

CONTROLE DE *CHALCODERMUS BIMACULATUS* (BOHEMAN) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) NO SOLO COM *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILLEMIN E *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH) SOROKIN¹

ELIANE DIAS QUINTELA² e DONALD WILSON ROBERTS³

RESUMO - Os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* foram testados sobre larvas do último instar de *Chalcodermus bimaculatus* em condições de laboratório e casa telada. Em laboratório, os isolados E₆, E₉, Ma₄₃ e CP₂₁₈ de *M. anisopliae* foram altamente virulentos, matando 100% dos insetos na dosagem de $5,4 \times 10^3$ conídios/mm², até sete dias após o tratamento. Observou-se, também, que micélio e conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* misturados ao solo mataram 100% das larvas, entretanto, no tratamento com micélio o tempo de mortalidade média das larvas foi maior. Em casa telada, conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, na dose equivalente a 240 g/ha, produziram aproximadamente 70% de mortalidade de larvas de *C. bimaculatus*.

Termos de indexação: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Chalcodermus bimaculatus*, *Urosigalphus chalcodermi*, fungos entomopatogênicos, patogenicidade, micélio seco, conídios.

CONTROL OF *CHALCODERMUS BIMACULATUS* (BOHEMAN) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) ON SOIL WITH *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILLEMIN AND *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH) SOROKIN

ABSTRACT - The fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* were tested on *Chalcodermus bimaculatus* last instar larvae in laboratory and screenhouse conditions. In the laboratory, the isolates *M. anisopliae* E₆, E₉, Ma₄₃ and CP₂₁₈ were highly virulent, killing 100% of the insects at a dose of 5.4×10^3 conidia/mm², within 7 days after treatment. We also observed that *B. bassiana* and *M. anisopliae* mycelium and conidia mixed in soil resulted in 100% mortality of larvae, with the mycelium treatment taking longer time to reach the average larvae mortality. In the screenhouse, *B. bassiana* and *M. anisopliae* conidia, at the dose equivalent to 240 g/ha, produced approximately 70% of *C. bimaculatus* larvae mortality.

Index terms: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Chalcodermus bimaculatus*, *Urosigalphus chalcodermi*, entomopathogenic fungi, pathogenicity, dry mycelium, conidia.

INTRODUÇÃO

Chalcodermus bimaculatus Boheman, conhecido vulgarmente por manhoso, constitui-se numa das principais limitações à produção

do caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., no Nordeste do Brasil. O dano causado pelo inseto resulta do desenvolvimento de larvas nos grãos e das perfurações das vagens pelos adultos, reduzindo a qualidade e valor comercial do produto (Santos & Quinderé 1988). No Sul dos Estados Unidos, outro curculionídeo deste mesmo gênero é também considerado a principal praga do caupi, causando danos consideráveis à indústria de beneficiamento e processamento de vagens, tornando o produto inaceitável ao consumo humano (Cuthbert & Fery 1975).

¹ Aceito para publicação em

² Eng.-Agr., M.Sc., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Caixa Postal 179, 74001 - Goiânia, GO.

³ Eng.-Agr., Ph.D., Insect Pathology Resource Center, Boyce Thompson Institute for Plant Research, Tower Rd., Ithaca, N.Y. 14853.

Métodos de controle de *Chalcodermus* tem sido estudados através da utilização de produtos químicos (Chalfant & Young 1988; Quinderé & Santos 1986), avaliação de parasitóides (Magalhães & Quintela 1987), uso de variedades resistentes (Cuthbert & Fery, 1979) e utilização de fungos entomopatogênicos (Bell & Hamalle 1970; Quintela et al. 1990).

No controle microbiano tem-se enfatizado a utilização de conídios de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin em larvas de *Chalcodermus* no solo, por ser este o estágio do inseto mais suscetível aos fungos e também pela maior persistência dos conídios no solo. Bell & Hamalle (1970) mantiveram conídios de *M. anisopliae* no solo por 40 dias e observaram que estes foram capazes de infectar 100% das larvas de *C. aeneus* (Boheman) em 6 dias. Isolados de *B. bassiana* causaram elevada mortalidade de larvas do último instar de *C. bimaculatus* enquanto em adultos a mortalidade foi baixa, sugerindo que as aplicações de *B. bassiana* para controle do estágio larval seriam mais efetivas que aplicações contra adultos (Quintela et al. 1990).

O trabalho teve como objetivo avaliar o controle de larvas de *C. bimaculatus* no solo com *B. bassiana* e *M. anisopliae* em laboratório e casa telada.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de laboratório e casa telada foram conduzidos no Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF) em Goiânia, Goiás.

Os isolados utilizados foram os seguintes: *Beauveria bassiana* - CP₁, isolado de um vespídeo não identificado na costa do Arapapa no Amazonas; CP₅, isolado de *Ceratomyxa arcuata* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae) na costa do Surubim no Amazonas; CP₇, isolado de *Chalcodermus bimaculatus* (Coleoptera: Curculionidae), em Goiânia, Goiás; *Metarhizium anisopliae* - E₈, isolado de *Zulia entreperiana* (Berg, 1879) (Homoptera: Cercopidae) em Rio Novo do Sul, Espírito Santo; E₉, isolado de *Deois* sp (Homoptera: Cercopidae) em Rio Novo do Sul,

Espírito Santo; Ma₄₃, proveniente da Áustria e CP₂₁₈, isolado de *Diabrotica* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae) em Goiânia, Goiás.

Para os experimentos de laboratório e casa telada os conídios foram produzidos em meio de cultura de batata, dextrose 2%, extrato de levedura 0,4% e agar (BDAY) por aproximadamente 14 dias a 27 ± 1°C. Para a produção de conídios e micélios em meio líquido utilizou-se a metodologia desenvolvida por Agracetus Inc. 1985. Na instalação dos experimentos, a viabilidade dos conídios era de 98-100% para todos os isolados.

As larvas usadas nos experimentos foram obtidas de vagens de caupi coletadas no campo experimental do CNPAF, segundo metodologia descrita por Quintela et al. (1990).

Experimentos em laboratório

Foram realizados dois bioensaios em laboratório, em 1986. No primeiro bioensaio 4 isolados de *M. anisopliae* Ma₄₃, E₈, CP₂₁₈ e E₉ produzidos em BDAY e o isolado E₉*, produzido em meio líquido foram testados em larvas do último instar de *C. bimaculatus*. Para cada isolado testaram-se 40 larvas em 4 repetições.

Cada grupo de 10 larvas foi pulverizado diretamente com 0,3 ml de uma suspensão de 10⁸ e 10⁹ conídios/ml com Tween 80 a 0,5% em água destilada e somente a dosagem de 10⁸ conídios/ml para E₉* produzido em meio líquido. Estas concentrações corresponderam a aproximadamente 5,4 x 10³ e 5,4 x 10⁴ conídios/mm² de superfície pulverizada, respectivamente. Para o tratamento testemunha pulverizou-se Tween 80 0,5% em água destilada.

Após a pulverização, cada grupo de 10 larvas foi liberado em placas de Petri de 90 mm contendo 30 g de solo esterilizado e 7,5 ml de água destilada. Os insetos foram mantidos em câmara BOD (Biological Oxygen Demand) a 24 ± 1°C. Observações diárias de mortalidade foram iniciadas no terceiro dia após tratamento. Os insetos mortos foram removidos diariamente e mantidos em placas de Petri, com alta umidade, para determinar a porcentagem de insetos com esporulação de *M. anisopliae*.

No segundo bioensaio micélios e conídios secos do isolado E₉ de *M. anisopliae* e CP₅ de *B. bassiana* foram misturados ao solo para avaliar a patogenicidade a larvas do último instar de *C. bimaculatus*. Dosagens de 6,7 x 10⁻³ e 6,7 x 10⁻⁴ g de conídios ou de micélios secos por grama de solo para cada isolado foram misturados em placas de

Petri de 90 mm. Dez larvas foram inoculadas em cada placa contendo 30 g de solo esterilizado e 7,5 ml de água destilada. Os insetos foram mantidos em câmara BOD a $24 \pm 1^\circ\text{C}$. As observações de mortalidade e esporulação do fungo foram realizadas semelhantemente ao experimento anterior. Análise de variância e teste de Tukey foram utilizadas para comparação das médias dos tratamentos. Determinou-se o tempo de mortalidade média das larvas (T_{Mm}) através da fórmula:

$$T_{Mm} = (n_i \cdot d_i) / n_i$$

n_i = nº de insetos mortos no i-ésimo dia após aplicação do fungo.

d_i = dia de morte do inseto.

Experimentos em casa telada

Foram conduzidos três experimentos em casa telada no CNPAF, em 1987. Em recipientes plásticos de 21 cm de diâmetro x 8 cm de altura, adicionaram-se 1.500 g de solo, terra roxa estruturada latossólica eutrófica, sendo umedecida para fornecer 40% da saturação de água. Suspensões de tween 80 0,5% em água destilada contendo 0,017 g de conídios ($4,9 \times 10^{-5}$ g/cm²) dos isolados CP₅ e CP₇ de *B. bassiana* e do E₆ e E₉ de *M. anisopliae* foram pulverizados na superfície do solo em área de 346,4 cm². Em seguida 60 larvas do 5º instar de manhoso foram liberadas por recipiente em 4 repetições por tratamento. Os recipientes foram cobertos com pano de filó, preso com 3 ligas de borracha e diariamente eram completados com água para o seu peso inicial. Na emergência dos adultos, três semanas após aplicação do fungo, o solo era quebrado para avaliação dos insetos mortos e infectados pelos fungos.

Em um outro experimento foram testados os isolados E₆ e E₉ de *M. anisopliae* e CP₅ e CP₇ de *B. bassiana* em larvas do último instar de *C. bimaculatus* em 3 dosagens pulverizando-se $2,8 \times 10^{-6}$, $5,7 \times 10^{-6}$ e $2,8 \times 10^{-5}$ conídios/cm² equivalentes a 280, 570 e 2.800 g de conídios/ha. Cada tratamento teve 100 larvas em 4 repetições. A metodologia foi semelhante à do experimento anterior, exceto para a quantidade de solo em cada recipiente, que foi de 1000 g.

No terceiro experimento isolados CP₁ e CP₅ de *B. bassiana* e E₆ e E₉ de *M. anisopliae* foram pulverizados na superfície do solo em dosagens de $2,8 \times 10^{-6}$, 5×10^{-6} e 1×10^{-5} conídios/cm² equivalentes a 280, 500 e 1000 g de conídios/ha, respectivamente. Foram utilizadas 36 larvas do 5º instar por tratamento em 6 repetições. A metodologia foi se-

melhante à do primeiro experimento, exceto para a quantidade de solo por recipiente que foi de 1000 g.

Análise de variância e teste de Tukey foram realizadas para comparação das médias dos tratamentos. A porcentagem de eficiência dos fungos testados foi calculada pela fórmula de Abbott (1925).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimentos em laboratório

No bioensaio conduzido em laboratório com *M. anisopliae*, observou-se que não houve diferença significativa no tempo de mortalidade média de larvas do último instar de *C. bimaculatus* entre os isolados, quando comparados em relação à mesma dosagem (Tabela 1). Na dosagem de 50.100 conídios/mm², o isolado CP₂₁₈ apresentou tempo de mortalidade média de larvas significativamente menor que os isolados E₆, E₉ e Ma₄₃ na dosagem de 5.400 conídios/mm² (Tabela 1). Os isolados CP₂₁₈ e o E₉* na dosagem de 5.400 conídios/mm² apresentaram valores de tempo de mortalidade média comparáveis estatisticamente ao CP₂₁₈ na dosagem maior. Todos os isolados foram altamente virulentos, matando 100% das larvas até sete dias após o tratamento. Não houve diferença significativa entre os isolados em relação ao número de insetos mortos por infecção de *M. anisopliae* (Tabela 1). Os isolados E₆ e E₉, ambos coletados no município de Rio Novo do Sul, no Espírito Santo, em nível epizootico nas espécies *Z. entreciana* e *Deois* sp. (Ventura & Matioli 1980), apresentaram valores de tempo de mortalidade média muito semelhantes (Tabela 1). Na dosagem de 5.400 conídios/mm² o tempo de mortalidade média de E₆ e E₉ foi 4,15 e 4,13 dias, respectivamente. Na dosagem maior, estes valores foram de 3,63 e 3,70 para os isolados E₆ e E₉, respectivamente. Também não houve diferença significativa entre os dois isolados quanto a porcentagem de insetos mortos e porcentagem de insetos infectados por *M. anisopliae*.

As cepas E₆ e E₉ de *M. anisopliae* podem ser consideradas iguais ou bastante próximas,

TABELA 1 - Tempo de mortalidade média e porcentagem de mortalidade de larvas do último instar de *Chalcodermus bimaculatus* inoculadas com quatro isolados de *Metarhizium anisopliae* e mantidas em solo esterilizado umedecido a 24°C.

Dosagem (confídios/mm ²)	Isolados ¹	Número de larvas ²	Tempo de mortalidade média ^{3,4} (dias)	Insetos Mortos (%) ⁴ (após 7 dias)	Infecção confirmada (%) ^{4,5}
5.400	E ₆	39	4,15b	100,0a	100,0a
	E ₉	40	4,13b	100,0a	97,5a
	Ma _{4,3}	40	4,13b	100,0a	100,0a
	CP ₂₁₁	40	3,73bc	100,0a	97,5a
	E ₉ *	38	3,63bc	100,0a	100,0a
50.100	E ₆	38	3,63bc	100,0a	97,4a
	E ₉	39	3,70bc	100,0a	97,4a
	Ma _{4,3}	40	3,78bc	100,0a	100,0a
	CP ₂₁₁	40	3,40c	100,0a	97,5a
0	Testemunha	38	5,67a	18,4b	5,3b

¹ Confídios dos isolados produzidos em BDAY exceto E₉* confídios produzidos em meio líquido.

² Larvas inoculadas em grupo de 10, quatro grupos (repetições) por tratamento. Os tratamentos que não totalizaram 40 larvas foi devido ao parasitismo das larvas por *Urosigalphus chalcodermi*.

³ Tempo de mortalidade média (TMm) = (ni . di) / ni . ni = n° de insetos mortos no i-ésimo dia após aplicação do fungo. di = dia de morte do inseto.

⁴ Valores seguidos da mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%. Para análise estatística do tempo de mortalidade média, a 3ª repetição do tratamento testemunha foi considerada perdida por não haver mortalidade de larvas no período experimental.

⁵ Porcentagem de insetos que apresentaram infecção por *M. anisopliae*.

já que apresentam comportamento bastante semelhante. Esta semelhança foi anteriormente indicada por análise eletroforética realizada por Conti et al. (1980) com 11 isolados de *M. anisopliae*, entre eles E₆ e E₉, para fosfatase e esterase. Os autores observaram que a fosfatase foi homogênea para todas as cepas e que, para esterase, foi possível distinguir 5 padrões diferentes, sendo os isolados E₆ e E₉ agrupados no mesmo padrão eletroforético.

Não houve diferença em virulência para os parâmetros, tempo de mortalidade média, por-

centagem de insetos mortos e infectados, por confídios do isolado E₆ produzido em BDAY e meio líquido (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Quintela et al. (1987), que testaram três substratos de produção de confídios de *B. bassiana* CP₅ e *M. anisopliae* E₉ em BDAY, arroz autoclavado e meio líquido, sobre larvas do último instar de *C. bimaculatus*. Os resultados indicaram que os substratos de esporulação não tiveram efeito na virulência dos fungos. Entretanto, Magalhães et al. (1987) testaram confídios de

M. anisopliae e *B. bassiana* produzidos em BDAy, arroz autoclavado e meio líquido em adultos de *Cerotoma arcuata* e observaram maior patogenicidade dos conídios de *M. anisopliae* produzidos em BDAy, com um LT 50 de 8,0 dias, comparado ao meio líquido e arroz com LT 50 de 10,5 e 16,8 dias, respectivamente.

Recentemente, tem-se enfatizado na literatura a utilização de micélio seco de fungos no controle de insetos. A produção massal de micélio através de fermentação líquida é, nor-

malmente, mais fácil e rápida quando comparada ao meio sólido, que em muitos casos, tem baixo rendimento, longo período de fermentação e alto custo (Quinlan 1986). Neste trabalho, na avaliação do potencial da aplicação de micélio seco no solo em relação a aplicação de conídios no controle de *Chalcodermus*, observaram-se que todos os tratamentos mataram 100% das larvas, entretanto nos tratamentos com micélio o tempo de mortalidade média das larvas foi maior (Tabela 2). A diferença no tempo de mortalidade média de insetos entre

TABELA 2 - Tempo de mortalidade média e porcentagem de mortalidade de larvas do último instar de *Chalcodermus bimaculatus* após inoculação¹ em solo esterilizado umedecido contendo micélio ou conídios de *Beauveria bassiana* CP, e *Metarhizium anisopliae* E, mantido a 24°C.

Inóculo	Concentração de conídios ou micélio/g de solo	Número de larvas ¹	Tempo de mortalidade média ² (dias)	Insetos mortos (%) ³	Infecção confirmada ^{3,4} (%)
<i>B. bassiana</i>					
Micélio	6,7 x 10 ⁻⁴	40	8,2	100,0a	92,5a
	6,7 x 10 ⁻³	40	6,4	100,0a	97,5a
Conídios	6,7 x 10 ⁻⁴	40	5,0	100,0a	97,5a
	6,7 x 10 ⁻³	40	3,4	100,0a	100,0a
<i>M. anisopliae</i>					
Micélio	6,7 x 10 ⁻⁴	40	5,7	100,0a	100,0a
	6,7 x 10 ⁻³	39	4,9	100,0a	95,0a
Conídios	6,7 x 10 ⁻⁴	39	3,3	100,0a	100,0a
	6,7 x 10 ⁻³	41	2,1	100,0a	100,0a
Testemunha	0	38	6,0	2,6b	2,6b

¹ Larvas inoculadas em grupo de 10, quatro grupos (repetições) por tratamento.

Os tratamentos que não totalizaram 40 larvas foi devido ao parasitismo das larvas por *Urosigalphus chalcodermi*.

² Tempo de mortalidade média (TMM) = (ni . di) / ni . ni = n° de insetos mortos no i-ésimo dia após aplicação do fungo. di = dia de morte do inseto.

³ Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

⁴ Porcentagem de insetos que apresentavam infecção por *M. anisopliae* ou *B. bassiana*..

micélio e conídios foi de aproximadamente 3 dias, tempo necessário para ocorrer a esporulação do fungo, antes que possa ocorrer a infecção. Os tratamentos com micélio e conídios foram estatisticamente semelhantes quanto ao número de insetos infectados por *M. anisopliae*. Rombach et al. (1986) também observaram que a aplicação de micélio seco de *M. anisopliae* e *Paecilomyces lilacinus* no controle de *Nilaparvata lugens* a nível de campo, teve um controle comparável ao obtido com aplicações de conídios.

Apesar da utilização de micélio seco ser relatado na literatura como alternativa a conídios, poucos trabalhos tem sido desenvolvidos com micélio no controle de insetos. Estudos básicos do efeito de fatores bióticos e abióticos na sua persistência devem ser determina-

dos para a real avaliação do potencial de sua utilização a nível de campo.

Experimentos em casa telada

No primeiro experimento em casa telada, os isolados CP₇ de *B. bassiana* e E₆ de *M. anisopliae* foram os mais virulentos, matando respectivamente 95 e 90% dos insetos, embora não diferissem estatisticamente dos outros isolados (Tabela 3). A eficiência do isolado CP₇ foi de 91,3% e do isolado E₆ de 83,3%. O isolado CP₇ foi também mais virulento a larvas do último instar de *C. bimaculatus* em testes de laboratório conduzidos por Quintela et al. (1990).

No segundo experimento, os isolados E₆ e E₉ de *M. anisopliae* foram muito semelhantes

TABELA 3 - Número de adultos vivos e mortos e porcentagem de mortalidade de larvas de *Chalcodermus bimaculatus* após inoculação¹ em solo tratado² com *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, em casa telada.

Tratamento	Número de adultos vivos	Número de larvas parasitadas ³	Número de insetos mortos ^{4,5}	Mortalidade (%)	Eficiência ⁶ (%)
<i>M. anisopliae</i>					
E ₆	23	1	216 a	90	83,3
E ₉	47	2	191 a	80	65,9
<i>B. bassiana</i>					
CP ₇	12	1	227 a	95	91,3
CP ₅	29	3	208 a	87	79,0
Testemunha	138	2	100 b	42	0

¹ 240 larvas/tratamento em quatro repetições.

² 4,9 x 10⁻⁵g de conídios/cm² de solo.

³ Larvas de manhoso parasitadas por *Urosigalphus chalcodermi*.

⁴ Larvas, pupas e adultos.

⁵ Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

⁶ Porcentagem de eficiência calculada pela fórmula de Abbott (1925).

em termos de mortalidade de larvas, embora E_6 tenha sido levemente superior ao E_9 nas duas dosagens maiores, com uma eficiência de 79,2 e 77,1%, respectivamente em relação a 52,1 e 62,5% para o isolado E_9 (Tabela 4).

Nas três dosagens testadas, *B. bassiana* CP₅ matou maior número de insetos que o CP₇; entretanto os resultados de mortalidade

não foram estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% (Tabela 4). Dosagens equivalentes a 280, 570 e 2800 g de conídios/ha não causaram diferença significativa na mortalidade de insetos de mánhoso para as cepas de *B. bassiana* e *M. anisopliae* testadas (Tabela 4). Os resultados mostraram que o aumento na dosagem não resultou significativamente em

TABELA 4 - Número de adultos vivos e mortos e porcentagem de mortalidade de larvas de *Chalcodermus bimaculatus* após inoculação¹ em solo tratado com várias concentrações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, em casa telada.

Tratamento	Dosagem (conídios/cm ²) ²	Número de adultos vivos	Número de larvas parasitadas ³	Número de insetos mortos ⁴	Mortalidade (%) ⁵	Eficiência (%) ⁶
<i>M. anisopliae</i>						
	2,8 x 10 ⁻⁶					
E_6		22	3	75	77,3 abc	54,2
E_9		20	7	73	78,5 abc	58,3
	5,7 x 10 ⁻⁶					
E_6		10	6	84	89,4 ab	79,2
E_9		23	7	69	75,0 bc	52,1
	2,8 x 10 ⁻⁵					
E_6		11	0	89	89,0 abc	77,1
E_9		18	7	75	80,6 abc	62,5
<i>B. bassiana</i>						
	2,8 x 10 ⁻⁶					
CP ₅		21	2	77	78,6 abc	56,2
CP ₇		30	4	66	68,7 c	37,5
	5,7 x 10 ⁻⁶					
CP ₅		11	2	87	88,8 ab	77,1
CP ₇		22	1	77	77,7 abc	54,1
	2,8 x 10 ⁻⁵					
CP ₅		8	4	88	91,7 a	83,3
CP ₇		13	16	71	86,2 ab	72,9
Testemunha		48	3	49	50,5 d	0

¹ 100 larvas por tratamento em seis repetições.

² Dosagens equivalentes a 280, 570 e 2800 g de conídios/ha, respectivamente.

³ Larvas parasitadas por *Urosigalphus chalcodermi*.

⁴ Larvas, pupas e adultos.

⁵ Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

⁶ Porcentagem de eficiência calculada pela fórmula de Abbott (1925).

maior número de insetos mortos.

No terceiro experimento conduzido em casa telada, o isolado E₉ de *M. anisopliae* semelhante aos experimentos anteriores, foi levemente superior ao isolado E₆ nas dosagens testadas quanto a porcentagem de mortalidade de larvas e eficiência. *M. anisopliae* mostrou-se mais virulento à larvas de manhoso que *B. bassiana* em todas as dosagens testadas, com exceção do isolado CP₅ que matou 80,5% dos

insetos na dosagem mais baixa. Como no experimento anterior observa-se novamente que o aumento na dosagem não significou um aumento no número de insetos mortos. Seria interessante testar dosagens abaixo de 240 g e avaliar qual seria a dosagem mínima de fungo necessária para se obter o máximo de controle de *Chalcodermus*, comparável às dosagens mais altas (Tabela 5).

As larvas usadas neste trabalho foram cole-

TABELA 5 - Número de insetos vivos e mortos e porcentagem de mortalidade de larvas de *Chalcodermus bimaculatus* após inoculação¹ em solo tratado com várias concentrações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, em casa telada.

Concentrações (conídios/ cm ²) ²	Isolado	Número de adultos vivos	Número de larvas parasitadas ³	Número de insetos mortos ⁴	Porcentagem de mortalidade ⁵	Eficiência (%) ⁶
<i>M. anisopliae</i>						
2,4 x 10 ⁻⁶	E6	6	9	21	78,0 ab	71,4
	E9	8	2	26	76,5 ab	61,9
4,2 x 10 ⁻⁶	E6	7	2	27	79,4 ab	66,7
	E9	9	2	25	73,5 ab	57,1
8,4 x 10 ⁻⁶	E6	7	4	25	78,0 ab	66,7
	E9	9	2	25	73,5 ab	57,1
<i>B. bassiana</i>						
2,4 x 10 ⁻⁶	CP1	22	7	7	24,0 bc	-0,0
	CP5	7	0	29	80,5 ab	66,7
4,2 x 10 ⁻⁶	CP1	12	3	21	63,6 ab	42,9
	CP5	10	2	24	70,6 ab	52,4
8,4 x 10 ⁻⁶	CP1	13	2	21	61,8 ab	38,1
	CP5	14	2	20	58,8 ab	33,3
0	Testemunha	21	0	15	42,0 bc	0,0

¹ 36 larvas por tratamento em seis repetições.

² Dosagens equivalentes a 240, 420 e 840 g de conídios/ha.

³ Larvas parasitadas por *Urosigalphus chalcodermi*.

⁴ Larvas, pupas e adultos.

⁵ Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

⁶ Porcentagem de eficiência calculada pela fórmula de Abbott (1925).

tadas de vagens provenientes do campo e normalmente estes insetos são parasitados pelo microhimenóptero *Urosigalphus chalcodermi* Wilkinson da família Braconidae. O parasitismo inicia-se quando as larvas estão nas sementes em vagens verdes e o parasitóide emerge das larvas logo após a entrada destas no solo para empupar. Portanto, a utilização de fungos no controle de larvas do manhoso no solo não afeta o parasitóide uma vez que, quando o fungo começa a matar as larvas o parasitóide já emergiu. Nos experimentos conduzidos em casa telada, observaram-se taxas superiores de parasitismo de *U. chalcodermi* em larvas nos tratamentos com fungos em relação a testemunha. Por exemplo, na tabela 4, o tratamento testemunha teve três insetos parasitados e o tratamento com *B. bassiana* na dosagem mais alta, 2.800 g de conídios/ha teve 16 insetos parasitados. Resultados semelhantes podem ser observados nas tabelas 3 e 5.

Os resultados obtidos até o momento para o controle de *C. bimaculatus* indicam um maior potencial para a utilização de *Beauveria* e *Metarhizium* no solo para controle de larvas do que em aplicação foliar contra adultos (Quintela et al 1990). Além das larvas serem mais suscetíveis aos fungos que os adultos a baixa persistência de *B. bassiana* e *M. anisopliae* na superfície de folhagem de plantas limita a utilização de fungos entomógenos como inseticidas microbianos em aplicações foliares. Entretanto, sua persistência no solo devido a proteção proporcionada pelo ambiente os tornam excelentes candidatos ao controle de pragas habitantes do solo (Ferron 1981).

Neste trabalho, observaram-se que conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* na taxa equivalente a 240-280 g/ha produziram aproximadamente 70% de mortalidade de larvas de *C. bimaculatus* quando estas entram no solo para empupar. Além disso, os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* mantêm-se no solo por vários meses após aplicação no campo (Quintela et al. 1987; Oliveira 1979). Aplicações repetidas e regulares de *Beauveria* e *Metarhizium* no solo, num programa de manejo integrado de pragas, possivelmente resultaria em estabeleci-

mento de níveis de inóculo capazes de manter a população da praga abaixo do nível de dano econômico e assim permitir reduções no número de aplicações dos fungos.

A especificidade desses fungos às pragas do caupi e o considerável índice de parasitismo de *U. chalcodermi* sobre larvas de *C. bimaculatus* com taxa de parasitismo de aproximadamente 30% (Magalhães & Quintela 1987) reforçam a importância do controle integrado.

CONCLUSÕES

– Os isolados E₉, E₉, Ma₄₉ e CP₂₁₈ de *M. anisopliae* são virulentos a larvas do último instar de *C. bimaculatus*.

– Não há diferença quanto a virulência de conídios do isolado E₉ de *M. anisopliae* produzido em BDAy ou meio líquido sobre larvas do último instar de *C. bimaculatus*.

– O tempo de mortalidade média das larvas de *C. bimaculatus* é maior em solo tratado com micélio seco em relação a conídios. Entretanto, não há diferença no número de insetos mortos pelo tratamento do solo com micélio seco ou conídio.

– O aumento nas dosagens de *B. bassiana* e *M. anisopliae* não resulta significativamente em maior número de insetos mortos de *C. bimaculatus*.

– Em casa telada, conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, dosagem equivalente a 240 g/ha, matam aproximadamente 70% de larvas de *C. bimaculatus*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Francisco José P. Zimmermann, pela análise estatística e aos laboratoristas Edmar Cardoso de Moura e Heloisa da Silva Coelho Martins e ao técnico de laboratório Sebastião Martins dos Santos, pela valiosa ajuda na condução dos experimentos.

Esta pesquisa foi financiada, em parte, pelo The Bean-Cowpea Collaborative Research

Support Program, da Agência Internacional para o Desenvolvimento (USAID/BIFAD Grant DAN - 1310 - GSS - 6008-00).

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of comparing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v.18, p.265-267, 1925.
- AGRACETUS INCORPORATED, Denis McCabe e Richard S. Soper. Preparation of an entomopatogenic fungal insect control agent. Int. CAO1N 63/00, C12N3/00, C12N1/00, C12N1/14. US N4.530.834. 17 set. 1982; 23 jul. 1985.
- BELL, J.V.; HAMALLE, R.J. Three fungi tested for control of the cowpea curculio, *Chalcodermus aeneus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.15, p.447-450, 1970.
- CHALFANT, R.B.; YOUNG, J.R. Cowpea curculio, *Chalcodermus aeneus* Boheman (Coleoptera: Curculionidae): Insecticidal control on the southern pea in Georgia, 1980-1986. *Applied Agricultural Research*, v.3, n.1, p.8-11, 1988.
- CONTI, E. de; MESSIAS, C.L.; SOUZA, H.M. de; AZEVEDO, J.L. de. Electrophoretic variation in esterases and phosphatases in eleven wild-type strains of *Metarhizium anisopliae*. *Experientia*, v.36, p.293-294, 1980.
- CUTHBERT, F.P.; FERY, R.L. CR 17-1-13, CR 18-13-1, CR 22-2-21, cowpea curculio resistant southern pea germplasm. *Hortscience*, v.10, n.6, p.628, 1975.
- CUTHBERT, F.P.; FERY, R.L. Value of plant resistance for reducing cowpea curculio damage to the southern pea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Journal of the American Society of Horticultural Science*, v.104, n.2, p.199-201, 1979.
- FERRON, P. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: BURGESS, H.D. *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. New York: Academic Press, 1981. p.465-482.
- MAGALHÃES, B.P.; LEITE, L.G.; QUINTELA, E.D.; SANTOS, S.M.; ROBERTS, D.W. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, produzidos em diferentes substratos, sobre *Cerotoma arcuata*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., 1987. Campinas. **Resumos**. Campinas: SEB, 1987 p.187.
- MAGALHÃES, B.P.; QUINTELA, E.D. Níveis de parasitismo de *Urosigalphus chalcodermi* Wilkinson sobre *Chalcodermus bimaculatus* Fiedler e de *Celatoria bosqi* Blanchard sobre *Cerotoma arcuata* Olivier em caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), em Goiás. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.16, n.1, p.235-238, 1987.
- OLIVEIRA, D.P. de. **Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* (Metsh.) Sorokin em Rizosfera de gramíneas forrageiras**. Viçosa: UFV, 1979. 54p. Tese Mestrado.
- QUINDERE, M.A.W.; SANTOS, J.H.R. dos. Efeito da época relativa de plantio no consórcio milho x caupi sobre a presença de insetos úteis e o manejo econômico das pragas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.21, n.4, p.355-368, 1986.
- QUINLAN, R.J. Biotechnology - the last hope for entomopathogenic fungi. In: SAMSON, R.A.; VLAK, J.M.; PETERS, D. **Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology**. Wageningen: Foundation of the fourth international colloquium of invertebrate pathology, 1986. p.607-610.
- QUINTELA, E.D.; MAGALHÃES, B.P.; LORD, J.C.; ROBERTS, D.W. Persistence of *Beauveria bassiana* in tropical soil and pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Chalcodermus bimaculatus*. p.54-55. In: ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 20. 1987, Florida. **Program and Abstracts**. Gainesville: University of Florida, 1987. p.54-55.
- QUINTELA, E.D.; LORD, J.C.; WRAIGHT, S.P.; ALVES, S.B. ROBERTS, D.W. Pathogenicity of *B. bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) to larval and adult *Chalcodermus bimaculatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of*

- Economic Entomology**, v.83, n.4, p.1276-1279, 1990.
- ROMBACH, M.C.; AGUDA, R.M.; SHEPARD, B.M.; ROBERTS, D.W. Infection of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae), by field application of entomopathogenic Hyphomycetes (Deuteromycotina) **Environmental Entomology**, v.15, p.1070-1073, 1986.
- SANTOS, J.H.R. dos; QUINDERE, M.A. Distribuição, importância e manejo das principais pragas do caupi no Brasil In: ARAUJO, J.P.P. de; WATT, E.E. (Ed.). **O caupi no Brasil**. Brasília: IITA/ EMBRAPA, 1988. p.607-658.
- VENTURA, J.A.; MATIOLI, J.C. Ocorrência de epizootias naturais causadas por *Metarhizium anisopliae* (Metsh) Sorok. em populações de *Zulia entreriana* (Berg., 1979) e *Deois* sp. no Estado do Espírito Santo. **Ecossistema**, v.5, p.92-95, 1980.