

Patogenicidade de formulações bioinseticidas à base de *Beauveria bassiana* sobre a broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum*

Maria Clezia dos Santos¹, Priscila de Melo Santos², José Guedes de Sena Filho³, Adenir Vieira Teodoro⁴

Resumo

A broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas da cultura do coqueiro no Brasil. O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* é eficaz no controle dessa praga, no entanto uma ausência de trabalhos descritos na literatura no que concernem a formulados a base do fungo é notória. Formulados de conídios de *B. bassiana* fornecem maior estabilidade ao meio externo, além de garantir um valor agregado do ponto de vista comercial. O presente trabalho teve por objetivo a avaliação da patogenicidade de formulados bioinseticidas à base do fungo entomopatogênico *B. bassiana* sobre a *R. palmarum* em condições de laboratório. Os experimentos foram realizados com diferentes formulados à base de matriz polimérica de Alginato (A) e bentonita (B) a 2, 4 e 6%, bem como Alginato e bentonita com diferentes granulometrias (4 e 6%). Os formulados foram avaliados quanto a liberação de conídios, viabilidade e patogenicidade a *R. palmarum* ao longo do tempo. No que se refere a liberação de conídios dos formulados AB2 e AB4, não houve diferença estatisticamente significativa entre os intervalos de 6 a 48 horas. Em relação à viabilidade, os formulados apresentaram alta taxa de germinação, com porcentagens superiores a 85%. A formulação AB4 (4 g) e AB4 (1) infectaram um maior número de adultos de *R. palmarum* ao longo de 25 dias. Em geral, as formulações mantiveram a viabilidade do fungo entomopatogênico *B. bassiana*

¹Graduanda de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal de Sergipe (UFS), bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

²Graduanda de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal de Sergipe (UFS), estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. ³Farmacêutico, doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, analista da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

ao longo do tempo. Adicionalmente, AB4 (4 g) foi o formulado que apresentou maior patogenicidade a adultos de *R. palmarum*.

Palavras-chave: fungo entomopatogênico, nanotecnologia, coleobroca.

Introdução

A broca-do-olho *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) é uma praga chave do coqueiro no Brasil e causa danos diretos e indiretos à produção (FERREIRA et al., 1998, FERREIRA; MICHEREFF FILHO, 2002, HOWARD et al., 2001, FERREIRA, 2009). As larvas da broca se desenvolvem no interior da planta, formando galerias nos tecidos da região apical, culminando em sua morte enquanto os adultos são vetores do nematoide causador da doença conhecida por anel vermelho e do fungo causador da resinose (FERREIRA et al., 1998, HOWARD et al., 2001, FERREIRA; MICHEREFF FILHO, 2002, EPPO 2005). Por serem doenças letais, o controle do inseto vetor é a estratégia mais indicada para evitar prejuízos. Armadilhas de autoinoculação contendo o feromônio sintético (rincoforol), iscas vegetais como cana-de-açúcar e o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* poderiam ser usadas no controle dessa praga. No entanto, faz-se necessário estudos adicionais como o intuito de viabilizar tecnologias aplicadas a encapsulação do *B. bassiana* uma vez que o fungo necessitaria ser disponibilizado na forma de um produto comercial que fosse eficiente e que preservasse seus conídios de forma a permitir seu uso no campo. É neste contexto que a nanotecnologia pode ser uma aliada por meio dos micro e nanocarreadores de bioativos, pois oferece possibilidade de proteção do produto a ser complexado, encapsulado ou intercalado. Esta já é uma aplicação consagrada na área farmacêutica e uma extrapolação desta aplicação permite a imobilização de fungos entomopatogênicos e/ou seus metabólitos. Assim, a presente proposta visa a investigação de formulações bioinseticidas desenvolvidas em parceria com a Universidade Federal de Alagoas no âmbito do projeto "Desenvolvimento de bioinseticidas nanoestruturados à base de *B. bassiana* e seu uso no controle de pragas do coqueiro, código 03.11.09.017.00.00" financiado pela Embrapa. Ao longo do projeto, foram desenvolvidos formulados à base de *B. bassiana* em matriz polimérica de alginato de sódio e concentrações crescentes de bentonita sódica (2, 4 e 6%) (BATISTA et al., 2013 citado por BATISTA et al., 2014).

Os formulados foram capazes de encapsular 10^8 conídios/mL sem prejuízo à matriz, a qual não interferiu na viabilidade do fungo. Também foi evidenciado um retardo na liberação do fungo com o aumento da concentração de bentonita (efeito de barreira) e redução do índice de intumescimento. Dessa forma, a depender da formulação, a velocidade de liberação pode ser modulada (BATISTA et al., 2013 citado por BATISTA et al., 2014). No entanto, para se chegar ao produto final, se faz necessário investigar a patogenicidade dessas formulações sobre a praga alvo em condições laboratoriais.

Material e Métodos

As formulações de matriz polimérica à base de alginato e bentonita (2, 4, e 6%) e de diferentes tamanhos granulométricos (pequeno e grande) foram testadas quanto a patogenicidade a *R. palmarum*. Os insetos foram coletados mensalmente em coqueirais da região de Neópolis – SE e mantidos em recipientes plásticos nos laboratórios de Entomologia e de Controle Biológico.

Os insetos capturados no campo ficaram em quarentena antes dos experimentos. Diferentes quantidades das formulações imersas em Tween 80 a 0,05% foram utilizadas para a determinação da liberação e viabilidade de conídios: AB2 (0,1 e 0,5 g), AB4 (0,1; 0,5; 1,0 e 4 g), AB6 (0,5 e 1,0g), AB4p (1 g), AB4g (1g) e AB6g (1 g). A avaliação na concentração total dos conídios dos formulados foi realizada através da retirada de uma alíquota da suspensão, com auxílio de uma pipeta e avaliada em câmara de Neubauer, nos intervalos de 0, 3, 6, 12, 24, e 48 horas. A liberação temporal de conídios foi analisada por meio de Anova para Medidas Repetidas. Posteriormente, uma amostra de cada suspensão foi espalhada com o auxílio de uma alça Drigalski em placas de Petri contendo meio batata dextrose agar (BDA). As placas foram incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Após 24 horas, a porcentagem de conídios germinados e não germinados foi determinada com auxílio de um microscópio óptico (ALVES, 1998). Para os testes de patogenicidade, adultos de *R. palmarum* foram pulverizados em torre de Potter (POTTER, 1952) calibrada a uma pressão de 5 psi, com um volume de 2,8 mL da suspensão. Foram avaliados 11 formulados com dez repetições cada. Os dados dos testes foram submetidos a Anova para Medidas Repetidas.

Resultados e Discussão

De uma forma geral, todos os formulados apresentaram um aumento na liberação de conídios até seis horas, a partir de então foi observado um ponto de saturação até 48 horas (Figura 1). Segundo Batista et al., 2014, os bioinseticidas micro/nanoestruturados à base de *B. bassiana* são capazes de encapsular 10^8 conídios/mL. Os formulados avaliados no presente estudo liberaram em torno de 10^6 conídios/mL, podendo-se observar um aumento considerável na liberação (10^7) quando o peso foi quadruplicado (Tabela 1). A liberação de conídios da formulação AB6 não diferiu estatisticamente da AB4 (Tabela 1).

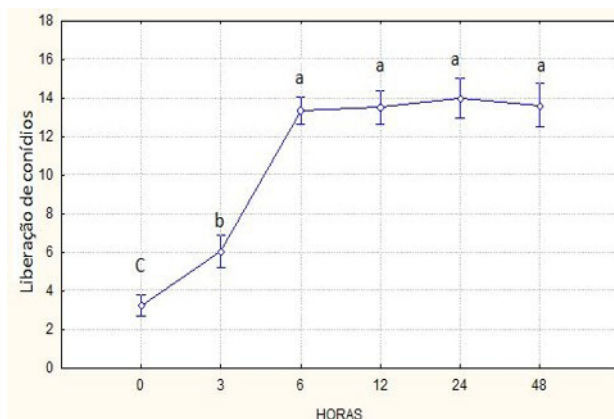


Figura 1. Liberação de conídios de *B. bassiana* ao longo do tempo, independente da formulação ($F_{5,46} = 120,42$ $P < 0,001$).

Tabela 1. Liberação de conídios de diferentes formulados de alginato e bentonita.

| Formulados (g) | Liberação de conídios/ mL |
|-------------------|-----------------------------|
| AB2 (0,1) | 1,9x10⁶ |
| AB2 (0,5) | 2,3x10⁶ |
| AB4 (0,1) | 2,56x10⁶ |
| AB4(0,5) | 2,8x10⁶ |
| AB4 (1) | 6,4x10⁶ |
| AB4 (4) | 1,173x10⁷ |
| AB6 (0,5) | 3,1x10⁶ |
| AB6(1) | 5,9x10⁶ |
| AB4p(1) | 4,3x10⁶ |
| AB4g(1) | 5,8x10⁶ |
| AB6g(1) | 5,9x10⁶ |

Pode-se observar desta forma que o tamanho dos formulados não forneceu dados estatisticamente significativos no que concernem a liberação dos conídios (Tabela 1). Os resultados referentes à viabilidade de germinação dos diferentes formulados foi $\geq 85\%$, para todas as suspensões analisadas. De acordo com Polanczyk et al. (2010), valores acima de 85% são ideais para patogenicidade de fungos entomopatogênicos, indicando uma eficiência na viabilidade de germinação dos conídios dos diferentes formulados avaliados. A mortalidade de *R. palmarum* aumentou com a quantidade em gramas dos formulados AB2, AB4 e AB6 (Figura 2).

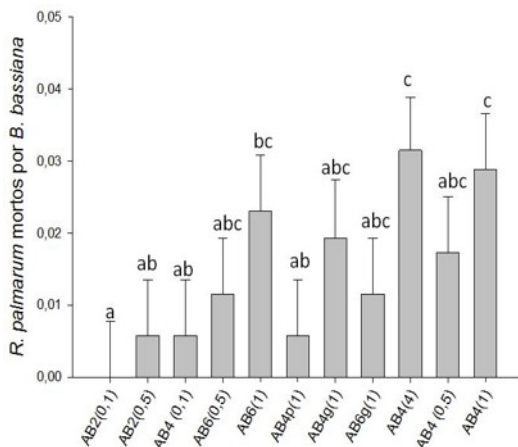


Figura 2. Patogenicidade de diferentes formulados de alginato e bentonita a *R. palmarum* ao longo de 25 dias ($P < 0,05$).

Conclusões

Dentre os formulados analisados, AB4 (4) e AB4 (1) foram os que apresentaram maior patogenicidade frente a *R. palmarum*. No geral, as formulações mantiveram a viabilidade do fungo entomopatogênico *B. bassiana* ao longo do tempo. Faz-se necessário a otimização de formulados contendo alginato e bentonita no que diz respeito a velocidade de liberação de conídios para a obtenção de um produto comercial eficiente no controle de *R. palmarum*.

Referências

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

BATISTA, D. P. C.; SOUZA, R. S.; MAGALHAES, N. S. S.; SENA FILHO, J. G.; TEODORO, A.V.; GRILLO, L. A. M.; BATISTA, D. P. C.; SAOUZA, R. da S.; MAGALHAES, N. S. S.; SENA FILHO, J. G. de; TEODORO, A. V.; GRILLO, L. A. L.; DORNELAS, C. B. Formulações bioinseticidas de *Beaveria Bassiana* a

base de nanocomposito polimérico visando o controle de praga do coqueiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE POLÍMEROS, 12., 2013, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABPol, 2013.

BATISTA, D. P. C.; SOUZA, R. S.; MAGALHAES, N. S. S.; SENA FILHO, J. G.; TEODORO, A. V.; GRILLO, L. A. M.; DORNELAS, C. B. 2014. Polymer/ layered silicate nanocomposite as matrix for bioinsecticide formulation. **Macromolecular Symposia**, v. 344, p. 14-21, 2014.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization).

Rhynchophorus palmarum. OEPP/EPPO, 2005. (Bulletin OEPP/EPPO, 35). p. 468-471.

FERREIRA, J. M.S.; LIMA, M. F.; SANTANA, D. L. Q.; MOURA, J. I. L.; SOUZA, L.A. Pragas do coqueiro. IN: FERREIRA J. M. S.; WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. (Ed.) **A cultura do coqueiro no Brasil**. 2 ed. Brasília: Embrapa - SPI; Aracaju: Embrapa, 1998, CPATC. p. 189-267.

FERREIRA, J. M. S.; MICHEREFF FILHO, M. (Ed.) **Produção integrada do coco: práticas fitossanitárias**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 107 p.

FERREIRA, J. M. S. Pragas e métodos de controle ajustados à baixa capacidade de investimentos dos pequenos produtores rurais. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 233 p. p. 191-218.

HOWARD, F. W.; MOORE, D.; GIBLIN-DAVIS, R.M.; ABAD, R. G. **Insects on palms**. Wallingford: CABI Publishing, 201. 400 p.

POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; DALVI, L. P.; GRECCO, E.D.; FRANCO, C.R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) *Vuillemin* e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Plantner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciências Agrotécnicas**, v. 34, n. 6, p. 1412-1416, 2010.

POTTER, C. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray films. **Annals of Applied Biology**, v. 39, p. 1-29, 1952.