

EFEITOS DA COMBINAÇÃO DE TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA E
CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Beauveria bassiana* (BALS.)
VUILL. NA MORTALIDADE DE *Cerotoma arcuata* (OLIVIER,
1791) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)¹

Paulo M. Fernandes²

Sérgio B. Alves³

Bonifácio P. Magalhães⁴

Jeffrey C. Lord⁴

ABSTRACT

Effects of combination of temperature, relative humidity and concentrations of inoculum of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on the mortality of *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Studies were conducted to determine the effects of combinations of temperature (17.5 ± 1 ; 24 ± 1 ; and $30 \pm 1^\circ\text{C}$) relative humidity (RH) (59 ± 5 , 72 ± 4 , 89 ± 3 , and $99 \pm 1\%$), and concentrations of inoculum (0 , 10^7 , 10^8 , and 10^9 conidia/ml) of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791). Lethal time, which was the index of *C. arcuata* mortality used to compare the effects of test parameters, decreased as a function of increasing temperature and concentration of inoculum but was mildly influenced by R.H..

RESUMO

Foram feitos estudos visando determinar a influência da combinação de temperatura ($17,5 \pm 1$; 24 ± 1 e $30 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) (59 ± 5 , 72 ± 4 , 89 ± 3 e $99 \pm 1\%$) e con-

Recebido em 08/03/89

¹ Parte da dissertação de mestrado em entomologia apresentada pelo primeiro autor à ESALQ/USP. Pesquisa financiada através de convênio EMBRAPA/CNPAF/BOYCE THOMPSON INSTITUTE.

² Universidade Federal de Goiás - Escola de Agronomia. Caixa Postal 131, 74000 Goiânia, GO.

³ Departamento Entomologia-ESALQ/USP. Caixa Postal 09, 13400 Piracicaba, SP. Bolsista do CNPq.

⁴ EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão. Caixa Postal 179, 74000 Goiânia, GO.

centração de inóculo (0 , 10^7 , 10^8 e 10^9 conídios/ml) na mortalidade de adultos de *Ceratomyxa arcuata* (Olivier, 1791) inoculados com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Os efeitos dos fatores testados na mortalidade de *C. arcuata* foram medidos através dos tempos letais que diminuíram em função de aumentos da temperatura e concentração de inóculo, sendo pouco afetados pela U.R. Na combinação $24^{\circ}\text{C}/89\%/10^9$ conídios/ml o TL_{90} foi 4,9 dias, enquanto que a $17^{\circ}\text{C}/89\%/10^9$ conídios/ml o TL_{90} foi de 8,1 dias.

INTRODUÇÃO

A mortalidade de insetos inoculados com fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é influenciada por diversos fatores, dentre os quais a temperatura, umidade relativa e concentração de inóculo são considerados os mais importantes.

Alguns dos trabalhos que tratam da influência simultânea destes fatores mostram que a mortalidade dos insetos é mais influenciada pela temperatura e concentração de inóculo do que pela umidade relativa. FARGUES (1972) estudou o efeito de umidades relativas (55, 75 e 100%) e concentração (8×10^4 , 8×10^5 , 8×10^6 e 8×10^7 conídios/ml) na mortalidade de larvas de *Leptinotarsa decemlineata* por *B. bassiana* e confirmou que a mortalidade foi uma função da concentração aplicada, sendo pouco afetada pela umidade relativa. Resultados semelhantes foram obtidos por RAMOSKA (1984) que testou a influência de diferentes umidades relativas e concentrações na mortalidade de *Blissus leucopterus* por *B. bassiana*. Após 12 dias houve 100% de mortalidade na concentração mais alta para todos os níveis de umidade relativa. MOORE (1973) comparou os efeitos de diferentes umidades relativas e temperaturas, na mortalidade de *Dendroctonus frontalis* pelos fungos *B. bassiana*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium solani* e verificou que a mortalidade foi influenciada apenas pela temperatura. DOBERSKI (1981) testou o efeito de diferentes temperaturas e concentrações de conídios de *B. bassiana* na mortalidade de *Scolytus scolytus* e observou que os tempos letais (TL_{50} e TL_{90}) foram reduzidos em função de aumentos nas concentrações para todas as temperaturas testadas. O presente trabalho foi desenvolvido visando determinar os efeitos simultâneos de diferentes combinações de temperaturas, umidades relativas e concentrações de inóculo de *B. bassiana* na mortalidade de *Ceratomyxa arcuata* (Olivier, 1791), um importante desfolhador e vetor de viroses das culturas do caupi e feijão na América Latina.

MATERIAL E MÉTODOS

Todas as condições experimentais e os procedimentos referentes ao bioensaio com *B. bassiana* e *C. arcuata* foram idênticas ao descrito por FERNANDES *et al.* (1989).

Decorridos 10 dias da inoculação, quando a maioria dos insetos estava morta, foi feita uma avaliação dos níveis de conidiogênese. Nas combinações de condições que permitiram a conidiogênese, os insetos foram mantidos por mais 10 dias. Em seguida foram retirados e colocados em tubo de ensaio com 10 ml de água mais espalhante adesivo. Após intensa agitação as suspensões obtidas foram quantificadas em hemocitômetro, obtendo-se o número médio de conídios produzidos por inseto em cada tratamento.

Nas combinações de condições que não permitiram a conidiogênese, os insetos mortos de cada repetição de um mesmo tratamento foram reunidos e mantidos nas mesmas condições por mais 60 dias. Eliminaram-se os cadáveres de corpo escuro, flácidos e exalando odor desagradável, pois provavelmente estavam colonizados por bactérias. Foram feitas amostragens aos 0, 10, 30 e 60 dias. Cada amostra, que era composta de oito insetos, foi colocada em câmara úmida (placa de Petri com papel de filtro úmido) e mantida a 25°C durante cinco dias quando foi feita a contagem do número de insetos com sinais externos do fungo.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e o teste de Tukey foi utilizado na comparação das médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo *B. bassiana* provocou a morte de *C. arcuata* em todas as combinações dos fatores testados. (Quadro 1). De um modo geral, os tempos letais foram mais afetados pela concentração de inóculo e temperatura, diminuindo em função de aumentos nos níveis destes fatores. O efeito da concentração foi mais evidente a 17,5°C e 89% ou 99% de umidade relativa. A 17,5°C e umidade relativa de 99% os tempos letais (TL₅₀) foram de 11,2; 9,2; 7,5 e 6,6 dias para as concentrações de 0, 10⁷, 10⁸ e 10⁹ conídios/ml, respectivamente. Nas três temperaturas e a 59% de umidade relativa os TL₅₀ e TL₉₀ para a concentração 10⁷ ficaram próximos aos TL₅₀ e TL₉₀ da testemunha (concentração 0). Na temperatura de 17,5°C houve aumento dos tempos letais em relação a 24°C, porém não afetou a mortalidade total, concordando com as afirmações de ROBERTS & CAMPBELL (1977). Segundo estes autores, temperaturas abaixo do ótimo podem aumentar os tempos letais sem afetar a mortalidade total. Os

QUADRO 1 - Efeito da combinação concentração de inóculo, temperatura e umidade relativa sobre a mortalidade de *Ceratomyxa arcuata*** por *Beauveria bassiana*. EMBRAPA/CNPAF, 1986.

CNPAF, 1986.

| Temperatura (°C) | Umidade relativa (%) | Concentração do fungo (conídios/ml x 10 ⁷) | | | | | | | |
|---------------------|----------------------------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 0 | | 1 | | 10 | | 100 | |
| | | Tempos letais (dias) | | | | | | | |
| | | TL ₅₀ | TL ₉₀ | TL ₅₀ | TL ₉₀ | TL ₅₀ | TL ₉₀ | TL ₅₀ | TL ₉₀ |
| 17,5 ± 1 | 99 ± 1 | 11,2 | 13,9 | 9,2 | 11,1 | 7,5 | 9,5 | 6,6 | 8,1 |
| | 89 ± 3 | 13,9 | 19,1 | 9,4 | 12,4 | 7,4 | 9,3 | 6,7 | 8,1 |
| | 72 ± 4 | 13,7 | 19,7 | 10,0 | 13,9* | 8,5 | 10,4 | 7,3 | 9,0 |
| | 59 ± 5 | 10,1 | 15,5 | 8,9* | 12,0* | 7,3 | 9,8 | 7,3 | 9,0 |
| 24 ± 1 | 99 ± 1 | 7,2 | 11,8 | 5,3 | 7,1 | 4,9 | 5,9 | 4,1 | 5,4 |
| | 89 ± 3 | 6,4 | 10,3 | 5,4 | 7,8 | 4,5 | 5,9 | 3,9 | 4,9 |
| | 72 ± 4 | 8,6 | 13,4 | 6,0 | 10,0* | 5,1 | 6,6 | 4,3 | 5,4 |
| | 59 ± 5 | 6,5 | 10,4 | 6,5* | 10,2* | 5,0 | 6,4 | 4,7 | 5,7 |
| 30 ± 1 | 99 ± 1 | 5,1 | 7,4 | 4,7* | 6,6* | 4,4* | 6,1* | 4,3* | 5,7 |
| | 89 ± 3 | 5,6 | 9,9 | 5,9* | 8,3* | 5,1* | 7,3* | 3,9 | 5,5 |
| | 72 ± 4 | 5,7 | 9,4 | 4,6 | 6,7 | 4,3 | 5,9 | 4,2 | 5,4 |
| | 59 ± 5 | 5,3 | 8,6 | 4,6* | 7,9* | 4,3 | 6,5 | 3,7 | 5,3 |

* tempo letal (em linha) cujo intervalo de confiança apresenta intersecção com intervalo de confiança da concentração 0 (testemunha) (limite de confiança para 95%).

** foram testados de 28 a 36 adultos por tratamento.

dados do Quadro 1 mostram que altas concentrações amenizam os efeitos da baixa temperatura, reduzindo bastante os tempos letais. Assim, a 17,5°C e concentração de 10⁹ os TL₉₀ ficaram entre 8,1 e 9,0 dias, enquanto que a 24°C (próximo do ótimo) e concentração 10⁷, os TL₉₀ variaram de 7,1 a 10,2 dias.

À temperatura de 24°C os efeitos da concentração não foram tão nítidos quanto a 17,5°C. Os insetos morreram mais rápido nas duas concentrações mais altas. Nas combinações de temperatura e umidade relativa mais próximas do ótimo para *B. bassiana* (24°C e 89% ou 99%) os TL₅₀ foram semelhantes entre as concentrações, mostrando que, nestas condições, uma menor quantidade de conídios é necessária para matar os insetos. Estes dados não concordam com as afirmações de RAMOSKA (1984). Segundo este autor, o estresse em níveis baixos de umidade relativa aumentaria a suscetibilidade dos insetos à doença, e portanto, um menor número de conídios seria necessário para matá-los. Ao contrário, no presente trabalho houve uma tendência de tempos letais maiores nos níveis de umidade relativa mais baixos. A 30°C houve efeito nítido da concentração apenas nos níveis de umidade relativa mais baixos (72 e 59%). Nesta temperatura em combinação com altas umidades relativas (99 e 89%) os tempos letais praticamente não diferiram entre as concentrações, exceto para 89% e concentração 10⁹. Entretanto, ficou claro que *B. bassiana* foi capaz de infectar e matar os insetos nesta temperatura. De um modo geral, os tempos letais obtidos a 24 e 30°C não apresentaram diferenças.

Os tempos letais pouco diferiram entre os diferentes níveis de umidade relativa testados, especialmente nas concentrações mais altas (10⁸ e 10⁹). Na concentração mais alta e temperatura de 17,5°C, os TL₅₀ variaram de 6,6 a 7,3 dias, entre os quatro níveis de umidade relativa, enquanto que, para mesma concentração e a 24°C e 30°C, esta variação foi de 3,9 a 4,7 e 3,7 a 4,3 dias, respectivamente.

A umidade relativa pouco influenciou na infecção e morte dos insetos por *B. bassiana*, concordando com os trabalhos de outros autores (MADELIN, 1966; MOORE, 1973; FERRON, 1977 e RAMOSKA, 1984).

O efeito da temperatura e umidade relativa na sobrevivência de *C. arcuata* pode ser observado comparando-se os tempos letais da testemunha. Os tempos letais foram muito afetados pela temperatura e diminuíram em função do aumento desta. Nas temperaturas extremas (30 e 17,5°C), os insetos sobreviveram por mais tempo em umidades intermediárias (89 e 72%). A combinação menos favorável foi 30°C e 99% de umidade relativa, que provocou 90% de mortalidade em 7,4 dias.

Ocorreu um efeito isolado e interativo da temperatura e concentração, significativo a 0,1% (test f), para todos os dias de leitura. Isto pode ser explicado pelo aumento da mortalidade de *C. arcuata* em função do aumento da temperatura para todas as concentrações e vice-versa. Altas concentrações (10⁹)

compensaram baixas temperaturas (17,5°C) e altas temperaturas (30°C) compensaram baixas concentrações (10⁷) mostrando o efeito interativo.

A umidade relativa apresentou efeito significativo apenas no 8º, 9º e 10º dias de leitura, mostrando que este fator é mais importante sob temperaturas ou concentrações baixas, pois nas temperaturas e concentrações altas praticamente todos os insetos morreram antes do 8º dia. Não houve interação significativa da umidade relativa com os demais fatores, exceto no 10º dia de leitura, quando praticamente só restaram insetos da testemunha.

Esta pouca influência da umidade relativa na infecção e morte de insetos por *B. bassiana* tem sido explicada da mesma maneira por diversos autores que obtiveram resultados semelhantes a este (FERRON, 1977; RAMOSKA, 1984; RIBA & MARCANDIER, 1984). O desenvolvimento da infecção e morte dos insetos independente da umidade relativa é devido à existência, na superfície do inseto, de uma camada de ar com umidade alta, pouco influenciada pela umidade relativa atmosférica. Esta umidade é suficiente para que o conídio germine e penetre no inseto. Portanto, o fungo *B. bassiana* necessitaria de alta umidade relativa para infectar e matar insetos, mas a umidade relativa microclimática na superfície do inseto vivo seria diferente e mais alta que a umidade relativa atmosférica.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- os tempos letais (TL₅₀ e TL₉₀) resultantes da inoculação de *C. arcuata* com *B. bassiana* são mais influenciados pelo efeito isolado e interativo da temperatura e concentração de inóculo do que pela umidade relativa.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Francisco J. P. Zimmermann pelo apoio estatístico.

LITERATURA CITADA

- DOBERSKI, J.W. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *J. Invertebr. Pathol.* 37: 195-200, 1981.
- FARGUES, J. Étude des conditions d'infection des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* Say. par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Fungi imperfecti). *Entomophaga* 17: 319-337, 1972.
- FERNANDES, P.M.; ALVES, S.B.; MAGALHÃES, B.P. & ROBERTS, D.W. Efeitos de fatores físicos e bióticos na conidiogênese e sobrevivência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no interior de cadáveres de *Ceratomyia arcuata* (Olivier, 1791) (Coleoptera: Chrysomelidae). *An. Soc. ent. Brasil*, 18 (supl.): 147-156, 1989.
- FERRON, P. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi imperfecti, Moniliales) in imagines of *Acanthoscelides obtectus* (Col.: Bruchidae). *Entomophaga* 22(4): 339-396, 1977.
- MADÉLIN, M.F. Fungal parasites of insects. *A. Rev. Ent.* 11: 423-448, 1966.
- MOORE, G.E. Pathogenicity of three entomogenous fungi to the southern pine beetle at various temperatures and humidities. *Environ. Ent.* 2(1): 54-57, 1973.
- RAMOSKA, W.A. The influence of relative humidity on *Beauveria bassiana* infectivity, and replication in the chinch bug *Blissus leucopterus*. *J. Invertebr. Pathol.* 43: 389-394, 1984.
- RIBA, G. & MARCANDIER, S. Influence de l'humidité sur l'agressivité des sauches de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman et de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sarokin, hyphomycètes pathogènes de la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* Hubn. *Agronomie* 4(2): 189-194, 1984.
- ROBERTS, D.W. & CAMPBELL, A.S. Stability of entomopathogenic fungi. *Misc. Publ. ent. Soc. Am.* 10(3): 19.76, 1977.