

INFECÇÃO DE *Conotrachelus humeropictus* FIEDLER (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOR. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. NO SOLO

Antonio C. B. MENDES¹, Bonifácio P. MAGALHÃES², Orlando S. OHASHI³,
Cleber N. BASTOS¹

RESUMO - Foi avaliada a infecção de larvas de *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, séria praga do cacauero (*Theobroma cacao* L.) e do cupuaçuzeiro (*T. grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.) na Amazônia brasileira, por *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. A pesquisa foi desenvolvida nos campos experimentais da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC, em Ouro Preto D'Oeste, Rondônia. Foram testadas suspensões de $3,93 \times 10^{10}$ conídios/ml de *M. anisopliae* e $4,26 \times 10^{10}$ conídios/ml de *B. bassiana*, pulverizadas superficialmente em solo contido em recipientes de PVC, onde em diferentes dias após a pulverização (um, três, sete e quatorze dias) liberou-se larvas do último instar da praga. *Beauveria bassiana* mostrou-se mais eficiente (52,0% de mortalidade) do que *M. anisopliae* (42,7%), evidenciando assim, seu maior potencial no controle da praga. Os índices de mortalidade foram estatisticamente iguais para larvas liberadas até o 7º dia da contaminação, decrescendo significativamente no 14º dia. A queda na efetividade pode estar associada à presença de microrganismos antagonistas no solo.

Palavras-chave: Controle biológico, insecta, *Theobroma cacao*, *Theobroma grandiflorum*

Infection of *Conotrachelus humeropictus* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae) by *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. in the Soil

ABSTRACT - The infection of *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, a serious pest of cocoa and cupuaçu fruit in the Brazilian Amazon, by *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* was evaluated. The research was conducted in a field station of the Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC, in Ouro Preto d'Oeste, Rondônia. Suspensions of 3.93×10^{10} conidia/ml of *M. anisopliae* and 4.26×10^{10} conidia/ml of *B. bassiana* were superficially sprayed on soil in PVC flasks. One, three, seven and fourteen days after spraying the last larval instar were released. *Beauveria bassiana* was more efficient (52.0% mortality) than *M. anisopliae* (42.7%). The mortalities were the same for larvae liberated until the 7th day after contamination, and were significantly lower on the 14th day. The decline in the efficacy of the pathogens may be related to the presence of antagonistic organisms in the soil.

Key-words: Biological control, insecta, *Theobroma cacao*, *Theobroma grandiflorum*

INTRODUÇÃO

Conotrachelus humeropictus Fiedler é considerada uma das principais pragas do cacauero, *Theobroma cacao* L., na Amazônia brasileira, sendo um dos fatores

responsáveis pela desclassificação e depreciação da qualidade intrínseca e extrínseca das amêndoas na região (Mendes *et al.*, 1988). Além dessa cultura, ataca os frutos de cupuaçu, *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. (Trevisan & Mendes,

¹CEPLAC/Superintendência Regional da Amazônia Oriental, C. Postal 1801, 66.635-110, Belém, PA, e-mail: acbm@ufpa.br

²EMBRAPA/CENARGEN, C. Postal, 02372, 70.849-970, Brasília, DF, boni@embrapa.cenargen.gov.br

³FCAP/Departamento de Biologia Vegetal e Fitossanidade, C. Postal 917, 66.077-530, Belém, PA

1991; Laker & Trevisan, 1992; Venturieri, 1993), tornando sua polpa, muito apreciada e utilizada para sucos e doces, imprestável para o consumo.

Aspectos do comportamento desta praga no campo foram apresentados por Trevisan (1969), tendo Mendes *et al.* (1997) elucidado parâmetros da biologia. Constataram que o inseto, abandonando o fruto, permanece no solo por um período médio de 20,25 dias, para completar as fases de pré-pupa, pupa e maturação fisiológica do adulto recém-formado, estando nesse período, mais vulnerável a ação de seus inimigos naturais.

O controle de *C. humeropictus* hoje utilizado se restringe exclusivamente ao uso de produtos químicos, com resultados duvidosos e, principalmente, antieconômicos, em decorrência do número elevado de aplicações do inseticida. Além desses aspectos, deve-se considerar os problemas de poluição ambiental que resultam em sérias conseqüências com relação aos prováveis resíduos em amêndoas e destruição da fauna benéfica. Por estes motivos, a busca de outros métodos de controle deve ser intensificada, de modo a reduzir a população do inseto a níveis de danos não econômicos.

Visando o controle de curculionídeos que passam pelo menos uma fase do seu ciclo no solo, os fungos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* foram

intensivamente testados, como para o controle de *Chalcodermus aeneus* (Bell & Hamalle, 1970; Quintella, 1986), *Curculio caryae* (Horn) (Tedders *et al.*, 1973; Gottwald & Tedders, 1983, 1984), *Conotrachelus nenuphar* (Tedders *et al.*, 1982) e de *Conotrachelus bimaculatus* Boh. (Quintella & Roberts, 1992; Quintella *et al.*, 1990, 1992, 1994).

A constatação de larvas de *C. humeropictus* infectadas pelos entomopatógenos *M. anisopliae* e *B. bassiana* na região de Ouro Preto D'Oeste, RO, e a potencialidade apresentada por esses fungos em laboratório para o controle da praga (Bastos *et al.*, 1988; Mendes, 1996), aliados ao hábito do inseto e ao ambiente favorável aos entomopatógenos no solo do agroecossistema cacauero, abriram perspectivas para o seu controle microbiano. Esse método, por sua compatibilidade, especificidade e segurança ao homem e a outras formas de vida, destaca-se como um dos mais promissores, principalmente quando associado a outras táticas de manejo integrado de pragas.

Assim, o presente trabalho teve por objetivos avaliar a infecção de larvas de *C. humeropictus* em diferentes períodos após a aplicação superficial dos entomopatógenos *M. anisopliae* e *B. bassiana* no solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Sob uma lavoura cacauera da Estação Experimental da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacauera

em Ouro Preto D'Oeste, RO (CEPLAC/ESEOP), foram distribuídos na superfície do solo recipientes de PVC (15 cm de diâmetro x 20 cm de altura) com fundo de tela de 1 mm de abertura e tecido de náilon. Estes recipientes continham em mais da metade de sua capacidade mistura de solo superficial e terra roxa estruturada eutrófica, retirada da própria lavoura e com a composição microbiológica pré-determinada. Sobre esta mistura de solo foram aplicados 7,0 ml de suspensões em água com Tween 0,05 % de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, correspondendo aproximadamente a 150 litros por hectare, nas concentrações de $3,93 \times 10^{10}$ e $4,26 \times 10^{10}$ conídios viáveis/ml, respectivamente, determinadas como as de melhores performances para o controle da praga por Mendes (1996).

A viabilidade dos conídios foi obtida adicionando-se 10 microlitros de uma suspensão com aproximadamente 10^4 conídios/ml, em placas de Petri com meio BDA. A suspensão foi espalhada por toda a superfície das placas, que, em seguida foram colocadas em estufa incubadora a 26°C de temperatura e fotofase de 12 horas. A avaliação dos conídios germinados e não germinados foi feita 16 horas após a incubação, observando-se 100 conídios de cada placa sob microscópio.

Após a aplicação dos entomopatógenos, com pulverizador costal, foram introduzidas em cada recipiente cinco larvas de *C. humeropictus* no último instar, totalizando dez larvas por parcela, da seguinte maneira: a) larvas distribuídas

um dia após a aplicação dos fungos; b) larvas distribuídas no 3º dia após; c) larvas distribuídas no 7º dia após e d) no 14º dia após. Os recipientes testemunha receberam pulverizações de água com Tween 0,05% na mesma quantidade que os tratamentos entomopatogênicos. O delineamento estatístico seguiu o esquema fatorial 3 x 4 em blocos, onde os fatores estudados consistiram das espécies fúngicas e dos diferentes períodos de introdução das larvas, com cinco repetições. Transcorrido o período de dez dias, para cada período de introdução, foram registrados os insetos vivos e reconhecidamente mortos pelos fungos no interior dos recipientes, os quais encontravam-se cobertos, desde a distribuição das larvas, com tecido de náilon, preso com ligas de borracha. Ao final dos ensaios, realizou-se a análise microbiológica qualitativa do solo contido nos recipientes, segundo o método de Nader (1992), utilizando-se meio extrato de malte-agar (EMA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois entomopatógenos revelaram índices de mortalidade significativamente diferentes entre os grupos tratados e a testemunha. Os valores médios de mortalidade de *C. humeropictus* devida a *B. bassiana* e *M. anisopliae* foram de 52,0% e 42,7%, respectivamente.

Os entomopatógenos provocaram índices de mortalidade similares para larvas liberadas até o 7º dia da pulverização do solo contido nas parcelas. Entretanto, no solo em que as larvas foram liberadas quatorze dias após a pulverização, os valores

decreceram de forma significativa, sugerindo assim uma tendência linear, tanto para *M. anisopliae* ($F = 23,90$; $R^2 = 0,86$; $a = 0,01$) como para *B. bassiana* ($F = 50,91$; $R^2 = 0,99$; $a = 0,01$) (Tab. 1; Fig. 1).

Os índices de mortalidade obtidos estão abaixo daqueles determinados por Tedders *et al.* (1982) para *C. nenuphar*, onde, diferentemente da presente pesquisa, *M. anisopliae* provocou um porcentual

Tabela 1. Mortalidade média (%) de *Conotrachelus humeropictus*, após liberação das larvas em diferentes dias, em solo pulverizado com suspensões de conídios de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em Ouro Preto D'Oeste, RO.

Tratamento	Concentração (conídios/ml)	Dias de liberação das larvas após pulverização			
		1	3	7	14
<i>B. bassiana</i>	$4,26 \times 10^{10}$	66,37aA ¹	60,17aA	52,01aA	29,80aB
<i>M. anisopliae</i>	$3,93 \times 10^{10}$	52,10aA	45,89aA	47,99aA	25,84aB
Testemunha ²	-	7,95bA	6,48bA	7,95bA	10,00bA

CV = 19,59 %

MS 5% = 11,42

¹Médias seguidas por letras distintas em colunas (minúsculas) e em linhas (maiúsculas) diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey. Para a análise estatística, as médias foram transformadas em $\text{arc sen } \sqrt{\% / 100}$.

²Mortalidade natural.

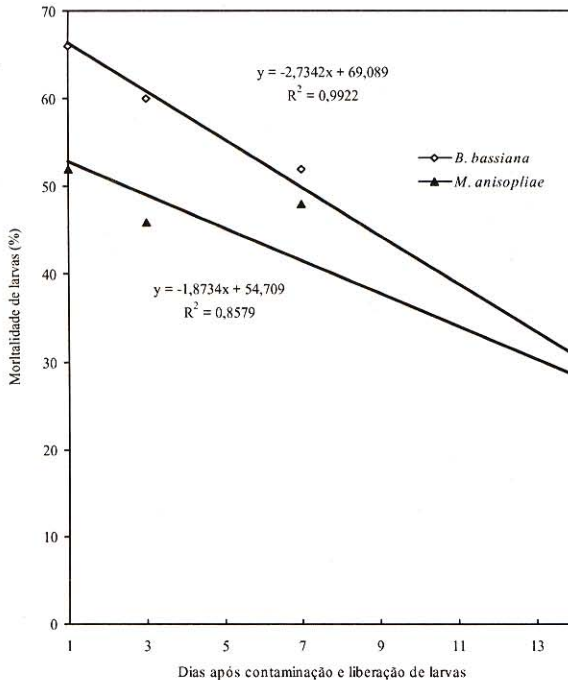


Figura 1. Porcentagem média de mortalidade de *Conotrachelus humeropictus*, liberados em diferentes dias após contaminação do solo com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*.

de mortalidade que variou de 82 a 100%, mostrando-se mais efetivo, inclusive, do que *B. bassiana*. Para *M. anisopliae*, não houve discordância quanto ao índice de mortalidade de larvas liberadas em diferentes dias, quando os autores verificaram não haver diferença significativa quanto à liberação após um, três, cinco e sete dias da contaminação do solo. Contudo, para *B. bassiana* os índices são conflitantes, já que os autores determinaram que as larvas liberadas um dia e sete dias após a contaminação apresentaram, respectivamente, a menor (26%) e a maior (82%) mortalidade.

Resultados semelhantes quanto a esse aspecto também foram apresentados por Quintela *et al.* (1994) para *C. bimaculatus*, onde a eficiência dos entomopatógenos não diminuiu seis dias após aplicação, sendo o número de insetos sobreviventes, dentro de cada tratamento, significativamente similar nas diferentes datas de liberação das larvas (imediatamente após a aplicação no solo, três, cinco e seis dias após). A eficiência média de controle encontrada pelos autores, em Goiás, foi de 50% para *M. anisopliae* e *B. bassiana*, próximo aos resultados da presente pesquisa.

O decréscimo da mortalidade de *C. humeropictus*, nas parcelas em que as larvas foram liberadas quatorze dias após a pulverização, pode ter sido favorecido pela presença de prováveis antagonistas constatados no solo no início do experimento (Tab. 2), entre os quais os fungos *Penicillium citrinum* Thom, *Penicillium citreonigrum* Thom, *Aspergillus*

versicolor (Vuill.) Tiraboschi e *Gliocladium virens* Miller, além de bactérias não identificadas. Estes organismos foram constatados por Mendes (1996) como principais antagonísticos, *in vitro*, desses entomopatógenos.

O declínio acentuado de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, em solos de cerrado de Goiás e do sertão semi-árido do Ceará, após seis e nove dias da aplicação dos entomopatógenos, também foi constatado por Quintela *et al.* (1992, 1994). Em avaliações seguintes, verificaram a estabilidade desses entomopatógenos, especialmente *B. bassiana*. Quintela *et al.* (1994) atribuíram ao rápido declínio e à baixa recuperação de *M. anisopliae*, a presença de *Aspergillus* no solo. Majchrowicz *et al.* (1990) se referiram a espécie de *Aspergillus clavatus* Link como antagonística à *B. bassiana*, e Lingg & Donaldson (1981) isolaram e comprovaram o efeito fungistático de *Penicillium urticae* sobre esse entomopatógeno.

Antagônicos presentes no solo têm sido referidos, entre outros, como responsáveis pela baixa persistência desses entomopatógenos neste substrato (Lingg & Donaldson, 1981; Oliveira *et al.*, 1981; Fargues *et al.*, 1983; Gottwald & Tedders, 1984; McCoy *et al.*, 1992; Pereira *et al.*, 1993). Entretanto, os resultados aqui obtidos revelaram persistência, já que 24 dias após a única aplicação *M. anisopliae* e *B. bassiana* ainda estavam presentes no solo (Tab. 2) e foram capazes de matar 25,8 e 29,8 % dos insetos-alvo liberados quatorze dias após a contaminação das parcelas pelos inóculos.

Tabela 2. Microrganismos presentes no solo de Ouro Preto D'Oeste, RO, antes (inicial) e 24 dias (final) após pulverização com suspensões de conídios *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*.

Microrganismo (Inicial)	Microrganismo (Final)
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	<i>Aspergillus</i> sp.,
<i>Fusarium</i> sp.	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
<i>Gliocladium candidum</i> Link ex Pers	<i>Gliocladium candidum</i>
<i>Gliocladium virens</i> Miller	<i>Gliocladium virens</i> Miller
<i>Lasiodiplodia</i> sp.	<i>Gliocladium viride</i>
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	<i>M.etarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sor.
<i>Penicillium citreonigrum</i> Thom	<i>Penicillium citrinum</i> Thom
<i>Penicillium</i> sp.,	<i>Penicillium citreonigrum</i> Thom
<i>Penicillium</i> sp.,	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Penicillium</i> sp.,	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Thielaviopsis paradoxa</i> Went.,	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai
<i>Trichoderma polysporum</i> (Link. ex Pers.) Rifai	Bactéria n. det.
<i>Trichoderma</i> sp.	
<i>Streptomyces</i> sp. (Actinomiceto)	
Bactéria n. det.	

Os resultados sugerem que os entomopatógenos *M. anisopliae* e *B. bassiana* apresentam perspectivas de controle da broca *C. humeropictus*, quando pulverizados no solo sob a forma de conídios, embora apresentando um decréscimo de eficácia, após sete dias da pulverização, atingindo os menores índices aos quatorze dias. Na concentração utilizada, *Beauveria bassiana* apresentou-se mais virulento que *M. anisopliae*, evidenciando seu maior potencial. Pesquisas utilizando o fungo em larga escala no campo devem ser incrementadas, inclusive em unidades de validação, antes da sua recomendação ao controle da praga. Os dados evidenciam também que

atenção deve ser dada à ação antagonica de microrganismos presentes no solo, quando da utilização desses entomopatógenos.

AGRADECIMENTOS

Aos Drs. José Luiz Bezerra, pesquisador da CEPLAC, pela determinação das espécies fúngicas, e ao Tec. Agícola Francisco Antonio Neto, da CEPLAC/ESEOP, pelo auxílio na coleta dos dados.

Bibliografia citada

- Bastos, C.N.; Mendes, A.C. de B.; Garcia, J. de J. da S. 1988. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metch.) e Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre larvas de *Conotrachelus* sp.

- (Coleoptera: Curculionidae), broca dos frutos do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). *Rev. Theobroma*, 18(2):159-163.
- Bell, V.J.; Hamalle, J.R. 1970. Three fungi tested for control of the cowpea curculio *Chalcodermus aeneus*. *J. Invertebr. Pathol.*, 15:447-450.
- Fargues, J.; Reisinger, O.; Robert H.P.; Aubart, C. 1983. Biodegradation of entomopathogenic hypomycetes: influence of clay coating on *Beauveria bassiana* blastospore survival in soil. *J. Invertebr. Pathol.*, 41:131-142.
- Gottwald, R.T.; Tedders, L.W. 1983. Suppression of pecan weevil (Coleoptera: Curculionidae) populations with entomopathogenic fungi. *Environ. Entomol.*, 12:471-474.
- Gottwald, R.T.; Tedders, L.W. 1984. Colonization transmission and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hypomycetes) on pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the soil. *Environ. Entomol.*, 13:550-557.
- Laker, A.H.; Trevisan, O. 1992. The increasing importance of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) (Schum.) in the Amazon Region of Brazil. *Cocoa Growers' Bull.*, 45:45-52.
- Lingg, J.^a; Donaldson, D.M. 1981. Biotic and abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. *J. Invertebr. Pathol.*, 39:191-200.
- Majchrowicz, I.; Poprawski, J.T.; Maniania, K.N.; Robert, H.P. 1990. Effects of entomopathogenic and opportunistic fungi on *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) at low relative humidity. *Environ. Entomol.*, 19:1163-1167.
- McCoy, C.W.; Storey, G.K.; Tigano-Milani, M.S. 1992. Environmental factors affecting entomopathogenic fungi in the soil. *Pesq. Agropec. Bras.*, 27:107-111.
- Mendes, A.C. de B. 1996. *Biologia e controle microbiano de Conotrachelus humeropicus Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae)*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará. 101 p.
- Mendes, A.C. de B.; Ribeiro, N.C.; Garcia, J. de J. da S.; Trevisan, O. 1988. Danos de *Conotrachelus humeropicus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae): Nova praga do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) na Amazônia brasileira. *An. Soc. Entomol. Brasil.*, 17:19-28.
- Mendes, A.C. de B.; Magalhães, B.P.; Ohashi, O.S. 1997. *Biologia de Conotrachelus humeropicus*, Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae), praga do cacauzeiro e cupuazeiro na Amazônia brasileira. *Acta Amazonica*, 27(2):135-144.
- Nader, R.N. 1992. *Microbiologia. Manual de laboratório*. Nobel, São Paulo. 138p.
- Oliveira, D.P.; Chaves, G.M.; Loures, E.G. 1981. Estudo comparativo da sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em diferentes tipos de solo. *Rev. Theobroma*, 11:233-239.
- Pereira, R.M.; Stimac, J.L.; Alves, S.B. 1993. Soil antagonism affecting the dose-response of workers of the imported red fire ant, *Solenopsis invicta*, to *Beauveria bassiana* conidia. *J. Invertebr. Pathol.*, 61:156-61.
- Quintela, E.D. 1986. *Estabilidade de Beauveria bassiana (Bals.) Vuillemin (Hyphomycetes) no solo e sua patogenicidade ao Chalcodermus aeneus Boheman (Coleoptera: Curculionidae), praga do caupi*. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, Piracicaba. 107 p.
- Quintela, E.D.; Lord, J.C.; Wraight, S.P.; Alves, S.B.; Roberts, D.W. 1990. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) to larval adult *Chalcodermus bimaculatus* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.*, 83:1276-1279.
- Quintela, E.D.; Roberts, D.W. 1992. Controle de *Chalcodermus bimaculatus* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) no solo com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Pesq. Agropec. Bras.*, 27:95-105.
- Quintela, E.D.; Lord, J.C.; Alves, S.B.; Roberts, D.W. 1992. Persistência de *Beauveria bassiana* em solo de Cerrado e sua interação com microorganismos do solo. *An. Soc. Entomol. Brasil.*, 21:69-82.
- Quintela, E.D.; Wraight, S.P.; Quindaré, M.A.W.; Roberts, D.W. 1994. Aplicação de conídios de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.)

- Sor. para controle de larvas de *Chalcodermus bimaculatus* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) no solo. *An. Soc. Entomol. Brasil.*, 23:367-77.
- Tedders, W.L.; Weaver, D.J.; Wehunt, E.J. 1973. Pecan weevil supression of larvae with the fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* and the nematode *Neoplectana dutki*. *J. Econ. Entomol.*, 66:723-25.
- Tedders, W.L.; Weaver, D.J.; Wehunt, E.J.; Gentry, C.R. 1982. Bioassays of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, and *Neoplectana carpocapsae* against larvae of the plumcurculio *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.*, 11:901-904.
- Trevisan, O. 1989. *Comportamento da broca dos frutos, Conotrachelus humeropicus Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae), em Rondônia*. Dissertação de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/Universidade de São Paulo, Piracicaba. 75 p.
- Trevisan, O.; Mendes, A.C. de B. 1991. Ocorrência de *Conotrachelus humeropicus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) em frutos de cupuaçu *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng) Shum. (Sterculiaceae). In: Resumos *Congresso Brasileiro de Entomologia*, 13, Sociedade Brasileira de Entomologia, Recife, p.137.
- Venturieri, G.A. 1993. *Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento*. Clube do Cupu, Belém, Pará. 108 p.

Aceito para publicação em 01/10/2001