

**Desenvolvimento de Biopesticida
à Base de *Beauveria bassiana*
para Controle de *Myzus persicae*
(Hemiptera: Aphididae)**



Foto: Miguel Michereff Filho

ISSN 1677-2229
Novembro, 2009

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Hortaliças
Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 58

**Desenvolvimento de Biopesticida
à Base de *Beauveria bassiana*
para Controle de *Myzus persicae*
(Hemiptera: Aphididae)**

Miguel Michereff Filho
Marcos R. Faria
Sharrine O. D. Oliveira
Rafael Eduardo T. Souza
Thiago D. Allam
Eduardo B. Baron
Márcio Wandré M. Oliveira
Jorge Anderson Guimarães
Ronaldo Setti de Liz
Francisco G. V. Schmidt

Embrapa Hortaliças
Brasília, DF
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Hortaliças

Br 060 km 09

Caixa Postal 218

Brasília – DF

CEP 70351-970

Fone: + 55-61-3385.9110

Fax: + 55-61-3556.5744

Home page www.cnph.embrapa.br

E-mail: sac@cnph.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Hortaliças

Presidente: Warley Marcos Nascimento

Secretário-Executivo: Mirtes Freitas Lima

Membros: Jadir Borges Pinheiro

Miguel Michereff Filho

Milza Moreira Lana

Ronessa Bartolomeu de Souza

Normalização bibliográfica: Rosane Mendes Parmagnani

1ª edição

1ª impressão (2009): 2.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em Parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9,610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Hortaliças**

Michereff Filho, Miguel

Desenvolvimento de biopesticida à base de *Beauveria bassiana* para controle de *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) / Miguel Michereff Filho [et al...]. – Brasília : Embrapa Hortaliças, 2009.

29 p. - (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Hortaliças , ISSN 1677-2229 ; 58)

1. Repolho - Praga - Biopesticida. I. Faria, Marcos R. II. Oliveira, Sharrine O. D. III. Souza, Rafael Eduardo T. Souza. IV. Allam, Thiago D. V. Baron, Eduardo B. VI. Oliveira, Márcio Wandré M. VII. Guimarães, Jorge Anderson. VIII. Liz, Ronaldo Setti de. IX. Schmidt, Francisco G. V. X. Título. XI. Série.

CDD 635.34

© Embrapa, 2009

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	16
Conclusões	24
Agradecimentos	24
Referências Bibliográficas	25

Desenvolvimento de Biopesticida à Base de *Beauveria bassiana* para Controle de *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)

*Miguel Michereff Filho*¹
*Marcos R. Faria*²
*Sharrine O. B. Oliveira*³
*Rafael Eduardo T. Souza*⁴
*Thiago D. Allam*⁵
*Eduardo B. Baron*⁶
*Márcio Wadré M. Oliveira*⁷
*Jorge Anderson Guimarães*⁸
*Ronaldo Setti de Liz*⁹
*Francisco G. V. Schmidt*¹⁰

Resumo

Este trabalho teve por objetivo desenvolver um biopesticida à base do fungo *Beauveria bassiana* para controle do pulgão *Myzus persicae*. Para

¹ Eng. Agr., DSc., Embrapa Hortaliças, C.P. 218, 70359-970, Brasília, DF.

e-mail: miguel@cnph.embrapa.br

² Eng. Agr., PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P. 02372, 70770-900 Brasília, DF

³ Estudantes de Agronomia, Universidade de Brasília, 70919-900, Brasília – DF

⁴ Estudantes de Agronomia, Universidade de Brasília, 70919-900, Brasília – DF

⁵ Estudantes de Agronomia, Universidade de Brasília, 70919-900, Brasília – DF

⁶ Estudantes de Agronomia, Universidade de Brasília, 70919-900, Brasília – DF

⁷ Químico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P. 02372, 70770-900 Brasília, DF

⁸ Biol., DSc., Embrapa Hortaliças, C.P. 218, 70359-970, Brasília, DF

⁹ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Hortaliças, C.P. 218, 70359-970, Brasília, DF

¹⁰ Eng. Agr., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P. 02372, 70770-900 Brasília, DF.

tanto, foram conduzidos três experimentos de campo com repolho, cv. Matsukase, para seleção de isolados e teste de formulações do entomopatígeno. No primeiro experimento, em gaiolas de PVC teladas, três isolados do fungo foram testados em suspensão aquosa com Tween 80, na concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios mL^{-1} , realizando-se duas pulverizações em intervalos de quatro dias, com aspersor de jardim. No segundo experimento, com o isolado mais promissor e também em gaiolas de PVC, foram avaliados: 1) suspensão aquosa de conídios; 2) dispersão oleosa de conídios; 3) suspensão concentrada de conídios; 4) adjuvante da dispersão oleosa (óleo vegetal emulsionável a 0,3%), sem conídios; 5) adjuvantes da suspensão concentrada, sem conídios; 6) inseticida padrão (Confidor 700 WG, 49 g de i.a. ha^{-1}) e, 7) testemunha (água + Tween 80 + espalhante adesivo). Foram realizadas três pulverizações, na mesma concentração de conídios e intervalo de aplicação do experimento 1. O terceiro experimento foi conduzido em cultivo comercial, tendo os mesmos tratamentos, número e intervalo de aplicações do experimento 2, porém na concentração de 1×10^{13} conídios viáveis ha^{-1} . As colônias de *M. persicae* foram significativamente menores nas parcelas pulverizadas com os isolados CG 864 e PL 63, sendo o primeiro isolado mais promissor por conferir 60% de eficiência de controle. Não houve diferença significativa na densidade populacional do pulgão entre preparações de *B. bassiana* no experimento 2, as quais diferiram da testemunha e propiciaram mais de 70% de controle. No experimento 3, a ação do fungo sobre a praga foi mais evidente entre 28 e 35 dias da primeira aplicação, resultando em 57-83% de controle. As dispersões oleosas de conídios foram mais eficazes, porém a infestação do pulgão voltou a crescer a partir dos 15 dias da última pulverização.

Development of Biopesticide Based on *Beauveria bassiana* for *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) Control

Abstract

The aim of this work was to develop a *Beauveria bassiana*-based biopesticide for control of the aphid *Myzus persicae*. Thus, field experiments with cabbage plants (cv. Matsukase), previously infested with aphid and kept inside PVC cages were carried out for isolate selection and formulations tests with this entomopathogen. In the first experiment, three fungal isolates were sprayed in aqueous suspension with Tween 80 containing 1.0×10^8 conidia mL^{-1} . Spraying was performed twice with a five day interval, using a garden manual sprayer. In the second experiment, in which the best-performing fungal isolate was used, the following treatments with conidia were tested: 1) aqueous suspension (water + Tween 80); 2) oil dispersion of conidia; 3) concentrated suspension; 4) adjuvant of the oil dispersion (vegetable oil emulsifiable at 0.3%), without conidia; 5) adjuvants of the concentrated suspension, without conidia; 6) standard insecticide (Confidor 700 WG, 49 g of a.i. ha^{-1}) and, 7) control (water + Tween 80 + sticker adhesive). The fungus was applied three times using the conidial concentration and application interval previously used in experiment 1. The third experiment was carried out on a commercial production field and had the same treatments, number and intervals of application as in experiment 2, but with a concentration of 1×10^{13} viable conidia ha^{-1} . The aphid population was assessed before and seven days following the sprayings. *M. persicae* colonies were significantly smaller in the plants sprayed with isolates CG 864 and PL 63, whereas isolate IBCB 66 did not differ from the control treatment. Isolated CG 864 was the most

promising fungal candidate, reaching 60% control seven days post-spraying. Significant differences in the aphid densities among the B. bassiana preparations were not seen in experiment 2. In experiment 3, the fungus action on the insect pest was more evident from 28 to 35 days post-spraying, reaching 57-83% control. Oil dispersion of conidia was an effective treatment, but aphid population tended to increase again 15 days after the last application.

Index terms: Entomopathogenic fungus, biopesticide, aphid, cabbage, Brassica oleraceae var. acephala.

Introdução

O pulgão *Myzus persicae* (Sulzer) constitui uma das pragas chaves das brássicas, particularmente em couve-flor, brócolis e repolho cultivados em regiões quentes, onde reduz severamente o estande e o vigor das plantas jovens (Figura 1), como também afeta a qualidade dos produtos colhidos (HARRINGTON; EMDEN, 2007).

Foto: Ailton Reis



Fig. 1. Planta jovem de repolho com elevada infestação do pulgão *Myzus persicae*. Perda de vigor da planta e murcha das folhas mais severamente atacadas.

O uso indiscriminado de inseticidas químicos para o controle deste pulgão pode gerar sérios problemas, como o surgimento de populações resistentes aos princípios ativos utilizados, surtos de pragas secundárias devido à eliminação de inimigos naturais, intoxicações dos produtores rurais, danos ambientais e risco à saúde dos consumidores (FOSTER et al., 2000; HARRINGTON; EMDEN, 2007). Para a produção orgânica este problema fitossanitário pode se tornar ainda mais crítico em algumas

regiões, uma vez que os produtores certificados só podem empregar medidas alternativas aos agrotóxicos para a prevenção e controle de pragas (Instrução normativa MAPA nº 17 de maio/1999 e Lei 10.831 de dezembro/2003) e estas nem sempre estão disponíveis ou têm eficiência insatisfatória.

Neste contexto, o desenvolvimento de táticas de controle biológico para *M. persicae* é amplamente vantajoso e desejável, pois não deixa resíduos tóxicos nos alimentos, atua por longo período de tempo e ocasiona baixo impacto ambiental, além de ser compatível com outras práticas de manejo integrado de pragas (ALVES, 2001).

Fungos entomopatogênicos destacam-se entre os agentes de controle biológico mais utilizados no país e representam uma alternativa para o manejo de insetos sugadores (Figura 2), especialmente quando agrotóxicos não são permitidos, como em cultivos orgânicos (ALVES, 2001). Vários fungos entomopatogênicos têm sido avaliados para o controle de pulgões, destacando-se *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (GRAYSTONE et al., 1997) e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (LIU et al., 2000). Na realidade, diferentes formulações dos fungos *B. bassiana* e *Lecanicillium* spp. já são comercializadas em outros países para controle de pulgões, mas até o momento poucos produtos biológicos equivalentes encontram-se disponíveis no mercado brasileiro e estão oficialmente registrados para uso (FARIA; WRAIGHT, 2007; MICHEREFF FILHO et al., 2007; BRASIL, 2009). Assim, este trabalho teve por objetivo desenvolver um biopesticida formulado à base de *B. bassiana* para controle do pulgão *M. persicae*.



Fig. 2. Colônia de *Myzus persicae* em folha de repolho. Pulgões sadios e infectados pelo fungo *Beauveria bassiana*.

Material e Métodos

Para o desenvolvimento do biopesticida procedeu-se a seleção de isolados e testes com pré-formulações de *B. bassiana*, mediante experimentos com repolho em gaiolas teladas (semi-campo) e em lavoura no Distrito Federal, entre outubro de 2004 e fevereiro de 2005.

As mudas de repolho, cv. Matsukase, foram produzidas em bandejas de isopor de 128 células com substrato para hortaliças (Plantmax HT[®]) e,

posteriormente, transplantadas com 35 dias da emergência para vasos plásticos (capacidade de 5 L) ou diretamente no campo.

Nos três experimentos realizados procedeu-se a infestação artificial das plantas, após 28 dias do transplante (8-10 folhas planta⁻¹), com 20 ninfas de *M. persicae* do quarto instar, oriundas de criação massal com repolho em laboratório.

Para recuperar a capacidade infectiva dos isolados (reativação) de *B. bassiana* a serem testados, ninfas sadias de *M. persicae* foram imersas durante cinco segundos, em suspensão padronizada na concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios mL⁻¹ de água e Tween 80 a 0,01%. Posteriormente, foram transferidas para placas de Petri, contendo uma folha de repolho acondicionada sobre camada de ágar-água a 3%. Estas placas foram fechadas e mantidas em incubadora B.O.D. (25±2°C, 72±10% de UR e fotofase de 12 horas) durante 10 dias. Após a conidiogênese do fungo sobre o hospedeiro, cada isolado reativado foi cultivado em placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) por duas vezes consecutivas antes de ser submetido à produção massal e utilizado nos estudos.

Nos experimentos foram utilizados conídios aéreos de *B. bassiana* oriundos de produção massal do fungo em sacolas de polipropileno, contendo meio sólido constituído por arroz parboilizado cozido (com 30% de água v/p), durante 20 dias, conforme Leite et al. (2003). Para a obtenção de conídios puros, os lotes de fungo + substrato foram previamente secados (até 8% de teor de água) em dessecadores contendo sílica gel (20% p/p), durante sete dias, sob temperatura ambiente. Posteriormente, a massa de fungo + substrato foi submetida à extração em conjunto de peneiras sob agitação em Shaker a 400 rpm, mediante três baterias de agitação a intervalos de 10 minutos. O material obtido foi armazenado em temperatura de 8°C. A percentagem de germinação de conídios foi determinada antes de cada experimento mediante técnica proposta por Magalhães et al. (1997), garantindo-se desta forma o uso de conídios puros com 92-98% de viabilidade.

Seleção de isolados

No experimento 1 foram testados três isolados (IBCB 66, PL 63 e CG 864), pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, os quais foram oriundos de cadáveres da broca do cafeeiro, *Hypothenemus hampei* (FERRARI, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), de formiga saúva, *Atta* sp. (Hymenoptera: Formicidae) e da broca do pedúnculo floral do coqueiro, *Homalinotus coriaceus* (Gyllenhal, 1836) (Coleoptera: Curculionidae), respectivamente.

A seleção de isolados de *B. bassiana* foi realizada em plantas cultivadas em vasos plásticos mantidos dentro de gaiolas de PVC (90 cm x 60 cm x 80 cm), teladas com tecido *voil*. Estas gaiolas foram instaladas sobre gramado e dispostas em três fileiras com seis gaiolas em cada, com equidistância de cinco metros, na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília-DF (Figura 3). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com seis repetições, cada repetição representada por uma gaiola telada com uma planta.

Os isolados foram preparados em suspensão aquosa de conídios puros (não formulado; produto técnico) com Tween 80 a 0,01%, na concentração de $1,0 \times 10^8$ conídios viáveis mL⁻¹.

Após quatro dias da infestação do repolho foram efetuadas duas pulverizações (20 mL da suspensão/planta) da suspensão aquosa, em intervalo de 5 dias, com aspersor de jardim (capacidade de 0,5 L). O desempenho dos isolados de *B. bassiana* foi avaliado considerando-se a densidade populacional (ninfas + adultos) de *M. persicae* e a eficiência de controle relativa. A população de pulgões foi avaliada um dia antes e após 14 dias da aplicação, inspecionando-se toda a planta. Os dados foram previamente transformados em $\log(x + 1)$, submetidos à Anova e as médias foram comparadas, respectivamente, pelos testes de Tukey e t pareado ($P \leq 0,05$). A eficiência de controle relativa (%) foi calculada

pela fórmula de Henderson e Tilton (1955), tendo como base os níveis populacionais do pulgão entre a testemunha e demais tratamentos, na primeira e na última avaliação, respectivamente.

Foto: Miguel Michereff Filho



Fig. 3. Disposição das gaiolas no campo.

Pré-formulações de conídios

Dois outros experimentos avaliaram diferentes pré-formulações de conídios do isolado mais promissor no estudo anterior (CG 864). No experimento 2 foram utilizadas plantas cultivadas em vasos plásticos mantidos dentro de gaiolas de PVC semelhantes ao experimento 1, as quais foram instaladas sobre gramado e dispostas em cinco fileiras com sete gaiolas em cada e eqüidistantes em cinco metros, na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Foram testados os seguintes tratamentos (nomenclatura das preparações do biopesticida conforme Faria e Wraight, 2007): 1) suspensão aquosa de conídios puros + espalhante adesivo; 2) dispersão oleosa de conídios [conídios puros + óleo vegetal

emulsionável Natur'Oil a 0,3% + espalhante adesivo]; 3) dispersão oleosa de conídios comercial [conídios + adjuvantes da Bthek a 0,3%]; 4) adjuvante da dispersão oleosa (óleo vegetal emulsionável a 0,3% + espalhante adesivo), sem conídios; 5) adjuvantes da dispersão oleosa comercial (adjuvantes da Bthek a 0,3% + espalhante adesivo), sem conídios; 6) inseticida padrão [Imidacloprido, Confidor 700 WG, 49 g de i.a. ha⁻¹ + espalhante adesivo] e, 7) testemunha (água + Tween 80 + espalhante adesivo). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições, cada repetição representada por uma gaiola telada com uma planta.

Para as preparações de *B. bassiana* e seus adjuvantes foram realizadas três pulverizações a partir do quarto dia da infestação das plantas (32 dias do transplante), utilizando-se a mesma concentração de conídios, volume aplicado por planta, equipamento de pulverização e intervalo de aplicação do experimento 1. O inseticida Imidacloprido foi aplicado duas vezes, com intervalo de 14 dias. A população de pulgões foi avaliada, um dia antes e 14 e 28 dias após a primeira pulverização, inspecionando-se toda a planta.

O experimento 3 foi realizado em lavoura comercial de repolho no Núcleo Rural Vargem Bonita, Núcleo Bandeirante-DF. Foram instaladas 28 parcelas de 1,5 m x 4,1 m, sendo cada uma delas formada por quatro fileiras de cultivo no espaçamento de 0,50 m x 0,45 m, totalizando 40 plantas por parcela. Entre as parcelas e os blocos foram deixados 3,0 m de área não cultivada, para efeito de isolamento.

Foram testados os mesmos tratamentos (pré-formulações) do experimento 2, com três aplicações do isolado CG 864, na concentração de 5×10^7 conídios mL⁻¹ (1×10^{13} conídios viáveis ha⁻¹) e volume de 200 L de calda ha⁻¹, após quatro dias da infestação artificial plantas (32 dias do transplante). O intervalo entre pulverizações foi de cinco dias. Para a aplicação utilizou-se um pulverizador costal manual (capacidade de 5 L), equipado com bico de jato tipo cone vazio (Micron HC3; bico em cerâmica) e com pressão de 2,8 kgf m⁻². O delineamento

experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições (parcelas). A população de pulgões foi avaliada, um dia antes e aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a primeira pulverização, inspecionando-se aleatoriamente 15 plantas/parcela.

Nos experimentos 2 e 3 os dados foram transformados em $\log(x + 1)$ e submetidos à Anova com medidas repetidas, enquanto as médias foram comparadas dentro e entre épocas de avaliação pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Também se determinou a eficiência de controle relativa (%) conforme Henderson e Tilton (1955), considerando-se os níveis populacionais do pulgão na testemunha e em cada tratamento, entre a avaliação pré-tratamento e as demais épocas de avaliação.

Resultados e Discussão

No experimento 1, a infestação inicial de *M. persicae* foi semelhante entre os tratamentos e variou de 0,9 a 1,4 indivíduos folha⁻¹ (Tabela 1). Aos 14 dias da aplicação dos tratamentos, as colônias de *M. persicae* foram significativamente menores nas plantas pulverizadas com os isolados CG 864 ($11,9 \pm 2,7$ pulgões folha⁻¹) e PL 63 ($12,6 \pm 3,1$ pulgões folha⁻¹), enquanto o isolado IBCB 66 ($35,1 \pm 5,0$ pulgões folha⁻¹) não diferiu estatisticamente da testemunha. O isolado CG 864 foi o mais promissor, com 60% de eficiência de controle do pulgão. Esta elevada suscetibilidade de *M. persicae* ao fungo *B. bassiana* poderia ser atribuída à grande mobilidade dessa espécie (BOITEAU, 1997). Com este comportamento aumentam-se as chances do indivíduo entrar em contato com o inóculo do fungo presente na superfície vegetal, com pulgões infectados ou cadáveres cobertos por conídios, assim facilitando a transmissão da doença entre os integrantes da colônia (RODITAKIS et al., 2000; LOUREIRO; MOINO JUNIOR, 2006).

Miranpuri e Khachatourians (1993) obtiveram 72 a 86% de controle de *M. persicae* em canola, em razão do isolado de *B. bassiana* utilizado. Loureiro e Moino Junior (2006) relataram o isolado IBCB 66 de *B. bassiana* como altamente promissor contra a mesma espécie de pulgão

em bioensaio com folhas destacadas de pimentão. Entretanto, os resultados alcançados neste trabalho não reforçam o potencial do mesmo isolado como agente de controle microbiano de *M. persicae*. Tais diferenças podem ser devidas ao nível de virulência do isolado na ocasião que foi testado e à metodologia utilizada em cada estudo.

Tabela 1. Densidade populacional (média \pm EPM) de *Myzus persicae* em folhas de repolho, antes e 14 dias após a primeira pulverização dos isolados de *Beauveria bassiana*, em gaiolas de campo ($25\pm 3^\circ\text{C}$ e $65\pm 5\%$ de UR). Brasília, DF.

Isolado	Pulgões/folha ¹		Eficiência (%) ³
	Pré-tratamento	14 d.a.p. ²	
Testemunha	1,3 \pm 0,1 a A	39,0 \pm 5,1 a B	-
IBCB 66	1,1 \pm 0,2 a A	35,1 \pm 5,0 a B	0,0
PL 63	1,0 \pm 0,1 a A	12,6 \pm 3,1 b B	56,7
CG 864	1,0 \pm 0,1 a A	11,9 \pm 2,7 b B	60,0
CV (%)	28,0	42,3	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, respectivamente, pelo teste de Tukey e pelo teste t para dados pareados ($P\leq 0,05$). Dados transformados em $\log(x + 1)$ para as análises estatísticas.

¹Inspecção de toda a planta.

²d.a.p. = dias após a pulverização do entomopatógeno.

³Eficiência de controle calculada pela fórmula de Henderson e Tilton (1955).

Vários fatores podem ocasionar mudanças na virulência de um mesmo isolado, dentre os quais merecem destaque, o meio de cultura ou substrato utilizado para crescimento e produção de conídios, o número de repicagens sem passagem pelo inseto hospedeiro, a forma de colheita e armazenamento dos conídios, o método de inoculação/liberação do entomopatógeno, as condições de temperatura e umidade durante o estudo e a influência da planta hospedeira no processo epizótico (LACEY; KAYA, 2000; SANTORO et al., 2007). No presente trabalho o isolado IBCB 66 foi testado sobre *M. persicae* em plantas inteiras de repolho mantidas em gaiolas de campo, onde as condições ambientais são complexas e menos controláveis em relação aos bioensaios de laboratório, refletindo a interação de diversos fatores,

como temperaturas e umidade relativa oscilantes ao longo do dia (VANDENBERG et al., 2001).

No experimento 2, houve rápido incremento populacional de *M. persicae* nas gaiolas da testemunha, passando de $3,1 \pm 0,5$ pulgões folha⁻¹ na avaliação pré-tratamento para $171,3 \pm 78,4$ pulgões folha⁻¹ de repolho aos 28 dias após a primeira pulverização (Tabela 2). Por outro lado, o crescimento populacional do pulgão ao longo do tempo foi menor nas plantas pulverizadas com as preparações (suspensão aquosa e dispersão oleosa de conídios) de *B. bassiana*, sendo praticamente nulo em repolhos tratados com o inseticida Imidacloprido (eficiência de 100%). Os adjuvantes das diferentes preparações do entomopatógeno não diferiram da testemunha, o que comprova sua inocuidade à praga. Neste experimento também não foi constatada diferença significativa na densidade populacional de *M. persicae* entre as diferentes preparações de *B. bassiana*, com eficiência de controle entre 71% e 87% (Tabela 2).

No experimento 3, as populações do pulgão também cresceram rapidamente nas parcelas testemunhas, observando-se picos populacionais aos 21 dias (40-65 pulgões folha⁻¹) e aos 42 dias (25-90 pulgões folha⁻¹) após a primeira aplicação dos tratamentos, respectivamente (Figura 4).

Diferenças significativas na densidade populacional de *M. persicae* entre a testemunha e as preparações de *B. bassiana* foram mais evidentes entre 28 e 35 dias da primeira aplicação, ou seja, entre 15 e 21 dias do final das pulverizações. Entre as preparações do entomopatógeno constatou-se diferenças significativas somente aos 35 dias da primeira aplicação (Figura 4), quando as colônias do pulgão foram menores nas plantas pulverizadas com as dispersões oleosas de conídios em relação à suspensão aquosa de conídios (não-formulado). O inseticida Imidacloprido eliminou as colônias de *M. persicae* logo após a primeira aplicação e as populações mantiveram-se baixas até o

final do experimento, diferindo significativamente dos demais tratamentos.

Tabela 2. Densidade populacional (média \pm EPM) de *Myzus persicae* em folhas de repolho, antes, 14 e 28 dias após a primeira pulverização das preparações de *Beauveria bassiana*, em gaiolas de campo ($24 \pm 2^\circ\text{C}$ e $55 \pm 5\%$ de UR). Gama, DF.

Tratamento	Pulgões/folha ¹			Eficiência (%) ³
	Pré-tratamento	14 d.a.p. ²	28 d.a.p.	
Testemunha	3,1 \pm 0,5 a C	74,8 \pm 18,5 a B	171,3 \pm 78,4 a A	-
Óleo emulsionável 0,3%	3,3 \pm 0,4 a C	68,7 \pm 19,9 a B	150,9 \pm 42,8 a A	14,0
Adjuvantes Bthek 0,3%	3,3 \pm 0,0 a C	64,7 \pm 23,2 a B	135,1 \pm 21,4 a A	23,0
Suspensão aquosa de conídios	3,2 \pm 0,7 a B	36,4 \pm 12,5 b A	50,3 \pm 19,9 b A	71,0
Dispersão oleosa de conídios - Bthek	3,4 \pm 0,8 a B	22,3 \pm 3,2 b A	26,8 \pm 10,2 b A	84,9
Dispersão oleosa de conídios	3,1 \pm 0,7 a B	15,7 \pm 2,3 b A	22,1 \pm 10,2 b A	87,1
Imidacloprido	3,5 \pm 0,3 a A	0,0 \pm 0,0 c B	0,6 \pm 0,2 c B	100,0
CV (%)	10,5	79,4	95,2	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Dados transformados em $\log(x + 1)$ para as análises estatísticas.

¹Estimativa a partir da inspeção de todas as folhas da planta.

²d. a. p. = dias após a primeira pulverização.

³Eficiência calculada pela fórmula de Henderson e Tilton (1955).

Resultados similares foram constatados com a eficiência de controle relativa (Figura 5). O inseticida Imidacloprido proporcionou eficiência de controle entre 98% e 100%; as preparações de *B. bassiana* proporcionaram os maiores níveis de eficiência de controle (57-83%) entre 28 e 35 dias da primeira aplicação, enquanto no final do

experimento (42 dias) observou-se redução da eficiência em mais de 50%; além disso, com o passar do tempo houve queda gradual na eficiência de controle conferida pela suspensão aquosa de conídios em relação às dispersões oleosas.

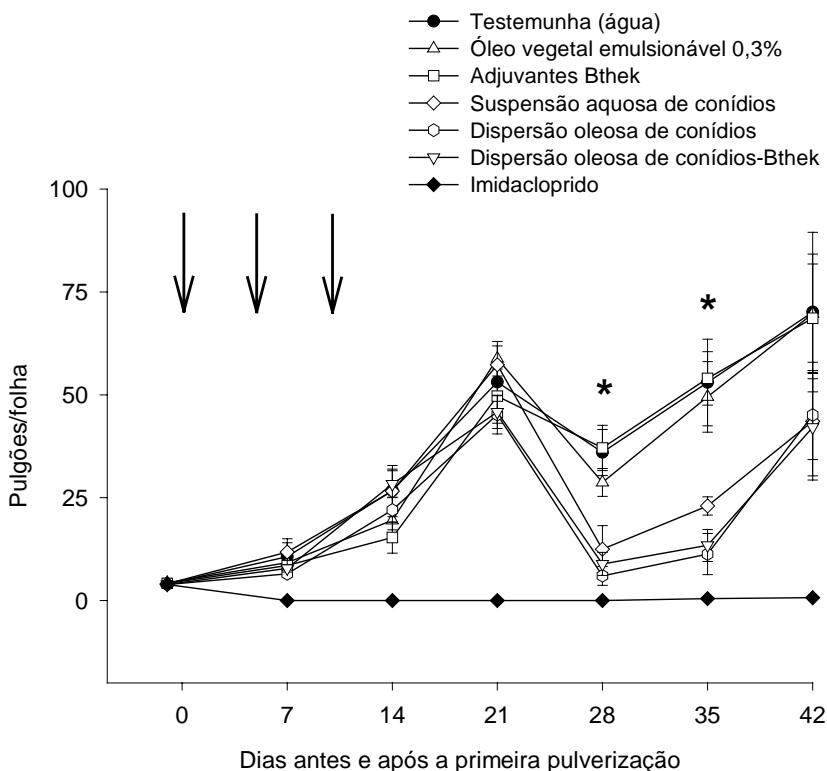


Fig. 4. Densidade populacional (média \pm EPM) de *M. persicae* em folhas de repolho antes e após a primeira pulverização das preparações de conídios de *B. bassiana* e do inseticida Imidacloprido. Setas indicam a época das pulverizações do entomopatógeno. Asteriscos indicam diferenças significativas entre médias de tratamentos, dentro da época de avaliação, pelo teste de Tukey (5%).

Estes resultados demonstram que a dispersão oleosa experimental de *B. bassiana* (conídios puros + óleo vegetal emulsionável Natur'Oil a 0,3% + espalhante adesivo) foi tão eficiente quanto a formulação comercial e que, em condições de campo aberto (ampla exposição à radiação solar), as dispersões oleosas de conídios podem conferir maior persistência do agente microbiano nas folhas do repolho e, conseqüentemente, maior eficácia do biopesticida quando comparadas à preparação aquosa do entomopatógeno. O aumento na eficácia de fungos entomopatogênicos pelo uso de formulações à base de óleos emulsionáveis (mineral e vegetais) tem sido relatado para ampla gama de insetos e ácaros pragas (MALSAM et al., 2002; LUZ et al., 2004; SHI et al., 2008), incluindo *M. persicae* em repolho (YING et al., 2003).

O melhor desempenho de conídios de *B. bassiana* formulados em óleos poderia ser atribuído a vários fatores, dentre eles, ao aumento na fixação dos conídios à cutícula hidrofóbica dos insetos e ácaros; às alterações na camada de cera da cutícula do inseto, assegurando o processo de infecção do entomopatógeno; à melhor dispersão dos conídios e maiores taxas de germinação e à maior persistência dos conídios na superfície vegetal após a sua aplicação (JONES; BURGESS, 1998).

A redução progressiva na eficiência de controle das preparações de *B. bassiana* a partir dos 15 dias da última pulverização (Figura 5) poderia ser atribuída à rápida taxa de crescimento das populações de *M. persicae* observada nas duas últimas semanas do experimento (Figura 4), concomitantemente com o provável declínio na quantidade disponível de inóculo do entomopatógeno nas folhas do repolho. Desta forma, novas pulverizações de biopesticida seriam necessárias para suprimir a re-infestação da praga no cultivo. Por outro lado, a ação sistêmica do inseticida Imidacloprido (GUEDES et al., 2008) e o efeito residual mais prolongado nas plantas de repolho certamente contribuiriam para a manutenção de baixos níveis populacionais do pulgão por período superior a 21 dias da sua última aplicação.

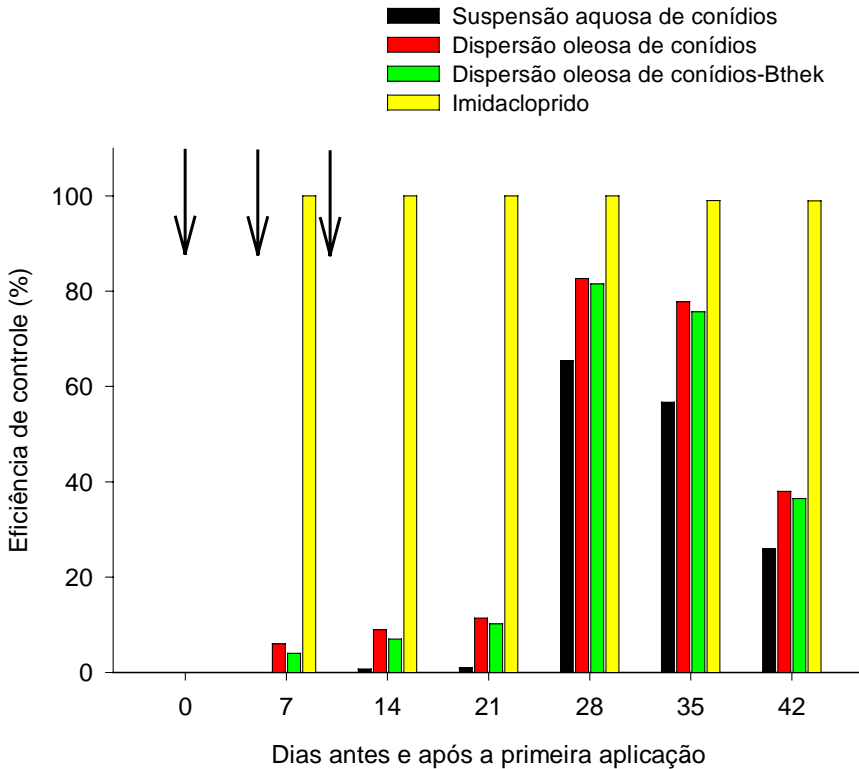


Fig. 5. Eficiência de controle (%) das preparações de conídios de *B. bassiana* e do inseticida Imidacloprido sobre *M. persicae* em repolho, ao longo de 42 dias após a primeira aplicação dos tratamentos. Setas indicam a época das pulverizações do entomopatógeno.

Os fungos entomopatogênicos são extremamente suscetíveis à ação dos fatores ambientais adversos (elevada temperatura, baixa umidade relativa e elevada incidência de UV) que podem ocorrer após cada aplicação e comprometer desta maneira sua sobrevivência no meio ambiente, e como consequência, a eficiência de controle (STEINKRAUS, 2006). Vanderberg et al. (1998) constataram queda acentuada na viabilidade de conídios de *B. bassiana* em folhas de repolho dentro de três dias após pulverização do biopesticida, sendo mais crítico para a formulação em pó molhável do que para a dispersão oleosa de conídios. Resultados semelhantes foram obtidos por Inglis et al. (1993) e Vanderberg et al. (2001), respectivamente, em folhagens de alfafa e trigo.

Embora o inseticida Imidacloprido tenha conferido elevada eficiência de controle de *M. persicae* ao longo de todo o estudo, este trabalho demonstrou o potencial de uso de biopesticida à base de *B. bassiana* como mais uma ferramenta no manejo integrado de *M. persicae* em cultivos de repolho. As formulações do entomopatógeno na forma de dispersão oleosa de conídios foram muito promissoras, entretanto, as populações do pulgão mantiveram-se elevadas (> 10 indivíduos folha⁻¹).

Dado o breve intervalo de tempo que conídios viáveis de *B. bassiana* estariam presentes nas folhas de repolho para infectar o pulgão, são necessários novos estudos para aprimoramento da formulação visando aumentar a persistência de inóculo viável na superfície da planta e garantir maior adesão de conídios ao corpo dos pulgões.

Conclusões

- Isolado CG 864 apresentou maior virulência ao pulgão *M. persicae* promissor, propiciando 60% de eficiência de controle;
- As formulações em dispersão oleosa de conídios de *B. bassiana* foram mais eficazes no controle do pulgão do que a suspensão aquosa de conídios
- Novos estudos serão necessários para o aprimoramento do biopesticida visando ampliar a persistência do entomopatógeno nas folhas de repolho e a sua eficiência de controle.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida (PIBIC) e à FAP-DF pelo suporte financeiro ao projeto de pesquisa (FAPDF OF 184/2004). Ao Dr. Carlos Marcelo Soares (Bthek Biotecnologia Ltda., Brasília - DF) pela disponibilização do formulado comercial na forma de dispersão oleosa.

Referências

ALVES, S. B. Utilização de entomopatógenos no controle de insetos e ácaros. **Agroecológica**, Botucatu, v. 1, p. 109-116, 2001. Resumo apresentado no 1. Encontro de Processos de Proteção de Plantas: controle ecológico de pragas e doenças, 2001, Campinas

BOITEAU, G. Comparative propensity for dispersal of apterous and alate morphs of three potato-colonizing aphid species. **Canadian Journal of Zoology**, Toronto, v. 75, p. 1396-1403, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Sistema de legislação agrícola federal**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em: 30 abr. 2009.

FARIA M. R. de; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, San Diego, v. 4, p. 237-256, 2007.

FOSTER, S. P.; DENHOLM, I.; DEVONSHIRE, A. L. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p. 873-879, 2000.

GRAYSTONE J. L.; CHARNLEY, A. K.; ALBAJES, R.; CARNERO, A. Disease development strategies of the insect pathogenic fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae*. Integrated control in protected crops, Mediterranean climate. **Bulletin-OILB-SROP**, Littlehampton, v. 20, p. 263-267, 1997.

GUEDES, R. N. C.; PICANÇO, M. C.; PEREIRA, E. J. G.; SILVA, E. M.; SILVA, G. A.; SOARES, F. F. Características dos principais grupos de inseticidas e acaricidas. In: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; JESUS JUNIOR, W. C. (Ed.). **Produtos fitossanitários: fungicidas, inseticidas, acaricidas e herbicidas**. Viçosa: UFV/DFT, 2008. Cap. 11, p. 489-518.

HARRINGTON, R.; EMDEN, H. F. (Ed.). **Aphids as crop pests**. London: CABI Publishing, 2007. 717 p.

HENDERSON, C. F.; TILTON, E. W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 48, p. 157-161, 1955.

INGLIS, D. G. ; GOETTEL, M. S. ; JOHNSON, D. L. Persistence of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on phylloplanes of crested wheatgrass and alfalfa. **Biological Control**, San Diego, v. 3, p. 258-270, 1993.

JONES, K. A.; BURGES, H. D. Technology of formulation and application. In: BURGES, H. D. (Ed.). **Formulation of microbial pesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1998. p. 7-30.

LACEY, L. A.; KAYA, H. K. (Ed.). **Field manual of techniques in invertebrate pathology**: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests. 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2007. 868 p.

LEITE, L. G., BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M. de; ALVES, S. B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2003. 92 p.

LIU, Y. Q.; FENG, M. G.; LIU, S. S.; ZHANG, B. X. Effect of temperature on virulence of *Beauveria bassiana* against *Myzus persicae*. **Chinese Journal of Biological Control**, Beijing, v. 16, p. 56-60, 2000.

LOUREIRO, E. S.; MOINO JUNIOR, A. Patogenicidade de fungos hifomicetos aos pulgões *Aphis gossypii* Glover e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, p. 660-665, 2006.

LUZ, C.; ROCHA, L. F. N.; NERY, G. V.; MAGALHÃES, B. P.; TIGANO, M. S. Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, p. 211-218, 2004.

MAGALHÃES, B.; FARIA, M.; FRAZÃO, H. A technique to estimate the conidial viability of *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal (Hyphomycetes) formulated in vegetable oil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, p. 569-572, 1997.

MALSAM, O.; KILIAN, M.; OERKE, E. C.; DEHNE, H. W. Oils for increased efficacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 12, p. 337-348, 2002.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA, M. R.; WRIGHT, S. P. **MicoInseticidas e micoacaricidas no Brasil**: como estamos? Brasília, DF: . (Embrapa

Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 28 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 240).

MIRANPURI, G. S.; KHACHATOURIANS, G. G. Application of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) infesting canola. **Journal of Insect Science**, Madison, v. 6, p. 287-289, 1993.

RODITAKS, E.; COUZIN, I. D.; BALROW, K.; FRANKS, N. R.; CHARNLEY, A. K. Improving secondary pick up of fungal pathogen conidia by manipulating host behaviour. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 137, p. 329-335, 2000.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; ALEXANDRE, T. M.; ALVES, L. F. A. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, p. 483-489, 2007.

SHI, W. B.; ZHANG, L. L.; FENG, M. G. Field trials of four formulations of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisoplae* for control of cotton spider mites (Acari: Tetranychidae) in the Tarim Basin of China. **Biological Control**, San Diego, v. 45, p. 48-55, 2008.

STEINKRAUS, D. C. Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v. 92, p. 125-131, 2006.

VANDENBERG, J. D.; SHELTON, A. M.; WILSEY, W. T.; RAMOS, M. Assessment of *Beauveria bassiana* sprays for control of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on crucifers. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 91, p. 624-630, 1998.

VANDENBERG, J. D.; SANDVOL, L. E.; JARONSKI, S. T.; JACKSON, M. A. ; SOUZA, E. J.; HALBERT, S. E. Efficacy of fungi for control of

Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae) in irrigated wheat. **Southwestern Entomologist**, Weslaco, v. 26, p. 73-85, 2001.

YING, S. H.; FENG, M. G.; XU, S. T.; MA, Z. B. Field efficacy of emulsifiable suspensions of *Beauveria bassiana* conidia for control of *Myzus persicae* population on cabbage. **Chinese Journal of Applied Ecology**, Beijing, v. 14, p. 530-535, 2003.