

FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DO PERCEVEJO DO COLMO DO ARROZ *Tibraca limbativentris* STAL.: VIRULÊNCIA DE ISOLADOS DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL.

José F. da S. Martins¹ e Maria G. A. de Lima²

ABSTRACT

Entomopathogenic Fungi in the Control of the Rice Stem Bug *Tibraca limbativentris* Stal: Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Isolates

Isolates of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. were evaluated for virulence against adults of the rice stem bug, *Tibraca limbativentris* Stal (Heteroptera: Pentatomidae). Rice plants and insects were caged inside plastic pots and sprayed directly with 5×10^8 conidia/ml suspension of different fungi isolates. Potencial virulent isolates were identified; the isolate CP 172 of *M. anisopliae* was considered the most promising for microbial control of *T. limbativentris* because it caused the highest rate of bug mortality and percentage of insects supporting *post mortem* sporulation.

KEY WORDS: Insecta, *Oryza sativa*, sucking insect, Pentatomidae, microbiological control.

RESUMO

A virulência de isolados dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o percevejo do colmo do arroz *Tibraca limbativentris* Stal (Heteroptera: Pentatomidae) foi avaliada em dois experimentos de laboratório. Insetos adultos confinados no interior de vasos plásticos, sobre plantas de arroz., foram contaminados com suspensões de 5×10^8 esporos/ml de diferentes isolados dos fungos. O isolado CP 172 de *M. anisopliae* foi considerado o mais promissor para o controle microbiano de *T. limbativentris*, visto ter causado índices significativamente mais elevados de mortalidade e de infecção confirmada de insetos.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, *Oryza sativa*, inseto sugador, Pentatomidae, controle microbiológico.

Recebido em 02/12/92.

¹EMBRAPA/CPACT-Centro de Pesq. Agrop. de Clima Temperado, Caixa postal 553, 96001-970, Pelotas, RS.

²Empresa Goiana de Pesquisa Agropecuária-EMGOPA, Caixa postal 49, 74610-060, Goiânia, GO.

INTRODUÇÃO

O percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* Stal (Heteroptera: Pentatomidae), ocorre na maioria das regiões produtoras de arroz no Brasil (Ferreira *et al.* 1986) prejudicando principalmente cultivos irrigados. O inseto pode danificar as plantas, na fase vegetativa, a partir do início do perfilhamento. Os riscos de perda de produção são maiores, entretanto, quando os colmos são perfurados na fase reprodutiva, por ocasião da formação das panículas. A tendência é o percevejo distribuir-se na lavoura, ao acaso na fase vegetativa da cultura e de forma agregada na fase reprodutiva (Costa & Link 1992). Contudo, sempre há maior concentração de insetos nas partes dos arrozais onde não há formação de lâmina d'água de irrigação, permanecendo o solo apenas saturado, numa condição similar a de arroz em "várzea úmida". Por isso, no sul do Brasil, o inseto é ainda mais prejudicial àquelas lavouras onde o arroz é também cultivado sobre as taipas (pequenos camalhões de terra que servem para represar a água de irrigação). A inexistência de lâmina d'água possibilita o estabelecimento de *T. limbativentris* na base das plantas, entre os colmos, em contato com a umidade na superfície do solo, condição essa propícia ao crescimento da população (Trujillo 1970). Tal hábito de localização também é visto como favorável ao controle do percevejo, através de fungos entomopatogênicos, isso porque as condições micrometeorológicas entre os colmos são consideradas adequadas ao desenvolvimento desse tipo de patógeno (Meneses Carbonell *et al.* 1980).

As principais informações sobre o efeito de fungos entomopatogênicos em pentatomídeos que atacam o colmo do arroz procedem da Ásia, onde as espécies *Scotinophara lurida* (Burm.) e *S. coarctata* (F.) têm sido significativamente afetadas pelos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Anônimo 1985, Rombach *et al.* 1986). No Brasil, após a constatação da patogenicidade dos dois fungos sobre *T. limbativentris* (Martins *et al.* 1986 e 1987) foi implantado um programa de pesquisa visando encontrar alternativas de controle do inseto através de fungos entomopatogênicos. O objetivo desse trabalho, na fase inicial do programa, foi avaliar a virulência de isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, em laboratório, simulando as condições ambientais de campo consideradas favoráveis ao desenvolvimento do percevejo-do-colmo e aos patógenos.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos de avaliação do efeito de isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre insetos adultos de *T. limbativentris* foram realizados em câmaras climatizadas (tipo Fitotron), no CPACT, em Capão do Leão, RS. Isolados (Tabela 1) foram obtidos da coleção de fungos entomopatogênicos do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF-EMBRAPA), em Goiânia, GO. A produção de esporos, ocorreu no CNPAF, em meio de cultura com batata, dextrose 2%, agar e extrato de levedura 0,4% (BDAY), durante aproximadamente 14 dias, à $27 \pm 1^\circ\text{C}$. A viabilidade de esporos de todos os isolados, na ocasião da instalação dos experimentos, foi no mínimo de 92%. Os insetos adultos usados foram criados livremente em casa de vegetação (6 x 12m), sobre plantas de arroz (em fase de perfilhamento) cultivados em vasos plásticos com capacidade para 8 kg. Os experimentos, foram instalados no delineamento de tratamentos inteiramente casualizados com cinco repetições. As parcelas experimentais (vasos plásticos com 22,5 cm de altura e 18 cm de diâmetro) contendo uma planta de arroz, em fase vegetativa. As plantas foram colhidas no campo de modo a ficar com um cilindro de solo, de 10 cm de altura e 15 cm de diâmetro, junto as raízes. Os colmos foram cortados 15

Tabela 1. Identificação dos isolados (CP) de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*, avaliados quanto à virulência à *Tibraca limbativentris*, em laboratório.

Isolados ¹ (n°)	Espécie	Procedência	Hospedeiro original
CP 024	<i>M. anisopliae</i>	Goianira-Go	<i>Deois flavopicta</i>
CP 122	<i>M. anisopliae</i>	Goiatuba-GO	<i>Scaptocoris castanea</i>
CP 171	<i>M. anisopliae</i>	Goianira-GO	<i>Tibraca limbativentris</i>
CP 172	<i>M. anisopliae</i>	Goianira-GO	<i>Tibraca limbativentris</i>
CP 177	<i>M. anisopliae</i>	Goianira-GO	Hemiptera, Cydnidae ²
CP 036	<i>B. bassiana</i>	Brejo Santo-CE	<i>Aracanthus</i> sp.
CP 053	<i>B. bassiana</i>	Goianira-GO	<i>Deois flavopicta</i>
CP 071	<i>B. bassiana</i>	Goianira-GO	<i>Tibraca limbativentris</i>
CP 147	<i>B. bassiana</i>	Cascavel-PR	<i>Podisus</i> sp.
CP 164	<i>B. bassiana</i>	Chapecó-SC	<i>Nezara viridula</i>
CP RS714	<i>B. bassiana</i>	China	<i>Nilaparvata lugens</i>

¹Material fúngico fornecido pelo laboratório de Patologia de Insetos, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), EMBRAPA.

²Isolado oriundo provavelmente de *Cirtonemus* sp.

em cima do colo das plantas, para facilitar a cobertura dos vasos com tecido telado. O 1º experimento foi instalado em 1988 incluindo os isolados CP 24, 172 e 177 de *M. anisopliae* e CP 36, 53, 71, 147, 164 e RS 714 de *B. bassiana*. Foram colocados 16 insetos (oito casais) por vaso (parcela experimental), contendo uma planta da cultivar BR-IRGA 410. No 2º experimento, em 1989, foram testados os isolados CP 24, 122, 171 e 177 de *M. anisopliae* e CP 71 e 164 de *B. bassiana* sobre dez casais por vaso, juntos a uma planta da cultivar BR-IRGA 414. Em ambos os experimentos, logo após a colocação dos insetos nos vasos, as plantas e os insetos foram pulverizados simultaneamente com 3 ml de suspensão de 5×10^8 esporos/ml, de cada isolado. Para tal, foi utilizado um micropulverizador modelo HS marca Paasche Airbrush Company. As suspensões foram preparadas com água destilada e 0,5% de Tween 80%. Nas parcelas testemunhas foi aplicada apenas uma solução de Tween 80 a 0,5% em água destilada. Os vasos foram mantidos nas câmaras climatizadas ($t = 25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR = $60 \pm 10\%$; fotofase = 13h) sendo o solo constantemente umedecido, até o ponto de saturação, durante todo o período experimental. Observações de mortalidade foram iniciadas aos dois dias após a aplicação dos tratamentos (DAT) e repetidas a intervalos de três a cinco dias. Para confirmação de infecção, os insetos mortos foram colocados em recipientes de vidro, de 5 cm de diâmetro, tampados, cujo fundo foi revestido com papel filtro umedecido por água destilada. Os recipientes permaneceram em estufas incubadoras (tipo B.O.D.) à temperatura de 22°C , até a constatação de crescimento dos fungos nos cadáveres.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças significativas quanto a mortalidade de insetos somente foram detectadas após aos 8 DAT e 7 DAT, no 1º e 2º experimento, respectivamente (Tabelas 2 e 3). No 1º experimento, somente o isolado CP 172 de *M. anisopliae* destacou-se como virulento, ocasionando índices significativamente maiores de mortalidade e de infecção confirmada em *T. limbativentris* (Tabela 2). No 2º experimento, além da comprovação de maior virulência do CP 172, o CP 171 de *M. anisopliae*, proporcionou índice de mortalidade significativamente elevado; o CP 164 de *B. bassiana* que no 1º experimento foi praticamente inócuo, no 2º experimento, apresentou índice satisfatório de virulência (Tabela 3). O fato do CP 172 ter se destacado, em ambos os experimentos, como mais virulento, evidencia a possibilidade de seleção de isolados de fungos entomopatogênicos promissores ("mais específicos") para o controle microbiano de *T. limbativentris*. Tratando-se do CP 172 é importante salientar ainda mais essa possibilidade visto que o material consiste de um isolamento de *M. anisopliae*, a

Tabela 2. Mortalidade e confirmação da infecção de adultos¹ de *Tibraca limbativentris*, submetidos a isolados (CP) de *Metarhizium anisopliae* (MA) e *Beauveria bassiana* (Bb), em laboratório.

Tratamentos	Nº cumulativo de insetos mortos ²						Mort. cumul. insetos ^{2,4} (%)	Insetos infecção confirmada ^{2,5} (%)
	8 DAT ³	12DAT	16DAT	20DAT	23DAT	26DAT		
Testemunha	0a	0a	0a	0a	0a	0a	-	-
Ma CP 024	0a	1ab	1ab	1ab	2b	2b	12ab	9ab
Ma CP 172	1a	4c	7d	9d	11d	12d	74c	48c
Ma CP 177	2a	2a	3c	3c	4c	4c	24b	13b
Bb CP 036	0a	0a	0a	0a	0a	1	6ab	0a
Bb CP 053	0a	0a	0a	0a	1ab	1ab	6ab	4ab
Bb CP 071	1a	1ab	1ab	2bc	2b	2b	12ab	6ab
Bb CP 147	1a	1ab	2bc	2bc	2b	2b	12ab	8ab
Bb CP 164	0a	0a	1ab	1ab	1ab	1ab	6ab	3ab
Bb CP RS714	0a	0a	1ab	1ab	1ab	1ab	6ab	3ab

¹O número inicial = 16.

²Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 10% de probabilidade.

³Dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

⁴Mortalidade cumulativa até 26 DAT, calculada pela fórmula de Abbott (1925).

⁵Porcentagem cumulativa de cadáveres contendo estruturas reprodutivas dos fungos, até 26 DAT.

partir de cadáveres de *T. limbativentris*, quando foi constatada a primeira epizootia do fungo sobre o inseto (Martins *et al.* 1986). Nos dois experimentos, os índices de confirmação de infecção de insetos foram baixos, quando comparados aos índices de mortalidade, mesmo em relação ao isolado CP 172 (Tabelas 2 e 3). Em quaisquer circunstâncias, esse aspecto não é desejável pois, contrapõe-se a uma maior taxa de multiplicação e disseminação dos fungos. É considerado que o crescimento de fungos entomopatogênicos, em insetos mortos, não é efetivo quando esses demoram a morrer e as condições de temperatura e umidade forem desfavoráveis (Hall & Papierok 1982). Como a morte de insetos infectados por fungos entomopatogênicos normalmente ocorre entre quatro e cinco dias após a inoculação (Alves 1986) e, nos dois experimentos, isso somente ocorreu após sete ou 8 DAT (Tabelas 2 e 3), a princípio os fungos teriam demandado um período de tempo além do considerado normal para matar os insetos. Apesar da suposta demora para a morte dos insetos, os baixos índices de confirmação de infecção dificilmente estariam associados a limites inadequados de temperatura no interior das câmaras climatizadas. Nesse ambiente, os insetos foram expostos à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, considerada favorável à reprodução de fungos entomopatogênicos (Alves 1986). Ao contrário, as condições de umidade relativa (UR), ao nível de parcela experimental, poderiam ter dificultado a reprodução dos fungos nos insetos; mesmo que o solo no interior dos vasos tenha sido constantemente umedecido, é possível que a UR, entre os colmos, na base das plantas, onde os insetos se localizam, tenha permanecido em equilíbrio com a UR de $60 \pm 10\%$, mantida no interior da câmara climatizada. Tal amplitude de UR aproxima-se da faixa de 40 a 60%, considerada inadequada à reprodução de *M. anisopliae* sobre insetos, em laboratório (Alves 1986).

A influência de fatores bióticos intrínsecos dos indivíduos de *T. limbativentris* e/ou do material fúngico utilizado não deve ser eliminada como uma das causas dos baixos índices de multiplicação dos fungos entomopatogênicos nos insetos mortos. Independente desse aspecto,

Tabela 3. Mortalidade e confirmação da infecção de adultos¹ de *Tibraca limbativentris* submetidos a isolados (CO) de *Metarhizium anisopliae* (Ma) e *Beauveria bassiana* (Bb), em laboratório.

Tratamentos	Nº cumulativo de insetos mortos ²					Mort. cumul. insetos ^{2,4}	Insetos infecção conf. ^{2,5}
	7 DAT ³	12 DAT	15 DAT	20 DAT	25 DAT	(%)	(%)
Testemunha	1a	1a	2a	2a	3a	-	-
Ma CP 024	1a	4ab	6bc	7b	10bc	40a	26a
Ma CP 122	1a	3a	5c	7d	9b	34ab	25c
Ma CP 171	2a	5b	11d	12cd	16d	75cd	32ab
Ma CP 172	1a	6b	12d	13d	18d	87d	39b
Ma CP 177	1a	4ab	6bc	8b	29ab	23a	26a
Bb CP 071	1a	4ab	6bc	6a	8b	29ab	23a
Bb CP 164	2a	5b	9cd	10c	14cd	63c	38b

¹O número inicial = 20.

²Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

³Dias após a aplicação dos tratamentos (DAT).

⁴Mortalidade cumulativa até 25 DAT, calculada pela fórmula de Abbott (1925).

⁵Porcentagem cumulativa de cadáveres contendo estruturas reprodutivas dos fungos, até 25 DAT.

os resultados dos dois experimentos permitem concluir que o confinamento de insetos adultos de *T. limbativentris*, no interior de baldes plásticos, sobre plantas de arroz, serve para identificar isolados de fungos entomopatogênicos mais virulentos; e que o isolado 172 de *M. anisopliae* é promissor para o controle integrado de *T. limbativentris*, na cultura do arroz irrigado.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPAF pelo fornecimento de material fúngico e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de pesquisa (Processo: 301819/88-2) associada ao trabalho.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S.** 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Alves, S.B.** 1986. Controle microbiano de insetos. São Paulo, Manole, 407 p.
- Anônimo.** 1985. Control and management of rice pests. In: International Rice Research Institute. IRRRI Highlights p. 42-49.
- Costa, E.C. & D. Link** 1992. Dispersão de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) em arroz irrigado. *An. Soc. Entomol. Brasil* 21: 197-202.
- Ferreira, E., J.F. da S. Martins, P.H.N. Rangel & V. dos A. Cutrim.** 1986. Resistência de arroz ao percevejo do colmo. *Pesq. Agropec. Bras.* 21: 565-569.
- Hall, R.A. & B. Papierok,** 1982. Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology* 84: 205-240.
- Martins, J.F. da S., C. Czepack, B.P. Magalhães, E. Ferreira & J.C. Lord.** 1986. Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre *Tibraca limbativentris*, percevejo do colmo do arroz. EMBRAPA-CNPAF, *Pesq. Andam.* 593, 4p.
- Martins, J.F. da S., B.P. Magalhães, J.C. Lord** 1987. Patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre *Tibraca limbativentris*, percevejo do colmo do arroz, p. 188 In Resumo Congresso Brasileiro de Entomologia. 11, Campinas, 563 p.
- Meneses Carbonell, R., G.E. Costa & S.M. Chávez.** 1980. Efectividad de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuellmin y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin en el control de *Lissorhoptrus brevisrostris* (Suffr.) (Coleoptera: Curculionidae). *Centro Agricola* 7: 107-121.
- Rombach, M.C., R.M. Aguda, B.M. Shepard & D.W. Roberts,** 1986. Entomopathogenic fungi in the control of the black bug of rice, *Scotinophara coarctata* (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Invertebr. Pathol.* 48: 174-179.
- Trujillo, M.R.** 1970. Contribuição ao conhecimento do dano e biologia de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) praga da cultura do arroz. Tese de mestrado, ESALQ-USP, Piracicaba, 63p.