

Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Dactylopius opuntiae* Cockerel (Hemiptera: Dactylopiidae) no Semi-Árido nordestino

Selection of entomopathogenic fungi for the control of *Dactylopius opuntiae* Cockerel (Hemiptera: Dactylopiidae) in the Brazilian semi-arid region

*Michelly Élen Leal Menezes*¹; *Eliane Souza Brito*²;
*Marcionila Gonçalves Malheiro*³; *Adriana Carla Ribeiro Lopes*⁴; *Polyane de Sá Santos*⁵; *Carlos Alberto Tuão Gava*⁶

Resumo

O objetivo deste trabalho foi selecionar fungos entomopatogênicos para controle de ninfas migrantes de *Dactylopius opuntiae*. Foram efetuadas aplicações de suspensões de conídios de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre discos de raquetes de palma forrageira (5,3cm de diâmetro) com 30 ninfas por disco e três repetições por isolado. As suspensões de fungos foram preparadas extraindo-se os conídios de arroz com solução de Triton X-100 a 0,05%. Obtiveram-se suspensões nas concentrações 10⁵, 10⁶, 5x10⁶, 10⁷, 5x10⁷, 10⁸ e 10⁹ conídios.mL⁻¹, e a solução de Triton X-100 0,05% como testemunha. Os discos de palma contendo os insetos foram mantidos

¹Graduada em Ciências Biológicas, Bolsista da Embrapa Semi-Árido/CNPq, C. P. 23, CEP 56302-970, Petrolina-PE; ²Doutorando em Produção Vegetal da UENF-RJ, Bolsista da Embrapa Semi-Árido/Capes; ³Bolsista da Embrapa Semi-Árido/CNPq; ⁴Estudante de mestrado em Microbiologia Agrícola da Unesp-SP, Bolsista da Embrapa Semi-Árido/CNPq; ⁵Pesquisador da Embrapa Semi-Árido. gava@cpatsa.embrapa.br

numa sala com temperatura ambiente de $24 (\pm 2)^\circ\text{C}$ e as avaliações foram realizadas diariamente por um período de 21 dias. Os insetos mortos foram transferidos para câmara úmida após assepsia para observação da conidiogênese. Os isolados de *B. bassiana* CG 24 e LPP 19 foram selecionados como os mais promissores no controle de ninfas de *D. opuntiae* nas condições de laboratório, apresentando os menores valores de DL_{50} $1,83 \times 10^3$ e $6,21 \times 10^3$, respectivamente.

Palavras-chaves: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplae*, cochonilha-do-carmim, controle biológico.

Introdução

As cochonilhas do gênero *Dactylopius* (Hemiptera: Dactylopiidae) são caracterizadas pela produção do carmim, pigmento de alto valor industrial. Acredita-se que todas as espécies de *Dactylopius* sejam originárias da América onde parasitam diferentes espécies de cactáceas pertencentes aos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* (Ferris, 1955; Flores-Hernandez et al., 2006). Devido ao valor comercial do carmim as espécies deste gênero foram introduzidas junto com a palma em diversas partes do globo e se encontram em locais como Ilhas Canárias, Austrália, África do Sul, Nepal, Índia, Sri Lanka entre outros (Diodato et al., 2004), e de forma geral, não causam danos econômicos. Na África do Sul e na Austrália algumas espécies tem sido utilizadas no controle biológico da palma, invasora de pastagens e de áreas de conservação nestes países. No entanto, nas condições do semi-árido nordestino *D. opuntiae* tem causado elevadas perdas na cultura da palma que, nesta região, é um importante alimento amplamente utilizado para os rebanhos caprino, ovino e bovino. Recentemente, em alguns municípios da Paraíba e Pernambuco tornou-se uma praga limitante à cultura. Nos relatos obtidos, a cochonilha-do-carmim ou lêndea-branca pode destruir 80% das plantas e as práticas de controle adotadas, não são eficientes (Carvalho, 2007). As medidas mais empregadas para o controle de cochonilhas em geral são à base de inseticidas, geralmente fosforados, isoladamente ou em mistura com óleo mineral (1%), e neonicotinóides, apresentando eficiência principalmente sobre ninfas (Botrel e Siqueira, 1993; Gallo et al., 2002). Atualmente, alternativas de controle vêm sendo estudadas visando à diminuição do uso de produtos químicos.

Fungos entomopatogênicos são os mais viáveis agentes de controle biológico contra insetos sugadores, por serem os únicos (desconsiderando-se, neste caso, os nematóides) a apresentarem um mecanismo próprio de penetração no tegumento dos insetos (Alves, 1998). As mais de 700 espécies de fungos entomopatogênicos apresentam um complexo de enzimas que lhes permite penetrar o tegumento, colonizar a cavidade corporal utilizando a hemolinfa e os órgãos dos insetos como substrato e, posteriormente, exteriorizar-se, produzindo novos propágulos no cadáver e liberando-os no ambiente (Alves, 1998). Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de fungos entomopatogênicos a serem empregados em futuros programas de manejo integrado de *D. opuntiae*.

Material e Métodos

No primeiro experimento foi avaliada a patogenicidade de 24 isolados de *Metarhizium anisoplae* e *Beauveria bassiana* provenientes das micotecas da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) e da Embrapa Semi-árido (CPATSA). Enquanto que para os experimentos de virulência a ninfas de *D. opuntiae* foram utilizados isolados de fungos de *Beauveria bassiana* (CG 24, LPP 19, LCB 62, LCB 110, LCB 55, LCB 52 e LCB 56), que apresentaram o melhor desempenho nos ensaios de patogenicidade.

Os conídios dos isolados de *B. bassiana* foram produzidos em sacos de PVC contendo 200g de arroz com 50% de umidade e mantidos a $28 (\pm 2)^\circ\text{C}$ por um período de 15 dias em BOD (Alves, 1998). Após o amadurecimento, os conídios foram removidos utilizando uma solução de Triton X-100 autoclavada e utilizados nos experimentos.

A aplicação de suspensões de 10^8 de conídios.mL⁻¹ foi realizada utilizando uma Torre de Potter (Burkard, UK) sobre três discos de palma forrageira (5,3cm de diâmetro) sobre os quais 30 ninfas caminhantes haviam sido previamente transferidas. Nos ensaios de virulência, foram utilizadas diferentes suspensões de conídios: 10^5 , 10^6 , 5×10^6 , 10^7 , 5×10^7 , 10^8 e 10^9 conídios.mL⁻¹. O tratamento controle foi solução de Triton X-100 0,05% sem conídios.

Após a pulverização, os discos de palma com os insetos foram mantidos em uma sala com temperatura ambiente oscilando de $24 (\pm 2)^\circ\text{C}$. As avaliações foram realizadas diariamente até 21 dias após o início do experimento e a mortalidade calculada utilizando-se a fórmula de Abbott (Abbott, 1925). A

causa da mortalidade foi determinada colocando-se os insetos mortos, desinfestados superficialmente em álcool 70% e hipoclorito de sódio 1%, em câmara úmida, de forma a permitir o crescimento e esporulação do fungo sobre os cadáveres. No experimento de virulência determinou-se a dose letal para 50% da população (DL_{50}) pela análise de PROBIT com transformação de doses (\log_{10}) utilizando o *software* Polo-PC.

Resultados e Discussão

No experimento para avaliação da patogenicidade as ninfas de *D. opuntiae* mostraram-se suscetíveis a todos os isolados de *B. bassiana*, no entanto verificou-se diferenças significativas entre os isolados do fungo. Esta variação da patogenicidade pode estar associada a fatores como baixa virulência ou especificidade do isolado, diversidade genética dos insetos utilizados no experimento ou tolerância do hospedeiro (Alves, 1998). Os isolados mais promissores para o controle de ninfas selecionados a partir dos testes de patogenicidade foram o LCB62 (96,8%; 99,25%, de patogenicidade e conidiogênese, respectivamente), CG24 (95%; 87,78%), LPP19 (92%; 58%); LCB56 (86%; 54,44%); LCB55 (83%; 100%); LCB52 (75,7%; 40,29%). Nos experimentos para a avaliação da virulência dos fungos às ninfas, os isolados CG 24 e LPP 19 obtiveram os melhores resultados para a DL_{50} ($6,21 \times 10^3$ e $1,83 \times 10^3$, respectivamente), enquanto que o maior valor foi observado com o isolado LCB56 ($3,64 \times 10^7$) e valores intermediários com LCB62, LCB110, LCB55 e LCB52 ($8,41 \times 10^5$, $2,73 \times 10^6$, $3,85 \times 10^6$ e $4,73 \times 10^6$, respectivamente) (Tabela 1). O menor valor para a DL_{95} foi encontrado com o isolado LCB62 ($2,19 \times 10^8$), embora tenha obtido valor intermediário para a DL_{50} , e o maior valor para a DL_{95} foi observado com o isolado LCB56 ($4,13 \times 10^{13}$).

Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Dactylopius opuntiae* Cockerel (Hemiptera: Dactylopiidae) no Semi-Árido nordestino

Tabela 1 - Virulência de isolados de *Beauveria bassiana* a ninfas de *Dactylopius opuntiae* em condições de laboratório.

Isolados				χ^2	P
CG24	$6,21 \times 10^3$	$1,25 \times 10^2$	$1,86 \times 10^5$	1,67	0,643
	$1,51 \times 10^{10}$	$3,22 \times 10^8$	$1,62 \times 10^{21}$		
LPP19	$1,83 \times 10^3$	$1,57 \times 10^2$	$8,56 \times 10^4$	4,467	0,215
	$1,35 \times 10^9$	$4,61 \times 10^7$	$4,95 \times 10^1$		
LCB62	$8,41 \times 10^5$	$1,61 \times 10^5$	$2,57 \times 10^6$	0,328	0,559
	$2,19 \times 10^8$	$4,94 \times 10^7$	$4,10 \times 10^{10}$		
LCB110	$2,73 \times 10^6$	$9,57 \times 10^5$	$6,82 \times 10^8$	2,557	0,470
	$7,69 \times 10^9$	$1,73 \times 10^8$	$1,18 \times 10^{11}$		
LCB55	$3,85 \times 10^5$	$5,47 \times 10^5$	$1,98 \times 10^7$	4,56	0,207
	$1,08 \times 10^{11}$	$3,45 \times 10^9$	$1,55 \times 10^{15}$		
LCB52	$4,73 \times 10^6$	$4,29 \times 10^4$	$9,38 \times 10^7$	4,48	0,217
	$3,49 \times 10^{12}$	$1,02 \times 10^{10}$	$1,22 \times 10^{23}$		
LCB56	$3,64 \times 10^7$	$3,47 \times 10^5$	$1,97 \times 10^8$	0,915	0,822
	$4,13 \times 10^{13}$	$3,45 \times 10^9$	$1,55 \times 10^{15}$		

DL₅₀ – dose letal para 50% da população.

DL₉₅ – dose letal para 95% da população.

O uso de fungos entomopatogênicos em experimentos para o controle de diferentes espécies de cochonilhas tem demonstrado resultados promissores. Embora *D. opuntiae* apresente uma forte barreira à penetração e colonização pelos fungos entomopatogênicos, formada por uma espessa camada cerosa, alguns relatos demonstram o potencial do uso dos fungos em outras cochonilhas com características similares. Alves *et al.* (2007) verificaram uma mortalidade de 78% em *Planococcus citri* resultante da aplicação do fungo *M. anisopliae* ESALQ 1037. Enquanto que *B. bassiana* e *Lecanicillium lecanii* causaram elevada mortalidade de ninfas e adultos de *Orthezia praelonga* em experimentos de campo (Gravena *et al.*, 2006).

Os isolados CG24 e LPP19 foram selecionados como os mais promissores para futuros experimentos de controle de ninfas de *D. opuntiae* por apresentarem menor DL₅₀. O isolado LCB62 deverá fazer parte dos estudos a serem conduzidos por ter apresentado menor DL₉₅. Ensaios de campo serão realizados com os isolados mais promissores verificando seu desempenho em condições adversas.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da FINEP e Embrapa e ao CNPQ, CAPES e Embrapa, pela concessão de bolsas aos autores.

Referências Bibliográficas

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-266, 1925.

ALVES, S. B. (Org.) **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.

ALVES, S. B.; MASCARIN, G. M.; PAULI, G.; GUARIN-MOLINA, J. H.; LOPES, R. B. Suscetibilidade de *Planococcus citri* a fungos entomopatogênicos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 10., 2007, Brasília, DF. **Inovar para preservar a vida: resumos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 1 CD-ROM. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 250).

BOTREL, N.; SIQUEIRA, D. L. D. Controle da cochonilha-do-abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 2, p. 223-227, 1993.

CARVALHO, R. A. **Medidas para o controle de infestações de *Dactylopius opuntiae*: estudo de casos**. Palestra proferida na 2. Reunião de Articulação de Combate a cochonilha-do-carmim. Sertânia, PE, mar. 2007.

DIODATO, L.; ITURREL, M.; PAZI, M. E. Especies de *Dactylopius* en Argentina y factores que inciden en su producción. **Quebracho - Revista de Ciencias Forestales**, Santiago del Ester, n. 11, p. 67-72, 2004.

FERRIS, G. F. **Atlas of the scale insects of North America**: the families Acleridae, Asteroclecaniidae, Conchaspidae, Dactylopiidae and Lacciferidae. Palo Alto: Stanford University Press, 1955. v. 3, 333 p.

FLORES-HERNÁNDEZ, A.; MURILLO-AMADOR, B.; RUEDA-PUENTE, E. O.; SALAZAR-TORRES J. C.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, J. L.; TROYO-DIÉGUEZ, E. Reproducción de cochinilla silvestre *Dactylopius opuntiae* (Homóptera: Dactylopiidae). **Revista Mexicana de Biodiversidad**, Mexico, v. 77, n. 1, p. 97-102, 2006.

GALLO, D.; NAKANO O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 902 p.

GRAVENA, S.; GRAVENA, A. R.; SILVA, J. L. da; BENVENGA, S. R.; GRAVENA, R.; BATISTELA, M. J. *Beauveria bassiana* e *Lecanicillium lecanii* no manejo da cochonilha *Ortézia*, *Orthezia praelonga* (Douglas) (Hemiptera:Ortheziidae), em citros, *Citrus sinensis* Osbeck. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 21., 2006, Recife. **Resumos...** Recife: SEB: UFRPE, 2006. 1 CD-ROM.

SANTOS, D. C. dos; FARIAS, I.; LIRA, M. de A.; SANTOS, M. V. F. dos; ARRUDA, G. P. de; COELHO, R. S. B.; DIAS, F. M.; MELO, J. N. de. **Manejo e utilização da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco**. Recife: IPA, 2006. 48 p.

