



ARTIGO

**Eficiência de isolados comerciais de
Beauveria bassiana (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok
(Hypocreales: Cordycipitaceae, Clavicipitaceae)
sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)**

Márcia Daniela dos Santos^{1*}, Mércia Elias Duarte¹, Ellen Carine Neves Valente²,
Tiago Jorge Araújo Barbosa² e Edmilson Santos Silva³

Recebido: 17 de fevereiro de 2015 Recebido após revisão: 8 de março de 2016 Aceito: 11 de março de 2016
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/3313>

RESUMO: (Eficiência de isolados comerciais de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok (Hypocreales: Cordycipitaceae, Clavicipitaceae) sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)). Objetivou-se verificar a eficiência dos isolados comerciais ESALQ 634 de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e IBCB 425 de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre *Tetranychus urticae* Koch. Para o desenvolvimento do trabalho utilizou-se fêmeas adultas de *T. urticae* mantidas sobre plantas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* L. em casa de vegetação. Os isolados comerciais foram cedidos pelo laboratório Fitoagro de controle biológico Ltda. Discos de folhas de feijão-de-porco foram previamente imersos em 10 mL das suspensões fúngicas por cinco segundos e mantidos à temperatura ambiente sobre papel filtro por 30 minutos. Transferiu-se 15 fêmeas adultas de *T. urticae* para cada disco. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, constando de três tratamentos, dois fungos (*M. anisopliae* e *B. bassiana* na concentração de 1×10^7 conídios/mL) e o controle (água destilada) e sete repetições. Verificou-se que na sexta avaliação, os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* apresentaram valores de mortalidade corrigida de 100,0 e 97,4%, e uma mortalidade confirmada de 85,7 e 76,2%, respectivamente, não diferido entre si pelo teste de Tukey, $P < 0,05$. Portanto, os isolados comerciais IBCB 425 de *M. anisopliae* e ESALQ 634 de *B. bassiana* testados podem ser eficientes no controle de *T. urticae*.

Palavras-chave: controle biológico, ácaro-praga, entomopatógenos.

ABSTRACT: (The efficiency of commercial isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok (Hypocreales: Cordycipitaceae, Clavicipitaceae) on the spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)). We aimed to evaluate the efficiency of the commercial isolates ESALQ 634, of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, and IBCB 425, of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, on *Tetranychus urticae* Koch. We used adult females of *T. urticae* kept on jack bean plants (*Canavalia ensiformis* L.) in greenhouse. Commercial isolates were provided by Laboratório Fitoagro de Controle Biológico Ltda. Leaf disks of jack beans were immersed in 10 mL of fungal suspensions for five seconds, placed on filter papers, and kept at room temperature for 30 min. Fifteen adult females of *T. urticae* were then transferred to each disk. The experimental design was completely randomized, consisting of seven repetitions and three treatments: two fungi (*M. anisopliae* and *B. bassiana*, at concentration 1×10^7 spores/mL) and control (distilled water). On the sixth evaluation, fungi *M. anisopliae* and *B. bassiana* showed corrected mortality of 100 and 97.4%, respectively, and confirmed mortality of 85.7 and 76.2%, respectively. In neither parameter did the species differ by Tukey test ($P < 0.05$). Therefore, the commercial isolates IBCB 425, of *M. anisopliae*, and ESALQ 634, of *B. bassiana*, were efficient in the control of *T. urticae*.

Keywords: biological control, mite pests, entomopathogenic.

INTRODUÇÃO

O ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch é considerado uma das principais pragas encontrada em todo o mundo, tendo uma grande diversidade de hospedeiros. No Brasil, foi observado causando sérios danos às culturas do feijão, algodão, maçã, morango, mamão, pepino, tomate, fruteiras, plantas ornamentais, entre outras. Este ácaro costuma formar numerosas colônias na face abaxial das folhas, as quais quando atacadas apresentam manchas amareladas ou avermelhadas no limbo foliar; inicialmente surgem áreas cloróticas, que se tornam bronzeadas, causando

a morte e queda das folhas e sérias perdas na produção (Moraes & Flechtmann 2008).

A principal forma de controle do *T. urticae* ocorre por meio de produtos sintéticos como Abamectim[®], Tetradifon[®], Chlofenapyr[®], Dicofol[®], entre outros. Dentre os problemas associados a estes produtos destaca-se o desenvolvimento acelerado de resistência destes ácaros, que têm ciclo de vida curto. O aumento das dosagens, a frequência das aplicações e a assídua substituição de produtos têm contribuído significativamente para o desenvolvimento da resistência muitas vezes depois de

1. Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Campus Delza Gitai, BR 104 Norte, Km 8. CEP 57100-000, Alagoas, Brasil.

2. Instituto Federal de Alagoas, Campus Maragogi, Rodovia Arnon de Melo, AL 101 Norte, S/N. Bairro Atemar de Barros, CEP 57955-000, Alagoas, Brasil.

3. Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca. Av. Manoel Severino Barbosa, s/n, Bom Sucesso, CEP 57309-005, Alagoas, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: md_santos2006@hotmail.com

poucas aplicações (Van Leeuwen *et al.* 2010, Nicastro *et al.* 2010). A utilização destes produtos também provoca sérios riscos à saúde pública e ao ambiente (Preza *et al.* 2011). Entre as alternativas para redução de tais problemas encontra-se a possibilidade da utilização de fungos entomopatogênicos em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Rocha *et al.* 2012).

Os fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) são empregados no controle biológico por apresentarem uma gama imensa de hospedeiros, fácil produção em escala industrial, formulação e aplicação. Estudos sobre a eficiência de isolados de fungos entomopatogênicos agindo sobre ácaros tetraniquídeos mostraram resultados promissores (Tamai *et al.* 2002, Oliveira *et al.* 2002, Oliveira *et al.* 2004, Cavalcanti *et al.* 2008, Bugeme *et al.* 2008, Bugeme *et al.* 2009). Os ácaros, quando infectados por esses organismos, perdem a mobilidade e apresentam seu corpo recoberto por micélio; o cadáver torna-se geralmente descolorido e endurecido, sendo possível visualizar estruturas reprodutivas do patógeno, facilitando seu reconhecimento (Cavalcanti *et al.* 2008).

Os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* possuem um grande potencial como agentes para o controle de ácaros-praga, principalmente por serem facilmente produzidos em meios de cultura e sob condições de laboratório. No entanto, para que estes entomopatógenos sejam eficientes no controle destes organismos, é necessário que estejam em condições de temperatura e umidade adequadas. Com este trabalho, objetivou-se verificar a eficiência dos isolados IBCB 425 de *M. anisopliae* e ESALQ 634 de *B. bassiana* sobre *T. urticae* em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas – CECA/UFAL. Durante a execução o experimento foi mantido em câmara tipo B.O.D. a 26 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Fêmeas adultas de *T. urticae* foram obtidas a partir de uma criação estoque em plantas de feijão-de-porco *Canavalia ensiformis* L. no laboratório de Entomologia/Acarologia da Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca.

Foram utilizados os isolados IBCB 425 de *M. anisopliae* e ESALQ 634 de *B. bassiana*, ambos fornecidos pelo Laboratório Fitoagro–Controle Biológico Ltda.

As suspensões foram preparadas a partir de fungos produzidos em meio de arroz em sacos de polipropileno. Uma alíquota do fungo mais o arroz foram colocados em um béquer de vidro contendo 100 mL de água esterilizada mais Tween® 20 a 0,01% e em seguida agitados em vórtex. Posteriormente, o conteúdo foi filtrado em gaze, obtendo-se a suspensão padrão. Após este procedimento foram feitas diluições para ajuste da concentração em 1×10^7 conídios/mL para ambos os fungos. Para contagem

de conídios utilizou-se uma câmara de Neubauer, com o auxílio de um microscópio óptico.

A avaliação da viabilidade dos conídios foi determinada através da contagem dos conídios germinados e não germinados, em microscópio óptico, 24 horas após o plaqueamento de 0,1mL da suspensão em BDA + A (Alves & Moraes 1998).

Bioensaios

As arenas foram confeccionadas utilizando-se recipientes de polietileno com capacidade de 10 mL, contendo discos de papel filtro umedecidos com água destilada. Sobre estes, foram colocados discos de 2 cm diâmetro de folhas de feijão-de-porco com 21 dias de idade, estes foram imersos em 10 mL das suspensões fúngicas por cinco segundos e secos à temperatura ambiente sobre papel filtro por 30 minutos para eliminar o excesso de líquido sobre o mesmo. Em seguida, foram transferidas 15 fêmeas adultas do ácaro *T. urticae* para cada arena, com o auxílio de microscópio estereoscópico e pincel de cerdas finas. Posteriormente, as arenas foram cobertas com filme plástico. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, constando de três tratamentos, sendo dois fungos (*M. anisopliae* e *B. bassiana* na concentração de 1×10^7 conídios/mL) e a testemunha (água destilada) e sete repetições. As avaliações foram feitas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a imersão dos discos na suspensão fúngica, onde se observou a mortalidade dos ácaros. Os ácaros mortos foram acondicionados em câmara úmida para confirmação do agente causal registrando-se, assim, a mortalidade confirmada.

A mortalidade foi corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o programa SAS (SAS Institute Inc. 2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados fúngicos IBCB 425 de *M. anisopliae* e ESALQ 634 de *B. bassiana* apresentaram viabilidades superiores a 95%, demonstrando alta capacidade germinativa dos mesmos. Os resultados obtidos para mortalidade corrigida aos seis dias após a inoculação dos dois isolados foram semelhantes em sua atuação e diferiram da testemunha pelo teste de Tukey 5%, apresentando mortalidade do ácaro *T. urticae* de 100, 97,2 e 18,1%, respectivamente ($F = 441,39$; $GL = 2; 18$; $P < 0,0001$) (Tab. 1).

Em trabalho realizado por Bugeme *et al.* (2009), foi observado a virulência de três isolados de *B. bassiana* e 23 de *M. anisopliae* sobre fêmeas adultas de *T. urticae* em folhas de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e constataram variação na mortalidade de 92,8 a 98,5% para *B. bassiana* e de 71,5 a 95,6% para *M. anisopliae*. Cavalcanti *et al.* (2008), utilizando quatro isolados de *B. bassiana* (UFLA 13, UFLA 16, UFLA 17 e IPA 202) empregando a concentração de 10^8 esporos/mL, observaram que apenas UFLA 13 promoveu mortalidade próxima a

Tabela. 1 Mortalidade corrigida (%) e confirmada (%) de fêmeas de *Tetranychus urticae* por isolados comerciais *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios/mL, seis dias após a inoculação. Temp.: 26 ± 2 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h.

Tratamentos	Mortalidade Corrigida (%) ¹	Mortalidade Confirmada (%)
Testemunha	18,1 \pm 3,16a	0,00 \pm 0,00b
<i>Metarhizium anisopliae</i> (IBCB 425)	100,0 \pm 0,00b	85,7 \pm 2,69a
<i>Beauveria bassiana</i> (ESALQ 634)	97,8 \pm 2,20b	76,2 \pm 6,64a
CV	16,58	

1. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

70% do ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* McGregor (Acari: Tetranychidae). Enquanto, Bugeme *et al.* (2008), avaliando a virulência de três isolados de *B. bassiana* e 23 de *M. anisopliae*, constataram que todos foram virulentos para *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae). Vale ressaltar que em ambos os trabalhos os ácaros-praga pertencem à mesma família do ácaro rajado. Com isso, a utilização de fungos entomopatogênicos no controle deste organismo torna-se promissora, uma vez que sua utilização reduz os danos causados ao meio ambiente, além de diminuir os custos de produção por meio de sua fácil produção em grande escala, formulação e aplicação. No entanto, deve-se destacar que para maior eficiência destes biocontroladores são necessárias condições ambientais favoráveis de umidade e temperatura.

A mortalidade confirmada aos seis dias de avaliação mostra que os isolados testados foram patogênicos ao ácaro *T. urticae*, apresentando mortalidades superiores a 75% (Tab.1). Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Moro *et al.* (2011), que constataram mortalidade confirmada para *T. urticae* de 92,4 a 100,0% para *M. anisopliae* e 83 a 99% para *B. bassiana* ao quinto dia após a inoculação, utilizando as formulações comerciais Boveril® e Metarril® de fungos entomopatogênicos em quatro cultivares de mamão. Tamai *et al.* (2002), avaliaram 32 isolados de *B. bassiana* e 10 de *M. anisopliae* quanto a patogenicidade a *T. urticae* e verificaram que 19 isolados de *B. bassiana* apresentaram valores de mortalidade corrigida ao quinto dia entre 60 a 80%, sendo que apenas oito isolados causaram mortalidades superiores a 80%. Em relação a *M. anisopliae*, oito isolados apresentaram valores superiores a 80% de mortalidade corrigida ao quinto dia, sendo que 4 isolados apresentaram mortalidades superiores a 90%.

Quando se testou a suscetibilidade de *Oligonychus yothersi* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) a *B. bassiana*, Oliveira *et al.* (2002) concluíram que o ácaro é suscetível a este entomopatógeno em diferentes níveis, e utilizando a concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios mL⁻¹ observaram mortalidade total entre 77 e 98% após o sexto dia da aplicação, no entanto, não permitindo diferenciar

os isolados quanto à virulência ($P > 0,05$). Quanto a mortalidade confirmada variou entre 19 e 75%, permitindo diferenciá-los ($P < 0,05$). Selecionando fungos entomopatogênicos para o controle de *O. yothersi*, na cultura da erva-mate *Ilex paraguariensis* St. Hill. Oliveira *et al.* (2004) verificaram que dos 10 isolados de *M. anisopliae* testados, 60% causaram mortalidade confirmada inferior a 29%, o restante (40%) ocasionaram mortalidade entre 30% e 50%. Enquanto, para *B. bassiana* foram testados 64 isolados, 58% causaram mortalidade confirmada inferior a 50%, 18 isolados (28%) apresentaram mortalidade entre 50 e 69% e apenas nove isolados (14%) ocasionaram mortalidade confirmada $\geq 70\%$. Considerando que o uso de fungos entomopatogênicos pode ser uma estratégia para o MIP, os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que os isolados comerciais IBCB 425 de *M. anisopliae* e ESALQ 634 de *B. bassiana* podem ser eficientes no controle de *T. urticae*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e à FAPEAL (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas), pela concessão das bolsas de mestrado e doutorado.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- ALVES, S. B. & MORAES, S. A. 1998. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Fealq. p. 289- 381.
- BUGEME, D. M., MANIANIA, N. K., KNAPP, M. & BOGA, H. I. 2008. Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to *Tetranychus evansi*. *Experimental and Applied Acarology*, 46: 275-285.
- BUGEME, D. M., KNAPP, M., BOGA, H. I., WANJOYA, A. K. & MANIANIA, N. K. 2009. Influence of temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae*. *Mycopathologia*, 167: 221-227.
- CAVALCANTI, R. S., REIS, P. R., MOINO JUNIOR, A., ALTOÉ, B. F., FRANCO, R. A. & CARVALHO, T. M. B. 2008. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos a três espécies de ácaros em cafeeiro. *Coffee Science*, 3: 68-75.
- MORAES, G. J. & FLECHTMANN, C. H. W. 2008. *Manual de Acarologia: Acarologia básica e Ácaros de Plantas Cultivadas no Brasil*. 1st ed. Ribeirão Preto: Holos. 308 p.
- MORO, L. B., POLANCZYK, R. A., PRATISSOLI, D., CARVALHO, J. R. & FRANCO, C. R. 2011. Potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae) em mamoeiro: efeito de cultivares sobre a patogenicidade. *Arquivos do Instituto Biológico*, 78: 267-272.
- NICASTRO, R. L., SATO, M. E. & SILVA, M. Z. 2010. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. *Experimental and Applied Acarology*, 50: 231-241.
- OLIVEIRA, O. C., ALVES, L. F. A., NEVES, P. M. O. J. 2002. Suscetibilidade de *Oligonychus yothersi* (Acari:Tetranychidae) ao fungo *Beauveria bassiana*. *Scientia Agricola*, 59(1): 187-189.
- OLIVEIRA, R. C. de, NEVES, P. M. O. J. E. & ALVES, L. F. A. 2004. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Oligonychus*

- yotheri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). *Neotropical Entomology*, 33(3): 347-351.
- PREZA, D. L. C., NOGUEIRA, T. F. & SILVA AUGUSTO, L. G. 2011. Práticas na comercialização e na indicação de agrotóxicos em região produtora de hortaliças no Estado da Bahia. *Magistra*, 23: 168-174.
- SAS Institute Inc. 2001. *SAS Introductory Guide for Personal Computers, Release 6*. Cary: Sas Institute Inc. 111 p.
- ROCHA, R. B., MELO, E. A. S. F., SANTOS, O. O. & BITTENCOURT, M. A. L. 2012. Compatibilidade e efeito de produtos comerciais à base de nim e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Metamasius hemipterus* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Magistra*, 24: 39-51.
- TAMAI, M. A., ALVES, S. B., ALMEIDA, J. E. M. de, & FAION, M. 2002. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, 69(3): 77-84.
- VAN LEEUWEN, T., VONTAS, J., TSAGKARAKOU, A., DERMAUW, W. & TIRRY, L. 2010. Acaricide resistance mechanisms in two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30: 1-10.