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-24	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-28	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-29	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>H. hampei</i>
CCA/UFES-30	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	<i>Brassolis sophorae</i>
CCA/UFES-31	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	Solo
CCA/UFES-33	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	Solo
CCA/UFES-34	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	Solo
CCA/UFES-35	Laboratório de Entomologia/NUDEMAFI-UFES	Solo
ESALQ-447	Laboratório de Patologia de Insetos/ESALQ-USP	<i>Solenopsis invicta</i>
ESALQ-610	Laboratório de Patologia de Insetos/ESALQ-USP	Solo
ESALQ-760	Laboratório de Patologia de Insetos/ESALQ-USP	<i>Cornitermes cumulans</i>

Tabela 2. Mortalidade corrigida e confirmada (%) de larvas do segundo instar de *Plutella xylostella* provocada por *Beauveria bassiana* ( $10^7$  conídios/mL). Temp.:  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase.

Isolados	Mortalidade	
	Corrigida <sup>1</sup>	Confirmada <sup>1</sup>
CCA/UFES-18	100,0 $\pm$ 0,00 a	93,9 $\pm$ 4,50 a
CCA/UFES-24	100,0 $\pm$ 0,00 a	87,0 $\pm$ 4,17 a
CCA/UFES-31	100,0 $\pm$ 0,00 a	91,3 $\pm$ 2,16 a
ESALQ-610	100,0 $\pm$ 0,00 a	84,2 $\pm$ 5,05 a
CCA/UFES-29	98,3 $\pm$ 1,65 a	77,3 $\pm$ 6,43 b
CCA/UFES-4	98,2 $\pm$ 1,98 a	92,1 $\pm$ 3,70 a
CCA/UFES-35	98,0 $\pm$ 1,98 a	91,4 $\pm$ 4,23 a
ESALQ-760	95,2 $\pm$ 2,17 a	81,3 $\pm$ 5,61 a
CCA/UFES-11	93,8 $\pm$ 4,63 b	84,8 $\pm$ 5,59 a
ESALQ-447	93,6 $\pm$ 4,71 b	85,8 $\pm$ 7,28 a
CCA/UFES-34	91,9 $\pm$ 3,89 b	76,6 $\pm$ 6,37 b
CCA/UFES-15	91,2 $\pm$ 3,19 b	83,0 $\pm$ 6,20 a
CCA/UFES-1	90,0 $\pm$ 2,51 b	73,2 $\pm$ 4,70 b
Boveril <sup>®</sup> PM	86,5 $\pm$ 3,37 b	86,4 $\pm$ 3,11 a
CCA/UFES-8	86,4 $\pm$ 2,17 b	67,0 $\pm$ 4,21 c
CCA/UFES-28	63,5 $\pm$ 4,44 c	58,2 $\pm$ 6,30 c
CCA/UFES-33	46,8 $\pm$ 4,76 d	39,1 $\pm$ 4,36 d
CCA/UFES-30	11,7 $\pm$ 3,27 e	4,5 $\pm$ 2,03 e
CV (%)	8,50	16,19

<sup>1</sup>Médias ( $\pm$  EP) seguidas por mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



Tabela 3. Inclinação das curvas de concentração versos mortalidade e concentração letal (CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>) de *Beauveria bassiana* sobre larvas do segundo instar de *Plutella xylostella*. Temp.: 26 ± 1°C, UR 70 ± 10% e 12h de fotofase.

Isolados	N <sup>1</sup>	Inclinação ± EPM <sup>2</sup>	CL <sub>50</sub> (conídios/mL) (IC a 95%) <sup>3</sup>	CL <sub>90</sub> (conídios/mL) (IC a 95%) <sup>3</sup>	GL <sup>4</sup>	χ <sup>2(5)</sup>
CCA/UFES-4	300	0,7 ± 0,12	1,69 x 10 <sup>5</sup> (5,81 x 10 <sup>4</sup> - 3,45 x 10 <sup>5</sup> )	8,83 x 10 <sup>6</sup> (3,84 x 10 <sup>6</sup> - 3,52 x 10 <sup>7</sup> )	4	2,5
CCA/UFES-18	304	0,6 ± 0,10	3,45 x 10 <sup>5</sup> (1,69 x 10 <sup>5</sup> - 7,52 x 10 <sup>5</sup> )	4,40 x 10 <sup>7</sup> (1,11 x 10 <sup>7</sup> - 5,35 x 10 <sup>8</sup> )	4	3,8
CCA/UFES-31	240	1,0 ± 0,14	4,72 x 10 <sup>5</sup> (2,31 x 10 <sup>5</sup> - 8,14 x 10 <sup>5</sup> )	9,15 x 10 <sup>6</sup> (4,89 x 10 <sup>6</sup> - 2,29 x 10 <sup>7</sup> )	3	0,1
CCA/UFES-35	311	1,4 ± 0,17	8,53 x 10 <sup>5</sup> (5,92 x 10 <sup>5</sup> - 1,16 x 10 <sup>6</sup> )	6,91 x 10 <sup>6</sup> (4,60 x 10 <sup>6</sup> - 1,25 x 10 <sup>7</sup> )	4	3,6
ESALQ-447	318	1,0 ± 0,12	2,39 x 10 <sup>5</sup> (1,47 x 10 <sup>5</sup> - 3,61 x 10 <sup>5</sup> )	4,42 x 10 <sup>6</sup> (2,51 x 10 <sup>6</sup> - 1,00 x 10 <sup>7</sup> )	4	4,0
Boveril <sup>®</sup> PM	262	1,4 ± 0,23	3,08 x 10 <sup>5</sup> (1,66 x 10 <sup>5</sup> - 4,55 x 10 <sup>5</sup> )	2,53 x 10 <sup>6</sup> (1,67 x 10 <sup>6</sup> - 4,99 x 10 <sup>6</sup> )	3	0,8

<sup>1</sup>Número de insetos usados no teste.

<sup>2</sup>Erro padrão da média.

<sup>3</sup>Intervalo de confiança das CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> a 95% de probabilidade.

<sup>4</sup>Número de graus de liberdade.

<sup>5</sup>Teste qui-quadrado.

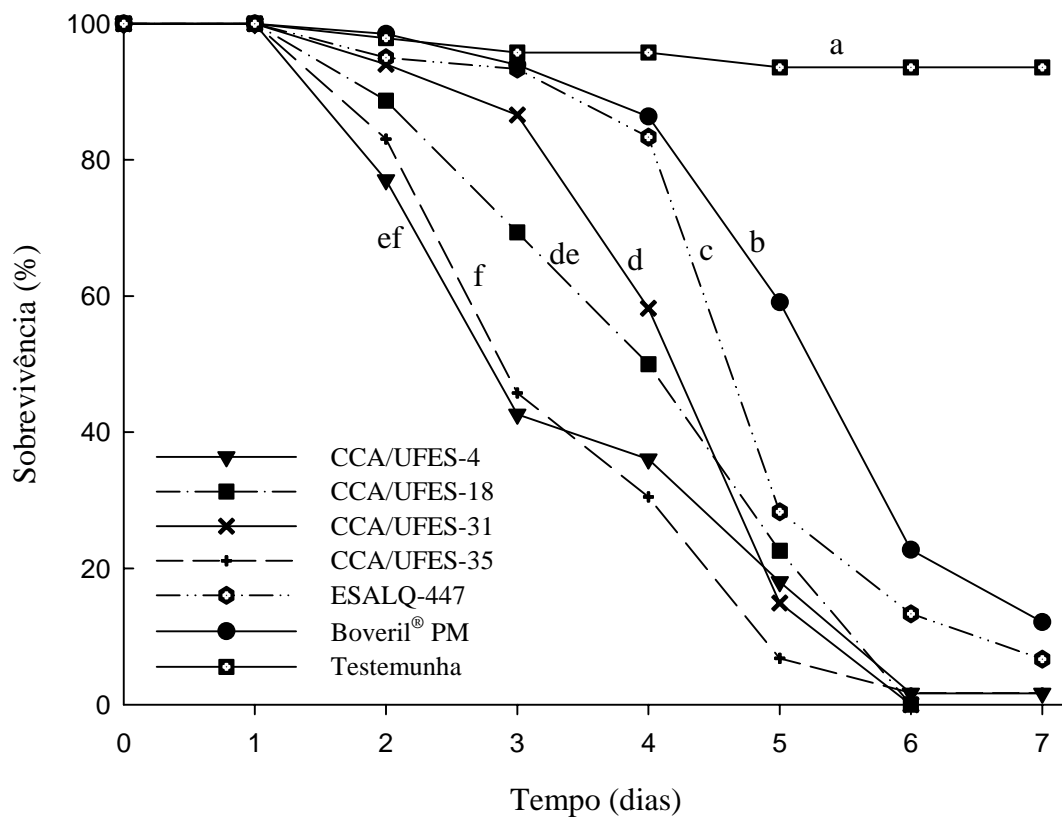


Figura 1. Sobrevivência (%) de larvas do segundo instar de *Plutella xylostella* pulverizadas com isolados de *Beauveria bassiana* e o formulado Boveril® PM ( $10^7$  conídios/mL) avaliados até a morte do último indivíduo. Temp.:  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase. Curvas de sobrevivência representadas com diferentes letras, diferem entre si pelo teste de Log-Rank a 5% de probabilidade.

## CAPÍTULO 3

### EFICIÊNCIA E ESTABILIDADE DO ÓLEO DE MAMONA E SUA COMPATIBILIDADE COM *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. PARA O CONTROLE DE *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)<sup>1</sup>

VANDO M. RONDELLI<sup>2</sup>, DIRCEU PRATISSOLI<sup>3</sup>, RICARDO A. POLANCZYK<sup>3</sup> E EDMILSON J.  
MARQUES<sup>2</sup>

<sup>2</sup> Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av.  
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Produção Vegetal – NUDEMAFI, Centro de Ciências Agrárias da  
Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre, ES, Brasil.

---

<sup>1</sup>Rondelli, V.M., D. Pratissoli, R.A. Polanczyk & E.J. Marques. Eficiência e Estabilidade do óleo de mamona e sua compatibilidade com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). A ser submetido.

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência, a estabilidade do óleo de mamona e a sua compatibilidade com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae). Para avaliar a eficiência e a estabilidade do óleo, discos foliares de couve foram pulverizados em torre de Potter com óleo de mamona com 1 e 70 dias de idade na concentração de 2,0%. Cada disco foliar foi infestado com 10 larvas do segundo instar. Discos foliares contendo 10 larvas também foram pulverizados com o óleo nas diferentes idades. Para avaliar a compatibilidade do óleo de mamona com *B. bassiana*, suspensões do isolado ESALQ-447 e da formulação comercial Boveril<sup>®</sup> PM (isolado ESALQ-PL63) na concentração de  $3 \times 10^5$  conídios/mL e solução de óleo de mamona na concentração de 2,0%, bem como a mistura de óleo de mamona às suspensões fúngicas foram pulverizadas conforme descrito anteriormente. O óleo de mamona com 1 dia ocasiona 53,9% de mortalidade de *P. xylostella*, no entanto, com 70 dias apenas 24,4% foi observado. Assim, as atividades inseticidas desse óleo são instáveis ao longo do tempo. O óleo de mamona é compatível com *B. bassiana* sobre *P. xylostella*. Métodos de armazenamento do óleo de mamona devem ser estudados objetivando a manutenção de suas atividades inseticidas ao longo do tempo. A combinação de óleo de mamona e *B. bassiana* usado em suspensão é considerada uma tecnologia viável para o controle de *P. xylostella*.

PALAVRAS-CHAVE: Traça-das-crucíferas, fungo entomopatogênico, *Ricinus communis*, inseticidas naturais

## EFFICIENCY AND STABILITY OF CASTOR BEAN OIL AND COMPATIBILITY WITH

*Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. FOR *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:

PLUTELLIDAE) CONTROL

ABSTRACT – The objective of this work was to evaluate the efficiency, the stability of castor bean oil and the compatibility with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. upon *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae). To evaluate the efficiency and the stability of the oil, cabbage leaf discs were treated in Potter spray tower with castor bean oil when 1- and 70-d old at concentration of 2.0%. Each leaf disc was infested with 10 2nd-instar larvae. Leaf discs containing 10 larvae were also sprayed with oil on the different ages. To evaluate the compatibility of castor bean oil with *B. bassiana*, suspensions of the isolate ESALQ-447 and the commercial formulation Boveril® WP (isolate ESALQ-PL63) at concentration of  $3 \times 10^5$  conidia/mL and solution of castor bean oil at concentration of 2.0%, as the mixture of castor bean oil to the fungal suspensions were sprayed as described previously. The castor bean oil at 1-d old causes 53.9% mortality of *P. xylostella*, however, at 70-d old only 24.4% was observed. Therefore, the insecticidal activity of the oil was unstable over time. The castor bean oil is compatible to *B. bassiana* upon *P. xylostella*. Storage methods of castor bean oil must be studied aiming the maintenance of its insecticidal activities over time. The combination of castor bean oil and *B. bassiana* used in suspension is considered a viable technology to *P. xylostella* control.

KEY WORDS: Diamondback moth, entomopathogenic fungus, *Ricinus communis*, natural insecticides

## Introdução

As larvas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) se alimentam de folhas de plantas da família Brassicaceae (Gallo *et al.* 2002), sendo esta a praga mais destrutiva deste grupo de plantas (Talekar & Shelton 1993, Castelo Branco & Gatehouse 2001). Para o seu controle utilizam-se basicamente inseticidas (Castelo Branco & Medeiros 2001), os quais podem selecionar populações resistentes a eles (Melo *et al.* 1994, Godonou *et al.* 2009), além de contaminar o ambiente e os produtos comercializados, causando efeitos tóxicos ao homem e a outros animais (Monnerat *et al.* 2004, Silva *et al.* 2009).

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é reconhecido no mundo por infectar vários insetos causando elevados índices de mortalidade (Alves 1998b, Rohde *et al.* 2006). Estudos mostram que este fungo é eficiente para o controle de *P. xylostella*, sendo capaz de reduzir a população da praga e aumentar a produtividade em repolho (Silva *et al.* 2003, Godonou *et al.* 2009).

Com o passar dos anos, algumas plantas evoluíram e passaram a sintetizar substâncias contra aos herbívoros, por serem tóxicas ou atuarem como repelentes. Essas substâncias podem ser extraídas dos tecidos vegetais de várias formas, sendo então denominadas de inseticidas naturais (Wiesbrook 2004).

A mamona (*Ricinus communis* L.) produz uma toxina denominada de ricina, que é uma das mais tóxicas estudadas pelo homem (Moshkin 1986), sendo encontrada no endosperma de suas sementes (Pinkerton *et al.* 1999). Esta toxina possui duas cadeias, uma inibe a enzima alfa-amilase, impedindo a digestão e absorção do amido e a outra inativa os ribossomos, interrompendo a síntese protéica (Lord *et al.* 1994, Olsnes & Kozlov 2001). O controle de insetos utilizando a mamoneira ainda é pouco estudado. No entanto, a utilização do óleo extraído da sua semente vêm apresentando resultados importantes, como os obtidos por Lima (2009) que obteve

controle de aproximadamente 95% de larvas de *Diaphania nitidalis* Cramer (Lep.: Crambidae) no segundo dia de avaliação ao imergir discos foliares de abóbora em óleo de mamona na concentração de 1%. Outros compostos extraídos de *R. communis* também possuem atividades inseticidas, como é o caso do extrato do fruto verde que na concentração de 10% em dieta artificial causou efeitos letais e subletais a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) (Santiago *et al.* 2008).

Devido a grande utilização de agrotóxicos nas plantações, a busca por novos métodos de manejo alternativo de pragas torna-se cada vez mais necessário. Com isso, o óleo de mamona pode ser uma alternativa no controle de pragas, contudo os inseticidas naturais apresentam degradação rápida sob condições ambientais (Wiesbrook 2004). Adicionalmente, os microrganismos entomopatogênicos podem ser associados com inseticidas menos agressivos ao meio ambiente, visando a ação sinérgica e o controle mais rápido da praga (Alves 1998a). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência, a estabilidade do óleo de mamona e sua compatibilidade com *B. bassiana* sobre *P. xylostella*.

### **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no setor de entomologia do NUDEMAFI, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/UFES), situado em Alegre-ES e constou das seguintes etapas:

**Obtenção e criação de *P. xylostella*.** Os insetos usados nos experimentos foram provenientes da criação estoque do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI, originários de plantios de brássicas do município de Alegre-ES (20° 45' 50" S 41° 31' 58" O), criadas em folhas de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*), de acordo com as recomendações de Barros & Vendramim (1999).

**Obtenção, produção e revigoramento de *B. bassiana*.** Foram testados o formulado comercial Boveril<sup>®</sup> PM (isolado ESALQ-PL63) (Itaforte, SP) e o isolado padrão ESALQ-447. Por ocasião dos testes, o isolado ESALQ-447 foi repicado em placas de Petri de 9,5 x 1,5 cm (diâmetro e altura) contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (Alves *et al.* 1998) acrescido de extrato de levedura, 15 g e antibiótico (tetraciclina), 200 mg (BDAY+A). Em todas as etapas da pesquisa o desenvolvimento do fungo ocorreu em câmara climatizada à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

A reativação da virulência do isolado ESALQ-447 foi feita em besouros da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col.: Scolytidae), oriundos da criação do Laboratório de Entomologia do NUDEMAFI. Após a morte dos insetos e conidiogênese, o fungo foi reisolado em placa de Petri contendo meio de cultura BDAY+A e multiplicado para produção de conídios, durante aproximadamente 10 dias (Leite *et al.* 2003).

A viabilidade dos conídios foi aferida pelo método da germinação, inoculando-se 0,1 mL de suspensão ( $\sim 3 \times 10^6$  conídios/mL) do isolado ESALQ-447 e do Boveril<sup>®</sup> PM, em duas placas de Petri contendo meio de cultura BDAY+A e espalhada com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas por 24h e as leituras feitas em microscópio óptico de luz. Os conídios foram considerados viáveis quando apresentaram taxa de germinação superior a 90%.

**Obtenção do óleo de mamona.** Frutos de mamoneira foram coletados completamente maduros e acondicionados em bandejas plásticas (38 x 38 x 9 cm). Estes frutos foram expostos ao sol para secagem completa e desprendimento das sementes. As sementes após estarem secas foram armazenadas em recipientes hermeticamente fechados e depois submetidas à extração do óleo, mediante processo de prensagem a frio e filtragem das impurezas com filtro de tela fina. O óleo foi armazenado em recipiente transparente hermeticamente fechado, datado e mantido em sala climatizada a  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotofase de 14h.



**Avaliação da eficiência e da estabilidade do óleo de mamona.** Discos foliares de couve manteiga de 8 cm de diâmetro em placas de Petri (repetições) de 9,5 x 1,5 cm (diâmetro e altura) revestidas com papel filtro foram pulverizados com óleo de mamona com 1 dia de armazenamento na concentração de 2,0% utilizando água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween<sup>®</sup> 80 a 0,05% (ADE+E) utilizando torre de Potter com pressão de 15 lb/pol<sup>2</sup> e 6 mL de solução medido com pipetador automático de 2 a 10 mL. A suspensão permaneceu sob agitação constante em agitador magnético a 500 rpm. Na testemunha foi utilizada ADE+E. As pulverizações foram feitas de duas formas: sobre as faces abaxial e adaxial dos discos foliares. Após os discos secarem, 10 larvas do segundo instar de *P. xylostella* foram colocadas na face abaxial de cada discos com o auxílio de um pincel de finas cerdas, ficando esse lado dos discos para baixo nas placas; e sobre a face adaxial do disco, sendo posteriormente colocadas 10 larvas na face abaxial de cada disco e pulverizado, finalizando com a inversão do lado do disco na placa, ficando com a face abaxial para baixo. As placas foram tampadas e vedadas com filme de PVC transparente para prevenir a fuga das larvas. Foram feitos três pequenos furos com um estilete pontiagudo no filme de PVC para possibilitar trocas gasosas. As placas foram mantidas em câmara climatizada à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h.

Para se avaliar a estabilidade das atividades inseticidas do óleo de mamona, após 70 dias o experimento foi novamente repetido utilizando o mesmo óleo.

Com a pressão e o volume utilizado na torre de Potter foi depositado um volume médio de 1,62 mg/cm<sup>2</sup>, variando de 1,43 a 1,82 mg/cm<sup>2</sup>, estando de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (“International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants/West Palearctic Regional Section”), que é um depósito de 1,5 a 2,0 mg/cm<sup>2</sup> para superfícies de vidro ou folha (Overmeer & van Zon 1982). Para a determinação do volume

depositado foi utilizada a parte inferior de uma placa de Petri de 9,5 x 1,5 cm (diâmetro e altura) com papel filtro e sobre este um apoio de acrílico para a lamínula. Foram pulverizadas 10 lamínulas de 2,4 x 3,2 cm (7,68 cm<sup>2</sup>) com ADE+E pesadas antes e logo após a pulverização em balança de três casas decimais.

Os discos foliares pulverizados foram trocados a partir do segundo dia. A mortalidade da fase larval foi diariamente avaliada até o último inseto, caracterizada pela total imobilidade dos mesmos quando tocados com um pincel de cerdas macias. Foram consideradas vivas as larvas que empuparam.

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial de 2 (idades do óleo de mamona) x 2 (formas de pulverização), utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com seis repetições de 10 insetos cada. As mortalidades ocasionadas pelo óleo com 1 dia foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925), enquanto que nos tratamentos óleo com 70 dias isso não foi preciso, pois a mortalidade da testemunha foi menor que 5%. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade, utilizando o PROC ANOVA do SAS (SAS Institute 2000).

**Avaliação da compatibilidade do óleo de mamona com *B. bassiana*.** Em estudos preliminares, o óleo de mamona não afetou a germinação de *B. bassiana* em meio de cultura artificial, assim a avaliação da compatibilidade do óleo de mamona com *B. bassiana* foi conduzida sobre *P. xylostella*.

A suspensão do isolado ESALQ-447 foi preparada adicionando-se 10 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween<sup>®</sup> 80 a 0,05% (ADE+E) em placas de Petri contendo meio de cultura e o fungo, sendo submetidas à rápida agitação manual e raspagem com um pincel de cerdas macias esterilizado. Para preparar a suspensão com Boveril<sup>®</sup> PM misturou-se 20 g do produto em 100 mL de ADE+E. As suspensões foram coadas com gaze esterilizada e

quantificadas em câmara de Neubauer após diluições sucessivas utilizando pipetador automático de 100 a 1000 µL e agitador de tubo Vortex e ajustadas para a concentração de  $3 \times 10^5$  conídios/mL (Alves & Moraes 1998). Essa concentração foi escolhida por não causar mortalidade muito acentuada às larvas da traça-das-crucíferas.

Foi utilizado óleo de mamona com 70 dias de extraído, diluído para a concentração de 2,0% utilizando água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween<sup>®</sup> 80 a 0,05% (ADE+E). Optou-se por utilizar o óleo com 70 dias, pois uma possível formulação com óleo de mamona terá um tempo de prateleira, compreendida entre o processamento e a comercialização.

O experimento foi constituído pelos seguintes tratamentos: ESALQ-447, Boveril<sup>®</sup> PM, óleo de mamona, ESALQ-447 acrescido 2% de óleo de mamona e Boveril<sup>®</sup> PM acrescido 2% de óleo de mamona. A mistura do fungo com o óleo foi feita uma hora antes da aplicação. Na testemunha foi utilizada ADE+E.

As pulverizações, a condução e avaliação do experimento foram feitas conforme descrito na seção anterior. As larvas mortas foram transferidas para câmara úmida e mantidas em câmara climatizada à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12h para confirmação do agente causal.

Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial de 5 (*B. bassiana* e/ou óleo de mamona) x 2 (formas de pulverização), utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com seis repetições de 10 insetos cada. As mortalidades ocasionadas pelo fungo e/ou óleo não foram corrigidas, pois a mortalidade da testemunha foi menor que 5%. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Fisher ou de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o PROC GLM do SAS (SAS Institute 2000).

## Resultados e Discussão

**Avaliação da eficiência e da estabilidade do óleo de mamona.** A mortalidade larval de *P. xylostella* variou em função da idade do óleo de mamona ( $F_{1, 22} = 30,46$ ;  $P < 0,0001$ ). O óleo de mamona com 1 dia, causou significativamente maior mortalidade larval de *P. xylostella* (53,9%) que o óleo com 70 dias de armazenamento (24,4%) (Fig. 1). Isso indica que as atividades inseticidas deste óleo são instáveis ao longo do tempo. Wiesbrook (2004) relata que os inseticidas naturais possuem rápida degradação em condições ambientais. Os resultados observados poderiam ter sido melhores caso o óleo de mamona apresentasse boa miscibilidade em água.

A mortalidade larval de *P. xylostella* na pulverização do óleo de mamona sobre a folha com as larvas (44,4%) foi estatisticamente semelhante a pulverização sobre a folha sem as larvas (33,9%) ( $F_{1, 22} = 1,76$ ;  $P = 0,1985$ ). Isso indica que o óleo de mamona não teve ação de contato significativa sobre essa praga. Lima (2009) também não obteve bons resultados pulverizando óleo de mamona sobre larvas de *D. nitidalis* quando comparado aos excelentes resultados obtidos da imersão foliar. Assim, fica evidente que o seu modo de ação é por ingestão, afetando a fisiologia do inseto. Isso também foi comprovada por Santiago *et al.* (2008) quando extrato do fruto verde de *R. communis* a 10% foi adicionado em dieta artificial e proporcionou bioatividade, na duração e viabilidade larval e na duração e peso pupal de *S. frugiperda*. Não foi constatada interação significativa entre idades do óleo de mamona e formas de pulverização ( $F_{1, 20} = 0,38$ ;  $P = 0,5454$ ).

A ação do óleo de mamona sobre os insetos ocorreu devido a presença da toxina ricina, composta por duas subunidades que agem de forma conjunta. Uma delas se liga a enzima alfa-amilase, impedindo a digestão e absorção do amido (Olsnes & Kozlov 2001) e a outra se liga aos ribossomos inibindo a síntese protéica (Lord *et al.* 1994).

**Avaliação da compatibilidade do óleo de mamona com *B. bassiana*.** Foi constatado sinergismo de *B. bassiana* com óleo de mamona nas formas de pulverização sobre folha ( $F_{4, 25} = 11,40$ ;  $P < 0,0001$ ) e sobre folha com larvas ( $F_{4, 25} = 23,38$ ;  $P < 0,0001$ ). Na pulverização sobre folha e sobre folha com larvas, a mistura do isolado ESALQ-447 com o óleo de mamona foi estatisticamente superior quanto a mortalidade de larvas que os dois tratamentos pulverizados isoladamente, sendo o mesmo resultado observado para o Boveril<sup>®</sup> PM, ficando caracterizado o sinergismo sobre a traça-das-crucíferas. Na pulverização sobre folha, os tratamentos isolados não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1). Esses resultados indicam que o óleo de mamona não afetou biologicamente o fungo. Entretanto, alguns trabalhos ratificam a incompatibilidade de fungos com óleos em teste *in vitro*, onde o crescimento vegetativo e a esporulação de *B. bassiana* foram reduzidos na concentração de 0,5% de óleo de nim (Neemseto<sup>®</sup>). Para *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., o crescimento vegetativo foi reduzido na concentração de 0,125% e o número e a viabilidade dos conídios produzidos foram reduzidos na concentração de 0,5% (Araújo Junior *et al.* 2009). Resultados semelhantes foram encontrados por Dipieri *et al.* (2005) utilizando outra formulação comercial de óleo emulsionável de nim (Dalneem<sup>®</sup>) em *B. bassiana*.

Avaliado-se as formas de aplicação, o óleo de mamona pulverizado sobre folha com larvas causou estatisticamente a mesma mortalidade a traça-das-crucíferas que a pulverização sobre folha ( $F_{1, 10} = 3,75$ ;  $P = 0,0815$ ). Novamente, fica evidenciado a ação por ingestão do óleo de mamona sobre *P. xylostella* e a inexistência significativa de ação por contato (Tabela 1). Araújo Junior *et al.* (2009) também não obteve diferença estatística na mortalidade do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Hem.: Aphididae) com óleo de nim comparando, para a mesma concentração, a pulverização de discos foliares infestadas com ácaros com a imersão de discos foliares.

O isolado ESALQ-447 proporcionou estatisticamente maior mortalidade quando a pulverização foi feita sobre a folha com larvas ( $F_{1, 10} = 13,94$ ;  $P = 0,0039$ ), sendo o mesmo observado utilizando o tratamento ESALQ-447 mais óleo ( $F_{1, 10} = 7,47$ ;  $P = 0,0211$ ). Esses resultados evidenciam a importância que a pulverização em campo atinja a praga. Entretanto, o tratamento Boveril<sup>®</sup> PM proporcionou estatisticamente mesma mortalidade nas diferentes formas de pulverização ( $F_{1, 10} = 0,06$ ;  $P = 0,8159$ ). No tratamento Boveril<sup>®</sup> PM mais óleo, também não houve diferença significativa entre as formas de pulverização ( $F_{1, 10} = 0,66$ ;  $P = 0,4371$ ) (Tabela 1). Com a pulverização do fungo sobre a folha, a larva se contamina ao se locomover sobre ela. No entanto, com a pulverização do fungo sobre a folha contendo larvas, também ocorre deposição de conídios sobre o corpo das larvas. Assim, Os tratamentos quando pulverizados sobre folha com larvas tendem a causar maior mortalidade sobre *P. xylostella*. Não foi constatada interação significativa entre os tratamentos e as formas de pulverização ( $F_{4, 50} = 2,22$ ;  $P = 0,0803$ ).

Com relação a mortalidade confirmada dos tratamentos com fungo e fungo mais óleo de mamona nas diferentes formas de pulverização, não foi constatada diferença significativa para os tratamentos *B. bassiana* ou *B. bassiana* mais óleo de mamona ( $F_{3, 40} = 2,08$ ;  $P = 0,1175$ ). Esse resultado indica que a mortalidade de *P. xylostella* por *B. bassiana* não foi afetada pela presença de óleo de mamona. Também não foi constatada diferença significativa para as formas de pulverização ( $F_{1, 40} = 1,89$ ;  $P = 0,1768$ ). Isso indica que a mortalidade confirmada de *P. xylostella* por *B. bassiana* não foi afetada pelas formas de pulverização. Da mesma forma, não foi constatada interação entre *B. bassiana* ou *B. bassiana* mais óleo de mamona com as formas de pulverização ( $F_{3, 40} = 0,72$ ;  $P = 0,5449$ ).

O óleo de mamona com 1 dia é uma alternativa para o controle de *P. xylostella*. No entanto, as atividades inseticidas desse óleo são instáveis ao longo do tempo. Assim, a

estabilidade desse inseticida natural deve ser estudada objetivando a manutenção de suas atividades inseticidas ao longo do tempo, como também, estudar uma formulação que melhore a miscibilidade do óleo de mamona em água. O óleo de mamona é compatível com *B. bassiana*, pois ele não afeta a patogenicidade de *B. bassiana* sobre *P. xylostella*. Assim, a combinação de óleo de mamona e *B. bassiana* usado em suspensão é considerada uma tecnologia viável para o controle de *P. xylostella*. Adicionalmente, um produto tendo como princípio ativo *B. bassiana* e óleo de mamona poderá ser formulado, porém desde que a viabilidade e a virulência dos conídios não sejam afetadas quando juntos por longo período. O óleo de mamona poderá ainda atuar no campo como protetor dos conídios, tanto a radiação quanto a dessecação, os quais são os principais fatores limitantes da utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas.

### **Agradecimentos**

Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudos ao primeiro autor e de produtividade em pesquisa ao segundo autor. Ao PPGA/UFRPE e ao CCA/UFES por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa.

### **Literatura Citada**

- Abbot, W.S. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Invertebr. Pathol. 18: 265-267.
- Alves, S.B. 1998a.** Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens, p. 21-38. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B. 1998b.** Fungos entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B., J.E.M Almeida, A. Moimo Junior & L.F.A. Alves. 1998.** Técnicas de laboratório, p. 637-711. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.

- Alves, S.B. & S.A. Moraes. 1998.** Quantificação de inoculo de patógenos de insetos, p. 765-777. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Araujo Junior, J.M.A., E.J. Marques & J.V. Oliveira. 2009.** Potencial de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do óleo de nim no controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). Neotrop. Entomol. 38: 520-525.
- Barros, R., J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 469-476.
- Castelo Branco, M. & A.G. Gatehouse. 2001.** A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. Neotrop. Entomol. 30: 327-332.
- Castelo Branco, M. & M.A. Medeiros. 2001.** Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. Pesqu. Agropec. Bras. 36: 7-13.
- Depieri, R.A., S.S. Martinez, A.O. Menezes Junior. 2005.** Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. Neotrop. Entomol. 34: 601-606.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Godonou, I., B. James, C. Atcha-Ahowé, S. Vodouhé, C. Kooyman, A. Ahanchédé & S. Korie. 2009.** Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Crop Prot. 28: 220-224.
- Leite, L.G., A.B. Filho, J.E.M. Almeida & S.B. Alves. 2003.** Controle de qualidade, p. 49-52. In L.G. Leite, A.B. Filho, J.E.M. Almeida & S.B. Alves (eds.). Produção de fungos entomopatogênicos. Ribeirão Preto, S.A. Pinto, 92p.
- Lima, V.L.S. 2009.** Manejo fitossanitário para broca das cucurbitáceas *Diaphania nitidalis* Cramer (Lep.: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFES, Alegre, 56p.
- Lord, M.J., L.M. Roberts & J.D. Robertus. 1994.** Ricin: structure, mode of action and some current applications. Faseb J. 8: 201-208.
- Melo, P.E., M. Castelo Branco & N. R. Madeira. 1994.** Avaliação de genótipos de repolho para resistência à traça das crucíferas. Hortic. Bras. 12: 19-24.
- Monnerat, R.G., S.C.M. Leal-Bertioli, D.J. Bertioli, T.M. Butt & D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. Hortic. Bras. 22: 607-609.



- Moshkin, V.A. 1986.** Castor. New Delhi, Amerind, 315p.
- Olsnes, S. & J. Kozlov. 2001.** Ricin. *Toxicon* 39: 1723-1728.
- Overmeer, W.P.J. & A.Q. van Zon. 1982.** A standardized method for testing the side effect of pesticides on the predaceous mite, *Amblyseius potentillae* (Acari: Phytoseiidae). *Entomophaga* 27: 357- 364.
- Pinkerton, S.D., R. Rolfe & D.L. Auld. 1999.** Selection of castor with divergent concentration of ricin and *Ricinus communis* agglutinin. *Crop Sci.* 39: 353-357.
- Rohde, C., L.F.A. Alves, P.M.O.J. Neves, S.A. Alves, E.R. Silva & J.E.M. Almeida. 2006.** Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotrop. Entomol.* 35: 231-240.
- Santiago, G.P., L.E.M. Pádua, P.R.R. Silva, E.M.S. Carvalho & C.B. Maia. 2008.** Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. *Ciênc. Agrotec.* 32: 792-796.
- SAS Institute. 2000.** SAS User`s guide: statistic version 8 for Windows. Cary, North Carolina, SAS Institute.
- Silva, V.C.A., R. Barros, E.J. Marques & J.B. Torres. 2003.** Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotrop. Entomol.* 32: 653-658.
- Silva, M.Z., C.A.L. Oliveira & M.E. Sato. 2009.** Seletividade de produtos fitossanitários sobre o ácaro predador *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae). *Rev. Bras. Frutic.* 31: 388-396.
- Talekar, N.S. & A.M. Shelton. 1993.** Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Wiesbrook, M.L. 2004.** Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? *Ill. Pest. Rev.* 17: 1-8.

Tabela 1. Mortalidade corrigida (%) de larvas do segundo instar de *Plutella xylostella* provocada por *Beauveria bassiana* ( $3 \times 10^5$  conídios/mL), óleo de mamona (2%) (70 dias de armazenamento) e suas associações em diferentes formas de pulverização. Temp.:  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase.

<i>B. bassiana</i> e/ou óleo de mamona <sup>1</sup>	Formas de pulverização <sup>2</sup>	
	Folha com larvas	Folha
ESALQ-447	64,5 ± 3,46 bc*	32,9 ± 7,71 c
Boveril <sup>®</sup> PM	45,0 ± 6,41 cd	43,1 ± 4,58 bc
Óleo de mamona	31,2 ± 3,85 d	17,6 ± 5,91 c
ESALQ-447 + Óleo de mamona	87,6 ± 6,35 a*	62,1 ± 6,82 ab
Boveril <sup>®</sup> PM + Óleo de mamona	81,5 ± 3,70 ab	74,4 ± 7,95 a

<sup>1</sup>Médias (± EP) seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Médias (± EP) seguidas de \* são estatisticamente superiores entre formas de pulverização pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade.

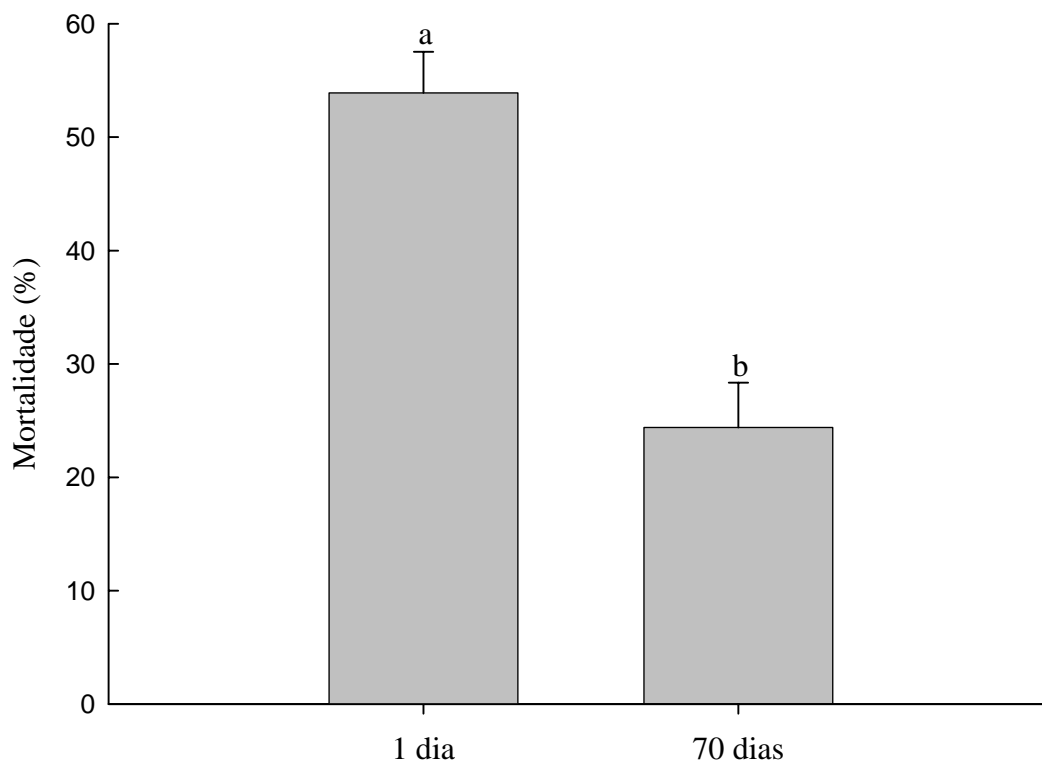


Figura 1. Mortalidade corrigida (%) de larvas do segundo instar de *Plutella xylostella* provocada por óleo de mamona (2%) com 1 e 70 dias de armazenamento. Temp.:  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e 12h de fotofase. Colunas contendo mesma letra não diferem pelo teste de Fisher a 5% de probabilidade.