

SELEÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS AO ÓLEO DE NIM
PARA O CONTROLE DO PULGÃO *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)
EM COUVE

por

JOSÉ MENEZES DE ARAUJO JÚNIOR

(Sob orientação do Professor Edmilson Jacinto Marques)

RESUMO

O pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) tem-se destacado como praga das brássicas. Entre as medidas de controle de pulgões, o uso de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams, e de extratos de plantas têm sido considerado uma alternativa promissora. Assim, este trabalho objetivou selecionar isolados de fungos entomopatogênicos eficazes e estudar a aplicação de nim formulado para controle de *L. erysimi* e avaliar também, a compatibilidade entre os isolados e o nim. Levantamentos realizados em cultivos de brássicas, no Agreste de Pernambuco, mostraram que *L. erysimi* ocorreu em quatro das cinco localidades investigadas. Foram avaliados 20 isolados de fungos, onde CG001 de *B. bassiana* e CG30 de *M. anisopliae* apresentaram-se como os mais patogênicos causando 90 e 64% de mortalidade, respectivamente. Para a determinação da concentração letal (CL₅₀) foram utilizou-se estes dois isolados e URPE-24 de *L. muscarium*. Os valores para a CL₅₀ foram de $1,6 \times 10^6$, $3,4 \times 10^6$ e $2,5 \times 10^5$ conídios mL⁻¹, para *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. muscarium*, respectivamente. O óleo de nim formulado foi testado em três concentrações (0,5; 1,0 e 2,0%) por imersão foliar e pulverização sobre os pulgões. Em todos os tratamentos observou-se mortalidade superior a 60%, porém o melhor resultado foi obtido com a

pulverização do nim a 2,0% proporcionando mortalidade de 90%. Testando a compatibilidade *in vitro* de CG001 de *B. bassiana* e CG30 de *M. anisopliae* com o Neemseto[®] a 0,125; 0,25 e 0,5%, observou-se que o tratamento a 0,5% afetou apenas a esporulação do isolado CG001 e o crescimento vegetativo e a viabilidade de CG30. Pode-se concluir que os isolados CG001, CG30 e URPE-24 de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. muscarium*, respectivamente, e óleo emulsionável de nim podem ser utilizados para o controle de *L. erysimi*.

PALAVRAS-CHAVE: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium*, inseticida de origem vegetal, compatibilidade

SCREENING OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ASSOCIATED WITH NEEM OIL TO
CONTROL THE APHID *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) ON KALE

by

JOSÉ MENEZES DE ARAUJO JÚNIOR

(Under the Direction of Professor Edmilson Jacinto Marques)

ABSTRACT

The aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae), is considered an important pest of kale in Brazil. Botanical insecticides and the fungi *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., and *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams are promising alternatives to control aphids populations. This work aimed to evaluate isolates of entomopathogenic fungi and toxicity of the neem formulation (Neemseto[®]) to control *L. erysimi*, as well the compatibility of the selected isolates and neem oil. Survey done accros kale areas from five counties of the Agreste region in Pernambuco State resulted in presence of *L. erysimi* in four of them. Among 20 evaluated fungi isolates, the *B. bassiana* CG 001 and *M. anisopliae* CG 30 were the most pathogenic, providing 90 and 64% mortality towards the aphid, respectively. The CL₅₀s for *B. bassiana* CG 001, *M. anisopliae* CG 30, and *L. muscarium* URPE-24 were 1,6x10⁶, 3,4x10⁶ and 2,5x10⁵ conidia mL⁻¹, respectively. Bioassays with the neem formulation at concentrations 0.5, 1.0, and 2.0% were done either by leaf discs dipping or spraying the aphids on the leaf discs. All treatments caused mortality higher than 60 %, however the neem spraying treatment at 2.0% provided 90% mortality. Regarding the compatibility of *B. bassiana* CG001, *M. anisopliae* CG30 isolates with the neem oil formulation at 0.125, 0.25, and 0.5%, the 0.5% treatment did not affect the *B. bassiana* CG 001 viability. Compatibility test conducted with the

isolates CG001 of *B. bassiana* and CG30 of *M. anisopliae* with Neemseto[®] at concentration 0.125, 0.25 and 0.5%, showed that the highest neem concentration caused negative impact on sporulation of the isolate CG001 and on vegetative growth and viability of the isolate CG30. These results show that the isolates *B. bassiana* CG001, *M. anisopliae* CG 30, *L. muscarium* URPE-24, and neem oil may be used to the control of *L. erysimi*.

KEY WORDS: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium*,
botanic insecticides, compatibility

SELEÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS AO ÓLEO DE NIM
PARA O CONTROLE DO PULGÃO *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)
EM COUVE

por

JOSÉ MENEZES DE ARAUJO JÚNIOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2008

SELEÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS AO ÓLEO DE NIM
PARA O CONTROLE DO PULGÃO *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)
EM COUVE

por

JOSÉ MENEZES DE ARAUJO JÚNIOR

Comitê de Orientação:

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

José Vargas de Oliveira – UFRPE

Jorge Braz Torres – UFRPE

RECIFE - PE

Fevereiro – 2008

SELEÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS AO ÓLEO DE NIM
PARA O CONTROLE DO PULGÃO *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE)
EM COUVE

por

JOSÉ MENEZES DE ARAUJO JÚNIOR

Orientador:

Edmilson Jacinto Marques - UFRPE

Examinadores:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Auristela Correia de Albuquerque - UFRPE

Rachel Gonçalves Ferreira – IPA/PE

Aos meus pais Julieta e Menezes,
pela educação, exemplo de honestidade e integridade,
incentivo e apoio, não só no período acadêmico,
mas em todos os momentos da minha vida;
e a Deus, por ter me dado força e determinação
para chegar ao fim dessa jornada.

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao amigo, consolador e salvador Jesus Cristo, pela proteção, força e coragem nas horas de dificuldade impulsionando-me a alcançar meus objetivos;

Aos meus pais, pelo exemplo de luta, honestidade e perseverança, além dos sacrifícios feitos pelos meus estudos;

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade para realização do curso de Mestrado;

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo concedimento de bolsas no primeiro e segundo ano de curso, respectivamente;

Ao professor Edmilson Jacinto Marques, pela orientação, ajuda e amizade durante o desenvolvimento dos experimentos desse trabalho;

Aos professores José Vargas de Oliveira e Jorge Torres, pela valiosa co-orientação, disponibilizando-me conhecimento;

À Dra. Rachel Gonçalves Ferreira e o Professor Sérgio Batista Alves, pela ajuda concedida em etapas distintas deste trabalho;

Ao professor Herbert Siqueira, pela ajuda na elaboração dos “abstracts” desse trabalho;

À irmã de coração Cinthia Matias, pela certeza de que ainda existem amizades verdadeiras e eternas;

À grande amiga Lauricí Pires, pelo companheirismo e ajuda na elaboração dos experimentos;

Aos amigos de turma, em especial a Roberta Coelho, Alberto Belo e Shenia Santos pelas horas de alegria;

Aos amigos conquistados: Suêrda Ferreira, Adelmo, Wellington, Rodrigo, Hugo Gonçalves, Hugo Zago, Andréa, Franklin, Cléo, Esmeralda, Alexandre, Eliana e outros;

A Darcy e Romildo, pela presteza excepcional em serviços do Curso de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola;

Aos demais professores do programa de Entomologia Agrícola do curso de Pós-Graduação, em especial aos das disciplinas cursadas.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	08
2 OCORRÊNCIA DE <i>Lipaphis erysimi</i> (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E DO FUNGO <i>Lecanicillium muscarium</i> (PETCH) ZARE & GAMS EM COUVE NO ESTADO DE PERNAMBUCO	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
LITERATURA CITADA.....	23
3 POTENCIAL DE ISOLADOS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> (METSCH.) SOROK. E <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL. NO CONTROLE DO PULGÃO <i>Lipaphis erysimi</i> (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E COMPATIBILIDADE COM O ÓLEO DE NIM	29
RESUMO	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO	32

MATERIAL E MÉTODOS	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
AGRADECIMENTOS.....	43
LITERATURA CITADA.....	44

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

As Brássicas são cultivadas em todo o mundo destacando-se na horticultura brasileira. Em Pernambuco, é cultivada em várias regiões do Agreste do estado. Por serem de ciclo relativamente curto e requererem intensiva mão-de-obra, as brássicas possuem papel importante também na fixação do homem no campo através da agricultura familiar. Além disso, várias espécies de brássicas possuem produção contínua permitindo a realização de inúmeras colheitas, a exemplo de couve *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C. gerando renda e, conseqüentemente, sustentabilidade da propriedade (Filgueira 2003, Almeida 2006).

A couve, *B. oleracea* var. *acephala*, é cultivada mundialmente, sendo originária da costa norte mediterrânea na Europa e Ásia menor. Destaca-se entre as plantas hortícolas como um dos alimentos mais importantes na nutrição humana, por ser rica em ferro, cálcio, vitamina A e ácido ascórbico (Franco 1960). No Brasil couves de folhas lisas são bastante cultivadas, sendo que em Minas Gerais, o maior estado produtor, normalmente propaga-se vegetativamente antigos clones verde-claros, com nervuras da mesma cor e plantas de menor porte (Filgueira 2003).

Apesar da diversidade de sistemas de cultivo de brássicas, as lavouras são altamente infestadas por pragas, dentre elas os pulgões, destacando-se as espécies *Brevicoryne brassicae* (L.), *Myzus persicae* (Sulz.) e, mais recentemente, a espécie *Lipaphis erysimi* (Kalt.). Materiais recebidos para identificação de diferentes regiões de Pernambuco têm demonstrado essa ser uma espécie freqüente e, possivelmente, vem sendo confundido com as duas primeiras espécies. O pulgão *L. erysimi* foi registrado recentemente para o Estado de Pernambuco compondo o complexo de pulgões das brássicas. Portanto, são poucos os estudos de distribuição e de controle

(Araujo Júnior *et al.* 2007). Esta espécie possui distribuição mundial, atacando as partes terminais de talos e inflorescências de várias espécies de brássicas, causando encarquilhamento e amarelecimento das plantas, além de atuar como vetor de mais de 10 viroses, incluindo aqueles responsáveis pelo anel negro da couve e mosaicos da couve-flor, rabanete e do nabo (Pena-Martinez 1992).

O pulgão-do-nabo, como é conhecido *L. erysimi*, pode ser encontrado em grande número na face inferior de folhas ou nas inflorescências (Blackman & Eastop 1984). Em severas infestações, são encontrados em ambas as faces das folhas (Yadav *et al.* 1988). Em repolho, podem afetar o tamanho das folhas e a formação da cabeça, além da redução na produção (Jagan Mohan *et al.* 1981). Já em mostarda, estes afídeos preferem flores a folhas (Singh *et al.* 1965).

L. erysimi apresenta quatro instares ninfais. A aparência geral de cada fase é semelhant, com exceção do aumento em tamanho durante os instares subseqüentes. O primeiro, segundo, terceiro e quarto instares ninfais duram cerca de 1-2, 2, 2, e 3 dias, respectivamente (Sachan & Bansal 1975).

Os adultos ápteros são de coloração verde-acinzentado. Os adultos alados apresentam o abdome verde escuro e tórax verde claro. As fêmeas da forma áptera medem de 1,2 a 2,4 mm de comprimento e as da forma alada, 1,4 a 2,2 mm (Blackman & Eastop 1984). Os pulgões machos apresentam geralmente coloração verde-azeitona, são consideravelmente menores que as fêmeas medindo, aproximadamente, 1,20 a 1,35 mm de comprimento (Kawada & Murai 1979). Em condições de 25°C, as fêmeas adultas de *L. erysimi* continuam produzindo durante um período de até 33 dias, sendo a duração total da fase de adulto de 32 a 34 dias. Uma fêmea adulta áptera produz cerca de 50 ninfas durante todo seu ciclo de vida, com uma fecundidade média diária de 2,5 ninfas, enquanto as aladas produzem de 31 a 40 ninfas (Sachan & Bansal 1975, Godoy & Cividanes 2002).

Atualmente as práticas recomendadas para o controle de pulgões das brássicas, ainda, se baseiam no uso de inseticidas e alguns produtos de receituário alternativo. Entre os inseticidas registrados para o controle do pulgão-da-couve *B. brassicae* e do pulgão-verde *M. persicae* em couve, estão Acefato (Orthene 750 BR), Acefato Fersol 750 PS, Malathion 500 e 1000 CE, Actara 250 WG (Thiamethoxam) (Andrei 2005), não havendo produtos registrados para a espécie *L. erysimi*.

Entretanto, alguns autores testaram a eficiência de inseticidas sobre essa espécie de pulgão, como Jagan Mohan *et al.* (1981) e Krishnaiah e Jagan Mohan (1977), demonstraram que com metamidophos, quinalphos, endosulfan e pirimicarbe, foram significativamente eficazes contra esse afídeo em repolho.

O uso indiscriminado de produtos químicos para controle dos pulgões *B. brassicae*, *M. persicae* e *L. erysimi* em couve, tem causado diversos problemas, dentre eles pode-se citar a resistência dos mesmos a esses produtos, principalmente levando-se em consideração a alta capacidade reprodutiva desses insetos que podem desenvolver até 45 gerações por ano, exigindo um aumento crescente na concentração e do número de aplicações. Esse fato concorre para a contaminação das águas, do solo, das plantas, do homem, além de atingir microrganismos e inimigos naturais que fazem parte do agroecossistema. Esses problemas têm reforçado a necessidade da adoção de um manejo mais racional e entre as práticas preconizadas pode-se destacar a utilização do controle biológico (Zheng *et al.* 1997, Robbs & Bittencourt 1998, Alves *et al.* 2001).

Atualmente, o uso do controle biológico vem assumindo importância dentro de programas de manejo integrado de pragas, num momento em que se discute a produção integrada rumo a uma agricultura sustentável (Parra *et al.* 2002). Para Vendramim (2002), o sistema mais adequado para o controle de pragas baseia-se no manejo integrado com a utilização de diferentes técnicas

harmoniosamente, em consonância com princípios ecológicos, econômicos e sociais com o objetivo de manter os organismos-praga abaixo do nível de dano econômico.

O incremento do controle biológico por agentes de ocorrência natural tais como o parasitóide *Diaeretiella rapae* (McIntoch) (Hymenoptera: Braconidae), os predadores *Coleomegilla maculata* (DeGeer) e *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) e os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metschin) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams se apresentam como uma forma ideal de manejo sustentável de pragas (Alves 1998, Feng *et al.* 1990, Isikber & Copland 2002, Zhang & Hassan 2003, Araujo Júnior *et al.* 2007).

Fungos entomopatogênicos são patógenos de largo espectro de insetos, os quais utilizam um grande número de hospedeiros e em diferentes estágios de desenvolvimento, incluindo pragas das brássicas tais como: pulgões (Butt *et al.* 1994, Xu & Feng 2002), traça-das-crucíferas (Masuda 2000, Silva *et al.* 2003) e mosca branca (Faria & Wraight 2001). Também, devido à ação natural e/ou através de aplicações inundativas ou inoculativas, se constituem como uma alternativa para a redução populacional de pragas das brássicas (Butt *et al.* 1994, Faria & Wraight 2001).

No Brasil há, atualmente, inúmeras pesquisas sobre o potencial inseticida de algumas plantas nativas. Investigações sobre a utilização de extratos da pimenta-do-reino *Piper nigrum* sobre larvas de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* Say, vetor da filariose bancroftiana (Chadad & Boff 1994). A mamona, *Ricinus communis* L., demonstrou ser eficiente no combate a formigas cortadeiras em testes feitos por Hebling (1996). Os ingredientes ativos contidos nas folhas de *Eucalyptus citriodora* e outras espécies do gênero se mostraram promissores para o controle tanto de pragas de grãos armazenados quanto de formigas cortadeiras do gênero *Atta* (Nakano & Cortez 1967, Anjos & Santana 1994). O nim indiano *Azadirachta indica* A. Juss vem sendo utilizado no controle de um grande número de pragas em todo o mundo.

Produtos derivados do nim têm vantagem de ser praticamente não tóxicos ao homem e serem rapidamente degradados no solo e nas plantas (Isman 2006). Com relação aos inimigos naturais, os efeitos são variáveis, mas, de maneira geral, são menos suscetíveis ao nim do que os insetos fitófagos, devido, principalmente, ao modo de ação do nim (Schmutterer 1997, Akol *et al.* 2002). Nesse contexto, uma das alternativas para controle de várias pragas é o uso do nim *Azadirachta indica* (Meliaceae) formulado ou extratos de folhas e sementes. Atualmente é o inseticida de origem botânica mais estudado e utilizado em inúmeras culturas (Dev 1997, Charleston *et al.* 2005). Além disso, é considerado um dos mais promissores inseticidas naturais para uso em produção orgânica, devido sua amplitude inseticida e baixo impacto relativo aos inimigos naturais (Leskovar & Boales 1996). Cerca de 300 espécies de insetos, pertencente às ordens Hemiptera, Orthoptera, Coleoptera, Lepidoptera, Isoptera e Hymenoptera são afetadas pela azadiractina. Para os insetos, essa substância tem efeito repelente, regulador de crescimento e antialimentar, agindo por contato ou ingestão (Martinez 2002).

Atualmente, são conhecidos diversos resultados da ação de inseticidas a base de nim, incluindo efeito no desenvolvimento como regulador de crescimento (Mordue & Blackwell 1993), repelência para adultos (Charleston *et al.* 2005), efeito deterrente alimentar e contato direto sobre o tegumento para sugadores (Schmutterer 1990, Ascher 1993). Recentemente, foram apresentados resultados de potencial do uso de forma sistêmica quando absorvido via sistema radicular das plantas (Pavela *et al.* 2004, Kumar *et al.* 2005). Estudos mostraram que tanto populações resistentes como suscetíveis de mosca branca aos inseticidas convencionais são controladas com o nim (Basedow *et al.* 2002, Kumar *et al.* 2005).

O efeito sistêmico da torta, extratos da semente de nim e de formulações à base de azadiractina, aplicados ao solo para o controle de pragas foi relatado por Naumann *et al.* (1994), Gonçalves *et al.* (2003) e Souza (2004). Vários são os trabalhos que viabilizam o uso do extrato

de nim para o controle de pulgões. Por exemplo, Santos *et al.* (2004) apresentaram como resultados da aplicação do extrato aquoso das sementes de nim sobre o pulgão do algodoeiro *Aphis gossypii*, uma mortalidade ninfal de até 100% e redução da fecundidade dos adultos. Gonçalves e Bleicher (2006) registraram eficiência de 83,81% no uso de extrato de nim via sistema radicular sobre o pulgão-preto *Aphis craccivora* em plantas de feijão-de-corda.

O emprego de substâncias extraídas de plantas silvestres, na qualidade de inseticidas, tem inúmeras vantagens quando comparado ao emprego de sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos de recursos renováveis e são rapidamente degradáveis; o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias - compostas da associação de vários princípios ativos - é um processo lento; esses inseticidas são de fácil acesso e obtenção por agricultores e não deixam resíduos em alimentos, além de apresentarem baixo custo de produção (Roel 2001).

A ação dos produtos fitossanitários sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das concentrações utilizadas. Estes produtos podem atuar inibindo o crescimento vegetativo, a conidiogênese e a esporulação dos microrganismos, e até causar mutações genéticas, fatores que podem levar a diminuição da virulência à determinada praga (Alves *et al.* 1998).

Efeitos negativos do óleo de nim em concentrações de 5% ou maiores, sobre a produção de conídios de *M. anisopliae*, foram verificados em laboratório por Aguda *et al.* (1986). Entretanto, estes autores enfatizaram que devem ser consideradas as concentrações em que o óleo de nim é aplicado em casa telada ou campo variando de 0,5 a 2%. Stathers *et al.* (1993) estudaram o efeito de vários óleos de origem vegetal no armazenamento de conídios de *M. flavoviridae*, e encontraram que, com exceção do óleo de soja, todos os óleos vegetais avaliados reduziram a viabilidade dos conídios para menos de 40%, após quatro semanas.

Depieri *et al.* (2005) avaliando uma formulação comercial de óleo emulsionável de nim (0,5; 1 e 1,5%), do extrato aquoso de sementes (1; 2 e 4%) e do extrato aquoso de folhas de nim (0,15; 1,5 e 15%) com o fungo *B. bassiana*, encontraram que os extratos de sementes e de folhas mostraram-se menos prejudiciais a *B. bassiana* que o óleo emulsionável. Esse produto, nas concentrações testadas, não foi compatível com *B. bassiana*, inibindo, significativamente, o crescimento vegetativo e reduzindo a produção e a viabilidade dos conídios com efeitos mais acentuados nas concentrações mais altas.

Marques *et al.* (2004), observaram que o óleo de nim contendo 1.200 ppm de azadiractina utilizado nas concentrações de 0,0097 a 5% reduziu o crescimento e a esporulação de colônias de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces farinosus* Brown & Smith, contudo, não se verificou efeito do óleo na viabilidade de conídios em todas as concentrações.

Devido ao consumo principalmente in natura dos produtos hortícolas, toda alternativa que vise a um controle mais racional de pragas, certamente culminará por favorecer o agroecossistema evitando as conseqüências negativas do controle convencional. Assim, novas opções com produtos biológicos e botânicos que venham adicionar ou substituir, em parte, os inseticidas sintéticos, diretamente reduzirá custos, e indiretamente minimizará a contaminação ambiental.

A busca por práticas que visem à melhoria da qualidade de produtos alimentares, além de garantir saúde ao homem, vem acompanhada de reflexos positivos do ponto de vista social, ambiental e econômico, uma vez que tais práticas minimizam e/ou eliminam a presença de resíduos nos alimentos, poluição das águas, solo e do ar. Buscando um meio alternativo de controle para o pulgão *L. erysimi*, o presente trabalho teve como objetivo selecionar isolados de fungos entomopatogênicos eficazes e estudar a aplicação de nim formulado para o controle do pulgão, avaliando também a compatibilidade entre inseticida botânico a base de nim e os isolados dos fungos selecionados.

Literatura Citada

- Aguda, R.M., M.C. Rombach & B.M. Shepard. 1986.** Effect of nim oil on germination and sporulation of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*. Int. Rice Res. New 11: 34-35.
- Almeida, D.P.F. 2006.** Manual de culturas hortícolas, editorial Presença, Lisboa, 346 p.
- Alves, S.B. 1998.** Fungos Entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves, Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, FEALQ, 1163 p.
- Alves, S.B., A. Moino Júnior & J.E.M. Almeida. 1998.** Produtos fitossanitários e entomopatogênicos, p. 217-238. In Alves, S.B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, FEALQ, 1163 p.
- Alves, S.B., M.B. Medeiros, M.A. Tamai & R.B. Lopes. 2001.** Trofobiose e microrganismos na proteção de plantas. Biotec. Cien. Desenv. 21: 16-21.
- Andrei, E. 2005.** Compêndio de defensivos agrícolas. 7a ed., São Paulo, Andrei, 1144 p.
- Anjos, N. & D.L.Q. Santana. 1994.** Alterações deletérias no comportamento de *Atta laevigata* (F. Smith) e *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae), causadas por folhas de *Eucalyptus* spp. An. Soc. Entomol. Bras. 23: 25-30.
- Akol, A.M., S. Sithanatham, P.G.N. Njagi, A. Varela & J.M. Mueke. 2002.** Relative safety of sprays of two neem insecticides to *Diadegma mollipla* (Holmgren), a parasitoid of the diamondback moth: effects on adult longevity and foraging behavior. Crop Prot. 21: 853-859.
- Araujo Júnior, J.M., E.J. Marques, L.M. Pires, C.C.M. Silva e R.B. Rocha. 2007.** Ocorrência de *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams no pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em couve no Estado de Pernambuco. Anais da VII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX), UFRPE, Recife – PE (CD-Room).

- Ascher, K.R.S. 1993.** Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the Neem tree, *Azadirachta indica*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 22: 433-449.
- Basedow, T., H.R. Ossiewatsch, J.A.B. Vega, S. Kollmann, H.A.F. El Shafie & C.M.Y. Nicol. 2002.** Control of aphids and whiteflies (Homoptera: Aphididae and Aleyrodidae) with different neem preparations in laboratory, greenhouse and field: effects and limitations. J. Pl. Dis. Prot. 109: 612-623.
- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 1984.** Aphids on the world's crops: an identification and information guide. New York, John Wiley and Sons, 466p.
- Butt, T.M., L. Ibrahim, B.V. Ball & S.J. Clark. 1994.** Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. Pest Manage. Sci. 4: 207-214.
- Chadad, S. & M.I.C. Boff. 1994.** Efeito de extratos de pimenta preta sobre larvas de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). An. Soc. Entomol. Bras. 23: 13-18.
- Charleston, D.S., R. Kfir, L.E.M. Vet & M. Dicke. 2005.** Behavioural responses of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. Bull. Entomol. Res. 95: 457-465.
- Depieri, R.A., S.S. Martinez & A.O. Menezes Júnior. 2005.** Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. Neotrop. Entomol. 34: 601-606.
- Dev, S. 1997.** Insecticides of natural origin. Amsterdam, Harwood Academic Publ., 352p.
- Faria, M. & S.P. Wraight. 2001.** Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop Prot. 20: 767-778.

- Feng, M.G., J.B.Johnson & L.P.Kish. 1990.** Virulence of *Verticilium lecanii* and aphid-derived isolante of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) for species of cereal infesting aphids (Homoptera; Aphididae). Environ. Entomol. 19: 815-820.
- Filgueira, F.A.R. 2003.** Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, Editora UFV, 412 p.
- Franco, G. 1960.** Tabela de composição química de alimentos. 3 ed., Rio de Janeiro, Serviço de Alimentação da Previdência Social, 194p.
- Gonçalves, M.E.C & Bleicher, E. 2006.** Atividade sistêmica de azadiractina e extratos aquosos de sementes de nim sobre o pulgão-preto em feijão-de-corda. Rev. Ciênc. Agron. 37: 177-181.
- Gonçalves, M.E.C., E. Bleicher, & L.D. Silva. 2003.** Atividade sistêmica do nim sobre a mosca-branca em meloeiro. Hortic. Bras. 21: 4.
- Godoy, K.B. & F.J. Cividanes. 2002.** Tabelas de esperança de vida e fertilidade para *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório e campo. Neotrop. Entomol. 31: 041-048
- Hebling, M.J.A. 1996.** Toxic effect of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) to laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). Bull. Entomol. Res. 86: 253-256.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45-66.
- Isikber, A.A. & M.J.W. Copland. 2002.** Effects of various aphid foods on *Cycloneda sanguinea*. Entomol. Exp. Appl. 102:93-97.
- Jagan Mohan, N., K. Krishnaiah & N.K. Krishna Kumar. 1981.** Chemical control os mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) and leaf webber, *Crocidolomia binotalis* Zell on cabbage. Pesticides 15: 29-32.
- Kawada, K. & T. Murai. 1979.** Short Communication. Entomol. Exp. Appl. 26: 343-345.

- Kumar, P., H.M. Poehling & C. Borgemeister. 2005.** Effects of different application methods of azadirachtin against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius (Hom., Aleyrodidae) on tomato plants. *J. Appl. Entomol.* 129: 489-497.
- Krishnaiah, K. & N. Jagan Mohan. 1977.** Control of cabbage pests by new insecticides, Presented at the Second Oriental Entomology Symposium, Loyola College, Madras. Abstracts of papers: 88-89.
- Leskovar, D.I. & A.K. Boales. 1996.** Azadirachtin. Potential use for controlling lepidopterous insects and increasing marketability of cabbage. *Hortic. Sci.* 31: 405-409.
- Marques, R.P., A.C. Monteiro & G.T. Pereira. 2004.** Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). *Rev. Centr. Ciênc. Rural* 34: 1675-1680.
- Martinez, S.S. 2002.** O nim *Azadirachta indica* – natureza, usos múltiplos e produção. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 142 p.
- Masuda, T. 2000.** Microbial control of diamondback moth, *Plutella xylostella*, by an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. II. Effects of temperature on mycoses and conidial invasion time. *J. Appl. Entomol. Zool.* 44: 177-182.
- Mordue, A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* 39: 903-924.
- Nakano, O. & J. Cortez. 1967.** Ensaio de controle às pragas do milho armazenado, com óleo de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker) e sua eficiência comparada ao malathion. *Rev. Agric.* 42: 95-98.
- Naumann, K., L.J. Rankin & M.B. Isman. 1994.** Systemic action of neem seed extract on mountain pine beetle (Coleoptera: Scolytidae) in lodgepole pine. *J. Econ. Entomol.* 87: 1580-1585.

- Parra, J.R.P., P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira, J.M.S. Bento. 2002.** Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo, Ed. Manole, 635p.
- Pavela, R., M. Barnett & F. Kocourek. 2004.** Effect of azadirachtin applied systemically through roots of plants on the mortality, development and fecundity of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Phytoparasitica* 32: 286-294.
- Peña-Martinez, R. 1992.** Afidos como vectores de virus en México. Montecillo, Centro de Fitopatologia, 135 p.
- Robbs, C.F. & A.M. Bittencourt. 1998.** Controle biológico de insetos: O controle biológico de insetos nocivos à agricultura com o emprego de fungos imperfeitos ou hifomicetos. *Biotec. Cien. Desenv.* 6:10-12.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização e plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Int. Des. Local* 1: 43-50.
- Sachan, J.N. & O.P. Bansal. 1975.** Influence of different host plants on the biology of mustard aphid, *Lipaphis erysimi* Kalt. *Indian J. Entomol.* 37: 420-424.
- Santos, T.M., N.P. Costa, A.L. Torres & A.L. Boiça Júnior. 2004.** Effect of nim extract on the cotton aphid. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 39: 1071-1076.
- Schmutterer, H. 1990.** Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- Schmutterer, H. 1997.** Side effects of neem (*Azadirachata indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. *J. Appl. Entomol.* 121: 121-128.
- Silva, A.C.A., R. Barros, E.J. Marques & J.B. Torres. 2003.** Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotrop. Entomol.* 32: 653-658.

- Singh, S.R., A. Narain, K.P. Srivastava & J.A. Siddiqui. 1965.** Fecundity of mustard aphid of different rapeseeds and mustard species. *Indian Oilseeds J.* 9: 215-219.
- Souza, A. P. 2004.** Atividade inseticida e modos de ação de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn. 1889) biotipo B. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 101p.
- Stathers, T.E., D. Moore & C. Prior. 1993.** The effect of different temperatures on the viability of *Metarhizium flavoviridae* conidia stored in vegetable and mineral oils. *J. Invertebr. Pathol.* 62: 111-115.
- Vendramim, J.D. 2002.** O controle biológico e a resistência de plantas, p. 511-528. In: J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira, J.M.S. Bento. 2002. Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo, Ed. Manole, 635p.
- Xu, J.H. & M.G. Feng. 2002.** *Pandora delphacis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) infection affects the fecundity and population dynamics of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) at varying regimes of temperature and relative humidity in the laboratory. *Biol. Control* 25: 85-91.
- Yadav, P.R., L.S. Yadav & S.S. Dashad. 1988.** Comparative efficacy of some insecticides against the aphid, *Lipaphis erysimi* Kalt. on cabbage crop. *Indian J. Entomol.* 50: 61-68.
- Zhang, W.Q. & S.A. Hassan. 2003.** Use of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntoch) to control the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). *J. Appl. Entomol.* 127:522–526.
- Zheng, B.Z., X.W. Gao, G.Y. Zhao & B.J. Cao. 1997.** Insecticide resistance in turnip aphids, *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach), from Beijing and suburbs. *Resis. Pestic. Manage.* 9: 27-28.

CAPÍTULO 2

OCORRÊNCIA DE *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E DO FUNGO *Lecanicillium muscarium* (PETCH.) ZARE & GAMS EM COUVE NO ESTADO DE PERNAMBUCO

JOSÉ M. ARAUJO JÚNIOR¹, EDMILSON J. MARQUES¹, SÉRGIO B. ALVES² E RACHEL G. FERREIRA³

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

²Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Piracicaba, SP.

³Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Recife, PE.

¹Araujo Junior, J.M., E.J. Marques, S.B. Alves & R.G. Ferreira. Ocorrência de *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) e do fungo *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams em couve no Estado de Pernambuco. Neotropical Entomology.

RESUMO – As Brássicas estão entre as principais culturas hortícolas a nível mundial, a avaliar pela área, volume de produção e pelo consumo, porém sua produtividade pode ser reduzida pela presença de vários insetos-praga e, dentre eles destacam-se os pulgões, com as espécies *Brevicoryne brassicae* L., *Myzus persicae* (Sulzer) e *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae). A espécie *L. erysimi* possui distribuição mundial, atacando as partes terminais de talos e inflorescências de várias espécies de Brássicas, causando encarquilhamento e amarelecimento das plantas, além de atuar como vetor viroses. Resultados do levantamento populacional de *L. erysimi* em Pernambuco mostraram que esse afídeo destacou-se como a espécie mais comum, tendo sua ocorrência registrada em quatro das cinco localidades investigadas. No campo da UFRPE em Recife, registrou-se a presença do fungo *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams, colonizando ninfas e adultos do pulgão *L. erysimi*, promovendo redução considerável da infestação da praga. Para determinação da concentração letal (CL₅₀) do isolado URPE-24 de *L. muscarium* utilizou-se suspensões nas concentrações de 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ e 10⁷ conídios mL⁻¹, obtendo-se um valor de 2,5 x 10⁵ conídios mL⁻¹.

PALAVRAS-CHAVE: Levantamento populacional, pulgão, entomopatógeno, crucíferas

SURVEY OF *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) AND THE FUNGUS
Lecanicillium muscarium (PETCH.) ZARE & GAMS ON KALE IN THE PERNAMBUCO
STATE, BRAZIL

ABSTRACT - The crucifers are among the major horticulture crops in the world regarding the area, production and consume volume. However, their yields can be reduced by insect pests such as the aphid species *Brevicoryne brassicae* L., *Myzus persicae* (Sulzer), and *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae). The turnip aphid, *L. erysimi*, is a worldwide species, which attacks terminal buds and inflorescence of several species of crucifers. Also, it causes yellowing and curling of the leaves and transmits viruses to plants. Population surveys of *L. erysimi* in the Pernambuco State showed that this aphid as the commonest species with its occurrence recorded within four out of five visited regions. Additionally, the fungus *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams was observed colonizing nymphs and adults of the *L. erysimi* aphid within an area of crucifers at the UFRPE Recife campus. It caused a considerable reduction of the aphid infestation. To determine the lethal concentration (LC₅₀) of *L. muscarium* URPE-24 isolate, it was used the following dilutions 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶, and 10⁷ conidia mL⁻¹, and the LC₅₀ was 2.5 x 10⁵ conidia mL⁻¹.

KEY-WORDS: Population surveys, aphid, entomopathogen, crucifers

Introdução

A família *Brassicaceae*, também designada por *Cruciferae*, compreende mais de 300 gêneros e 300 espécies. São cosmopolitas, particularmente abundantes nas regiões do Mediterrâneo, sudoeste da Ásia, Ásia Central e costa ocidental da América do Norte. As Brássicas estão entre as principais culturas hortícolas a nível mundial, a avaliar pela área, volume de produção e pelo consumo, porém sua produtividade pode ser reduzida pela presença de vários insetos-praga e, dentre eles destacam-se os pulgões. As espécies *Brevicoryne brassicae* L., *Myzus persicae* (Sulzer) e *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae), são pragas bastante freqüentes causando apreciáveis danos a essas culturas (Sousa-Silva & Ilharco 1995, Blackman & Eastop 2000, Almeida 2006, Araujo Júnior *et al.* 2007).

O pulgão *L. erysimi* possui distribuição mundial, atacando as partes terminais de talos e inflorescências de várias espécies de Brássicas, causando encarquilhamento e amarelecimento das plantas, além de atuar como vetor de mais de 10 viroses, incluindo aqueles responsáveis pelo anel negro da couve e mosaicos da couve-flor, rabanete e do nabo (Pena-Martinez 1992).

O pulgão-do-nabo, como é conhecido *L. erysimi*, pode ser encontrado em grande número na face inferior de folhas ou nas inflorescências (Blackman & Eastop 1984). Em severas infestações, são encontrados em ambas as faces das folhas (Yadav *et al.* 1988). Em repolho, podem afetar o tamanho das folhas e a formação da cabeça, além do rendimento, ou seja, redução na produção (Jagan Mohan *et al.* 1981). Já em mostarda, estes afídeos preferem flores a folhas (Singh *et al.* 1965).

O fungo do gênero *Lecanicillium* (= *Verticillium*) é habitualmente encontrado parasitando naturalmente populações de afídeos (Milner 1997). Isolados de *Lecanicillium* demonstram alta patogenicidade para várias espécies de pulgões, tal como *A. gossypii*, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) e *M. persicae* (Askary *et al.* 1998, Alavo *et al.* 2001). Três espécies do fungo

Lecanicillium foram testadas sobre os pulgões *M. persicae*, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) e *Aulacorthum solani* (Kalt.), obtendo valores de mortalidade próximos a 100% sobre as espécies avaliadas (Kim *et al.* 2007).

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivos realizar um levantamento populacional da espécie *L. erysimi* em diferentes localidades com cultivo de Brássicas no estado de Pernambuco; registrar a ocorrência do fungo *L. muscarium* (Petch) Zare & Gams sobre o pulgão *L. erysimi*; e realizar a determinação da concentração letal (CL₅₀) do isolado URPE-24 de *L. muscarium* sobre o pulgão.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e foram realizadas coletas em propriedades nos municípios de Chã Grande, Sairé, Camocim de São Félix, Pombos e Recife.

Ocorrência e distribuição da espécie *L. erysimi* em áreas com brássicas em Pernambuco.

Foram efetuados coletas nas regiões produtoras de brássicas de Chã Grande (8° 15' 27,6" S; 35° 30' 17,6" W e 450m de elevação), Camocim de São Félix (8° 20' 40,1" S; 35° 45' 30,7" W e 537m de elevação), Sairé (8° 20' 14,1" S; 35° 43' 28,1" W e 687m de elevação), Pombos (8° 11' 39,2" S; 35° 22' 3,9" W e 394m de elevação) e Recife (8° 01' 00,0" S; 34° 56' 42,0" W e 22m de elevação) do Estado de Pernambuco, em plantios de couve, repolho e couve-flor para verificação da participação da espécie *L. erysimi* no complexo pulgão. Os locais visitados, geralmente pequenas propriedades voltadas à agricultura familiar, tiveram as coordenadas geográficas marcadas com GPS. Foram inspecionadas 10 plantas ao acaso por localidade e coletada uma folha infestada por planta. As amostras de folhas foram colocadas em sacos plásticos perfurados e

levadas ao Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE para quantificação e identificação das espécies dos pulgões.

As avaliações para determinação da porcentagem de infestação do pulgão *L. erysimi*, foi realizada em laboratório, onde foram quantificados e identificados 20 pulgões ápteros adultos por amostra. A identificação dos pulgões foi realizada, através de lâminas, com a ajuda da Dra. Rachel Gonçalves Ferreira da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA, Recife-PE.

Ocorrência de *L. muscarium* parasitando *L. erysimi*. Amostragens foram realizadas em plantas de couve no campo do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em Recife-PE, através da coleta de folhas infestadas de plantas de couve *B. oleraceae* var. *acephala*, sendo levadas posteriormente ao Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE para isolamento do fungo e posterior identificação.

Os insetos infectados foram desinfestados externamente com álcool 70%, hipoclorito a 30% e água destilada estéril. Em seguida, foram colocados em câmaras úmidas em B.O.D. a $26 \pm 1^\circ$ C, $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. Após a extrusão do patógeno, foram feitos isolamentos em meio de cultura MC, constituído de extrato de levedura, glucose, sais minerais, ágar e água destilada, sendo o material mantido nas mesmas condições, até a obtenção de uma cultura pura do fungo para identificação. Posteriormente, o fungo foi enviado ao professor Sérgio Batista Alves da ESALQ/USP para identificação da espécie.

Criação dos pulgões, obtenção e multiplicação do fungo. Para realização dos experimentos necessitou-se de uma metodologia de criação do pulgão, onde os mesmos foram coletados na horta da UFRPE e criados sobre plantas de couve-folha *B. oleraceae* var. *acephala*, plantadas em bandejas de isopor (sementes). Após 60 dias essas plantas foram transplantadas para o campo, sendo infestadas naturalmente pelos pulgões. De acordo com a necessidade de indivíduos para

elaboração dos trabalhos de laboratório, colônias identificadas foram mantidas em casa-de-vegetação em plantas de couve-folha em vasos plásticos de 1000mL com mistura de solo mais esterco (2:1), sendo colocadas em gaiolas cobertas com tecido organza, evitando assim, a fuga dos pulgões e possíveis parasitóides e/ou predadores.

Após devida identificação, realizada pelo professor Sérgio Batista Alves (ESALQ/USP), o isolado investigado de *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *muscarium*, foi mantido na micoteca do Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE, à temperatura de 6 ± 2 °C em tubos de vidro com sílica gel contendo esporos do fungo.

Determinação da concentração letal (CL₅₀) do isolado URPE-24. Para sua utilização nos experimentos, foi repicado para placas de Petri, com auxílio de uma pinça, contendo BDA+A (estreptomicina). Após sete dias foi multiplicado em placas contendo meio MC. Para a germinação e crescimento do isolado, as placas foram mantidas em estufa incubadora B.O.D. a 26 ± 1 °C, com fotofase de 12h. Obtidas as placas cheias, foi preparada a suspensão fúngica, adicionando-se 10mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween 80[®] (0,1%), sendo removidos os conídios do fungo com auxílio de uma espátula de borracha. A suspensão foi filtrada em gaze esterilizada, obtendo a suspensão padrão. Após diluições sucessivas foi realizada quantificação em câmara de Neubauer, obtendo-se assim, suspensões nas concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios mL⁻¹.

A viabilidade dos conídios foi aferida em microscópio óptico mediante a determinação do percentual de conídios germinados e não germinados, 24h após o plaqueamento em BDA+A. Para este fim, utilizou-se duas placas de Petri com BDA+A, sendo pulverizados sobre estas 10 microlitros da suspensão, espalhando-se uniformemente este volume com alça de Drigalsky. As placas foram mantidas por 20h em estufa incubadora B.O.D., nas condições de temperatura e fotofase já descritas anteriormente.

Dez ninfas com 24-48h de idade de *L. erysimi*, por repetição, provenientes do cultivo controlado, foram colocadas sobre discos de folhas de couve com 5cm de diâmetro, mantidas em placas de Petri plásticas de 9cm de diâmetro com meio ágar-água (1%), conforme metodologia adaptada de Loureiro e Moino Júnior (2006). Os discos de folhas contendo os insetos foram pulverizados com as suspensões fúngicas nas concentrações indicadas anteriormente e com água destilada mais espalhante adesivo Tween 80 (testemunha), utilizando-se de microatomizador “Paasche Airbrush” elétrico, modelo “VL”, acoplado a um compressor regulado para 15 libras de pressão. Após a pulverização, os discos de folhas de couve foram postos em placas de Petri plásticas perfuradas nas tampas cobertas com tela anti-afídeo, sendo posteriormente fechadas e mantidas em laboratório à temperatura de 26 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12h. A mortalidade foi avaliada diariamente, sendo os insetos mortos transferidos para novas placas de Petri com papel de filtro umedecido para confirmação do agente causal.

A determinação da concentração letal (CL_{50}) do isolado URPE-24 de *L. muscarium* foi efetuada a partir dos dados de mortalidade confirmada empregando-se o Proc Probit do programa estatístico SAS (SAS Institute 1999-2001). Os dados de mortalidade média foram analisados mediante análise de variância (ANOVA) utilizando o Proc ANOVA do SAS e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade quando significativo, sendo os dados transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e 10 repetições cada. Os tratamentos corresponderam a 100 pulgões tratados com as diferentes concentrações do isolado testado.

Resultados e Discussão

Ocorrência e distribuição da espécie *L. erysimi* em áreas com brássicas em Pernambuco.

Esse afídeo destacou-se como a espécie mais comum, sendo encontrado em quatro das cinco localidades e, sua presença registrada em valores percentuais que variam de 49,5 a 100% (Figura 1). A espécie *M. persicae* também foi registrada em quatro das cinco localidades, porém em percentuais muito inferiores aos de *L. erysimi*, sendo sua presença superior apenas em Camocim de São Félix. Já a espécie *B. brassicae* foi encontrada em apenas duas localidades, Pombos e Chã Grande, e em menores percentuais que as demais espécies.

Das espécies coletadas por Carvalho *et al.* (2002) em hortaliças em Lavras (MG), observou-se que *L. erysimi* e *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) além de espécies do complexo *Aphis* spp., foram espécies constantes, ou seja, presentes em mais de 50% das coletas; já as espécies *B. brassicae*, *Geopemphigus floccosus* (Moreira), *Uroleucon ambrosiae* (Thomas), foram acessórias, pois estiveram presentes em 25 a 50% das coletas. A espécie *M. persicae* foi relatada como acidental, já que estavam presentes em menos de 25% das coletas realizadas.

Ocorrência de *L. muscarium* parasitando *L. erysimi*. Após o crescimento em placas Petri, observou-se esporulação de coloração branca e através de análises microscópicas foi verificado que os conídios tem forma elíptica, sendo identificado pelo professor Sérgio Batista Alves da ESALQ/USP como *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *muscarium* (Classe-forma: Hyphomycetes). No Laboratório de Patologia de Insetos (UFRPE), o isolado identificado recebeu a denominação, de acordo com padrões pré-estabelecidos do laboratório, de URPE-24.

No campo da UFRPE em Recife, registrou-se a presença do fungo *L. muscarium*, colonizando ninfas e adultos do pulgão *L. erysimi* (Figura 2). A partir do mês de junho, o entomopatógeno apresentou-se de forma epizoótica promovendo redução considerável da infestação da praga. Assim sendo, após estudos sobre especificidade hospedeira, o fungo poderá

ser uma alternativa para utilização no Manejo Integrado da praga e conseqüentemente minimizar os danos ocasionados à cultura da couve e outras brassicáceas. Este trabalho constitui o primeiro relato do pulgão *L. erysimi* e epizootia do fungo *L. muscarium* no Estado de Pernambuco.

Determinação da concentração letal (CL₅₀) do isolado URPE-24. Os resultados obtidos na segunda etapa do experimento (Tabela 1) referem-se aos valores percentuais de mortalidade confirmada do pulgão *L. erysimi* ocasionada pelo isolado URPE-24 de *L. muscarium*.

Todas as concentrações testadas do isolado foram significativamente diferentes ($\chi^2_{GI=3} = 7,8$; $P = 0,048$), onde as concentrações de 10^6 e 10^7 conídios mL⁻¹ apresentaram maiores mortalidades, 66 e 77%, respectivamente. As demais concentrações testadas propiciaram mortalidades inferiores a 50% dos pulgões testados.

A determinação da CL₅₀, para fungos entomopatogênicos, é importante para determinação da dosagem mais econômica, que servirá como embasamento para uma possível utilização em campo. Portanto, baseado nos dados da Tabela 1, foi possível determinar a CL₅₀ para o isolado testado, que resultou em um valor de $2,5 \times 10^5$ conídios mL⁻¹ para URPE-24 de *L. muscarium*.

Literatura Citada

- Alavo, T.B.C., H. Sermann & H. Bochow. 2001.** Virulence of strains of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* to aphids: strain improvement. Arch. Phytopath. Panz. 34: 379–398.
- Almeida, D.P.F. 2006.** Manual de culturas hortícolas, editorial Presença, Lisboa, 346p.
- Araujo Júnior, J.M., E.J. Marques, L.M. Pires, C.C.M. Silva e R.B. Rocha. 2007.** Ocorrência de *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams no pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em couve no Estado de Pernambuco. Anais da VII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX), UFRPE, Recife – PE (CD-Room).

- Askary, H., Y. Carrière, R.R. Bélanger & J. Brodeur. 1998.** Pathogenicity of the fungus *Verticillium lecanii* to aphids and powdery mildew. *Biocontrol Sci. Technol.* 8: 23–32.
- Blackman, R. L. & V. F. Eastop. 1984.** Aphids on the world's crops: an identification and information guide. New York, John Wiley and Sons, 466p.
- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 2000.** Aphids on the world's crops: An identification and information guide. 2nd. ed., New York, John Wiley & Sons, 475p.
- Carvalho, L.M., V.H.P. Bueno & R.P. Martinez. 2002.** Levantamento de afídeos alados em plantas hortícolas em Lavras-MG. *Ciênc. Agrotec.* 26: 523-532.
- Jagan Mohan, N., K. Krishnaiah & N.K. Krishna Kumar. 1981.** Chemical control os mustard aphid, *Lipaphis erysimi* Kalt. and leaf webber, *Crocidolomia binotalis* Zell on cabbage. *Pesticides* 15: 29-32.
- Kim, J.J., M.S. Goettel & D.R. Gillespie. 2007.** Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biol. Control* 40: 327–332.
- Loureiro, E.S. & A. Moino Júnior. 2006.** Patogenicidade de fungos hifomicetos aos pulgões *Aphis gossypii* Glover e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotrop. Entomol.* 35: 660-665.
- Milner, R.J. 1997.** Prospects for biopesticides for aphid control. *Entomophaga* 42: 227-239.
- Peña-Martinez, R. 1992.** Afidos como vectores de virus en México. Montecillo, Centro de Fitopatologia, 135p.
- SAS Institute. 1999-2001.** SAS user's guide: Statistics, version 8.2, 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Singh, S.R., A. Narain, K.P. Srivastava & J.A. Siddiqui. 1965.** Fecundity of mustard aphid of different rapes and mustard species. *Indian Oilseeds J.* 9: 215-219.

Sousa-Silva, C.R. & F.A. Ilharco. 1995. Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar). São Carlos, EDUFSCar, 85p.

Yadav, P.R., L.S. Yadav & S.S. Dashad. 1988. Comparative efficacy of some insecticides against the aphid, *Lipaphis erysimi* Kalt. on cabbage crop. Indian J. Entomol. 50: 61-68.

Tabela 1. Mortalidade (%) de *L. erysimi* pelo isolado URPE-24 de *L. muscarium*, nas concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios mL⁻¹ e CL₅₀. Temp.: $26 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $70 \pm 10\%$.

Isolado	Concentração (conídios mL ⁻¹)	Mortalidade (%)	χ^2 ¹	$\beta \pm \text{EP}^2$	CL ₅₀ (Conídios mL ⁻¹) (IC) ³
URPE-24	10^7	$77,0 \pm 8,43\text{a}$	7,8	$0,61 \pm 0,08$	$2,5 \times 10^5$ ($7,1 \times 10^4 - 1,1 \times 10^6$)
	10^6	$66,0 \pm 6,53\text{ab}$			
	10^5	$36,0 \pm 4,26\text{b}$			
	10^4	$13,0 \pm 4,72\text{c}$			
	10^3	$12,0 \pm 3,88\text{c}$			
		P < 0,001	P = 0,048		
Testemunha		$0,0 \pm 0,00$	-	-	-

¹ χ^2 = teste qui-quadrado;

² $\beta \pm \text{EP}$ = Coeficiente angular da reta \pm erro padrão;

³CL₅₀ = Concentração Letal / IC (95%) = Intervalo de Confiança. Significância ao nível de 5% de probabilidade.

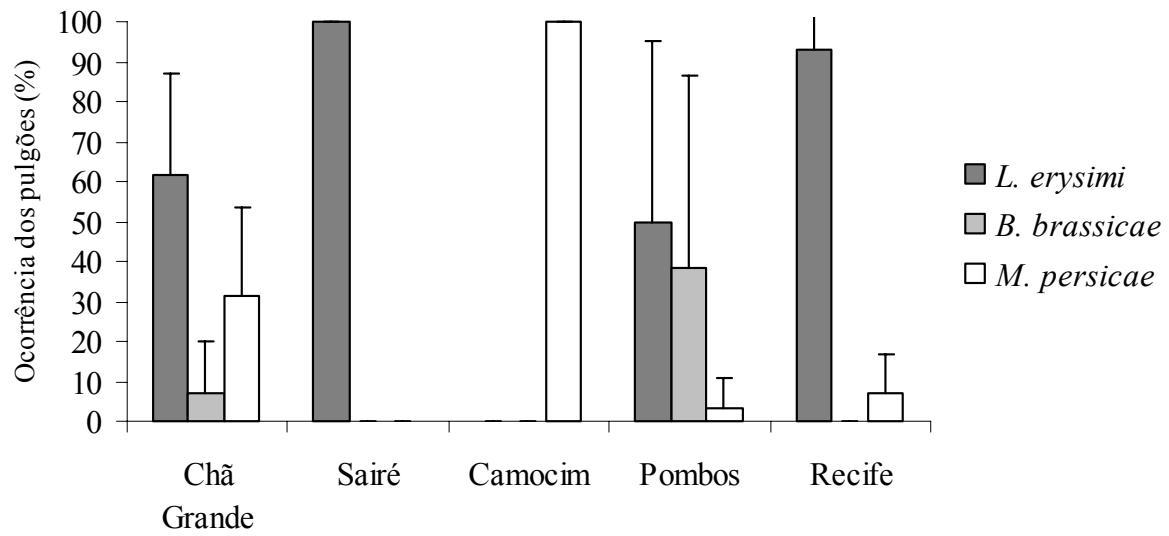


Figura 1. Ocorrência média (+EP) das espécies de pulgões *L. erysimi*, *B. brassicae* e *M. persicae* (Hemiptera: Aphididae) em cinco localidades produtoras de Brássicas no Estado de Pernambuco.

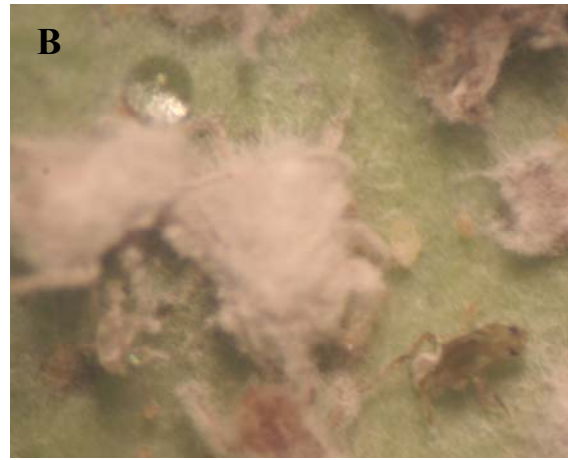


Figura 2. Folha de couve com *L. erysimi* parasitado por *L. muscarium*; A, visão geral da folha infestada; B, visão ampliada de pulgões parasitados.

CAPÍTULO 3

POTENCIAL DE ISOLADOS DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. NO CONTROLE DO PULGÃO *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E COMPATIBILIDADE COM O ÓLEO DE NIM

JOSÉ M. ARAUJO JÚNIOR¹, EDMILSON J. MARQUES¹ E JOSÉ V. OLIVEIRA¹

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE

¹Araujo Junior, J.M., E.J. Marques & J.V. Oliveira. Potencial de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) e compatibilidade com o óleo de nim. Neotropical Entomology.

RESUMO – Avaliou-se o efeito dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em couve-folha *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C., bem como sua compatibilidade com óleo de nim (Neemseto[®]). Vinte isolados desses fungos foram utilizados, onde CG001 de *B. bassiana* e CG30 de *M. anisopliae* apresentaram-se como os mais patogênicos com 90% e 4,4 dias, e 64% e 3,8 dias, de mortalidade e sobrevivência, respectivamente. A CL₅₀ de CG001 de *B. bassiana* e CG30 de *M. anisopliae* foi de 1,6 x 10⁶ e 3,4 x 10⁶ conídios mL⁻¹. Bioensaios com o nim formulado nas concentrações 0,5; 1,0 e 2,0% foram realizados por imersão foliar e pulverização sobre os pulgões. O tratamento com pulverização a 2,0% proporcionou mortalidade de 90%. Testando a compatibilidade *in vitro* de CG001 de *B. bassiana* e CG30 de *M. anisopliae* com o Neemseto[®] a 0,125; 0,25 e 0,5%, observou-se que o tratamento a 0,5% afetou apenas a esporulação do isolado CG001 e o crescimento vegetativo e a viabilidade de CG30. Os resultados mostram que os isolados CG001 de *B. bassiana* e CG30 de *M. anisopliae*, são os mais patogênicos para *L. erysimi*, apresentando-se compatíveis com o Neemseto[®] podendo ser utilizados em uma ação conjunta para o controle do pulgão.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, inseticida botânico, compatibilidade, crucíferas

POTENTIAL OF *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. AND *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. ISOLATES TO CONTROL THE APHID *Lipaphis erysimi* (KALT.) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) AND COMPATIBILITY WITH NEEM OIL

ABSTRACT – This work evaluated the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill effects on the control of the aphid *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) in kale *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C., as well as their compatibilities with neem oil (Neemseto®). Ten isolates of both fungi were used and the most pathogenic were *B. bassiana* CG001 and *M. anisopliae* CG30 with 90% and 4.4 days, and 64% and 3.8 days of mortality and survival, respectively. Also, the LC₅₀s were 1.6 x 10⁶, 3.4 x 10⁶ conidia mL⁻¹ for *B. bassiana* CG001 and *M. anisopliae* CG30, respectively. Bioassays with the neem formulation at concentrations 0.5, 1.0, and 2.0% were done either by leaf discs dipping or spraying the aphids on the leaf discs. The neem spraying treatment at 2.0% provided 90% mortality. Compatibility test conducted with the isolates CG001 of *B. bassiana* and CG30 of *M. anisopliae* with Neemseto® at concentration 0.125, 0.25 and 0.5%, showed that the highest neem concentration caused negative impact on sporulation of the isolate CG001 and on vegetative growth and viability of the isolate CG30. The isolates CG001 of *B. bassiana* and CG30 of *M. anisopliae* were pathogenic to *L. erysimi*. Furthermore, these isolates were compatibles with the Neemseto® showing promising to be used in association to control this aphid.

KEY WORDS: Microbial control, botanic insecticides, compatibility, crucifers

Introdução

A produtividade das brassicáceas, como couve-folha, repolho, brócolis, nabo, couve-flor e mostarda, é reduzida pela presença de vários insetos-praga e, dentre eles destacam-se os pulgões. As espécies *Brevicoryne brassicae* L., *Myzus persicae* (Sulzer) e *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae) são pragas bastante freqüentes causando apreciáveis danos à essas culturas (Sousa-Silva & Ilharco 1995, Blackman & Eastop 2000, Araujo Júnior *et al.* 2007).

As ninfas e os adultos de *L. erysimi* sugam a seiva das folhas, brotos jovens e inflorescência, resultando em redução de clorofila ou até mesmo morte de planta. Adicionalmente, podem transmitir alguns vírus fitopatogênicos, como vírus do mosaico do pepino e do feijoeiro (Castle *et al.* 1992). Entre as plantas hospedeiras de *L. erysimi* encontram-se: couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C.), couve-flor (*B. oleracea* L. var. *botrytis* L.), mostarda (*B. juncea* L.), nabo (*B. rapa* L. var. *napus* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) (Goel & Singh 1994, Bhalla *et al.* 1994, Chander & Phadke 1995, Choi *et al.* 1996, Srivastava *et al.* 1996) e outras culturas.

Atualmente, as práticas recomendadas para o controle de pulgões das brássicas se baseiam no uso de inseticidas e alguns produtos de receituário alternativo. Os pulgões, entretanto, possuem uma alta capacidade reprodutiva e com a aplicação intensiva de inseticidas, pode ocorrer desenvolvimento de resistência contra alguns princípios ativos dos agrotóxicos (Zheng *et al.* 1997), induzindo os pesquisadores a buscarem novos métodos mais efetivos para o controle desses insetos, dentre eles o controle biológico.

O controle biológico com o uso de entomopatógenos, principalmente fungos, tem se destacado devido a sua ocorrência, em condições naturais, tanto enzoótica como epizooticamente, e têm sido, aqui no Brasil e em outros países, um fator importante na redução das populações de pragas (Alves 1998). Os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. são mundialmente conhecidos e utilizados como agentes

biocontroladores de pragas agrícolas de várias espécies em diversas ordens (Alves 1998), inclusive para hemípteros, como os pulgões (Loureiro e Moino Junior 2006).

Entre os métodos alternativos para o controle de pulgões, um dos principais tem sido a utilização de produtos a base de azadiractina, encontrada principalmente nas sementes de nim (Schmutterer 1990; Mordue e Nisbet 2000). Os efeitos da azadiractina sobre insetos incluem repelência, deterrência alimentar, interrupção do crescimento, interferência na metamorfose, esterilidade e anormalidades anatômicas (Mordue e Nisbet 2000, Martinez e Emden 2001). Segundo Venzon *et al.* (2007) o extrato de sementes de nim, nas concentrações de 0,05 e 0,1 g de azadiractina por litro, reduziu o crescimento populacional de *M. persicae* em laboratório, causando uma mortalidade ninfal de 79,4 a 82,6%, respectivamente. Os percentuais de mortalidade encontrados por Santos *et al.* (2004) durante o período ninfal para o pulgão *A. gossypii* mantido sobre discos foliares de algodoeiro imersos nas concentrações de 122 e 410mg de pó de amêndoas de nim em 100mL de água, foram, respectivamente, 60 e 100%.

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivos selecionar isolados dos fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* e estudar a aplicação de nim formulado para controle do pulgão, avaliando também a compatibilidade *in vitro* do inseticida botânico e os isolados dos fungos selecionados.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Criação dos pulgões, obtenção e multiplicação dos isolados dos fungos. Os pulgões foram coletados na horta da UFRPE e criados sobre plantas de couve-folha *B. oleraceae* var. *acephala*,

mantidas em casa-de-vegetação em vasos plásticos de 1000mL, contendo mistura de solo mais esterco (2:1).

Os isolados dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* de diferentes origens, foram mantidos na micoteca do Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE. Estes foram multiplicados em placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) e MC, constituído de extrato de levedura, glucose, sais minerais, ágar e água destilada.

Testes de patogenicidade dos isolados. Primeiramente, foram investigados os isolados URPE-6 e 19, ESALQ-1189, 1204 e 866, E₉, CG 30, PL 43 e 47 e 4407 (Instituto de Micologia) de *M. anisopliae*, e os isolados URPE-4, 8, 9, 14, 18 e 22, ESALQ 447, 645 e 604 e CG 001 de *B. bassiana* (Tabela 1). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 10 repetições, sendo cada parcela constituída por 10 ninfas do pulgão *L. erysimi* com 24-48h de idade, apresentando assim, no primeiro ou segundo instar.

Os isolados, conservados na temperatura de 6 ± 2 °C em tubos de vidro com sílica gel contendo esporos dos fungos, foram repicados para placas de Petri, com auxílio de uma pinça, contendo meio BDA+A (estreptomicina). Após sete dias foram novamente repicados para placas contendo meio MC, sendo uniformemente espalhados por toda a extensão da placa, com o auxílio de alça de Drigalsky. Para a germinação e crescimento dos isolados durante todo esse processo, as placas foram mantidas em estufa incubadora B.O.D. a 26 ± 1 °C, com fotofase de 12h. Obtidas as placas cheias, foram preparadas as suspensões fúngicas, adicionando-se 10mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween 80[®] (0,1%), sendo removidos os conídios dos fungos com auxílio de uma espátula de borracha. As suspensões foram filtradas em gaze esterilizada, obtendo-se as suspensões padrão. Após diluições sucessivas foi realizada quantificação em câmara de Neubauer, obtendo-se assim, suspensões nas concentrações de 10^7 conídios mL⁻¹.

A viabilidade dos conídios foi aferida em microscópio óptico mediante a determinação do percentual de conídios germinados e não germinados, 20h após o plaqueamento em BDA+A. Para este fim, utilizou-se para cada isolado duas placas de Petri com BDA+A, sendo pulverizados sobre estas 10 microlitros da suspensão correspondente, espalhando-se uniformemente este volume com alça de Drigalsky. As placas foram mantidas por 20h em estufa incubadora B.O.D., nas condições de temperatura e fotofase já descritas anteriormente.

Dez ninfas com 24-48h de idade de *L. erysimi*, por repetição, provenientes do cultivo controlado em casa-de-vegetação, foram colocadas sobre discos de folhas de couve com 5cm de diâmetro, mantidas em placas de Petri plásticas de 9cm de diâmetro com meio ágar-água (1%), conforme metodologia adaptada de Loureiro e Moino Júnior (2006). Os discos de folhas contendo os insetos foram pulverizados com as suspensões fúngicas na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} e com água destilada mais espalhante adesivo Tween 80[®] (testemunha), utilizando-se o microatomizador “Paasche Airbrush” elétrico, modelo “VL”, acoplado a um compressor regulado para 15 libras de pressão. Após a pulverização, os discos de folhas de couve foram postos em placas de Petri plásticas perfuradas nas tampas cobertas com tela anti-afídeo, sendo posteriormente fechadas e mantidas em laboratório à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12h. A mortalidade foi avaliada diariamente, para determinação da sobrevivência, sendo os insetos mortos transferidos para novas placas de Petri com papel de filtro umedecido para confirmação do agente causal.

Os dados de mortalidade média foram analisados mediante análise de variância (ANOVA) utilizando o Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 1999-2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade quando significativo, sendo os dados transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

A partir dos dados de mortalidade confirmada determinou-se a percentagem de sobrevivência média em 10 dias e, os dados submetidos aos testes Long-Rank, através do método Kaplan-Meyer, por comparação de pares de isolados usando o Proc Lifetest do SAS (SAS Institute 1999-2001).

Determinação das concentrações letais (CL₅₀) para os isolados selecionados. Foram determinadas as concentrações letais (CL₅₀) dos isolados CG 30 de *M. anisopliae* e CG 001 *B. bassiana*, selecionados como os mais eficientes no controle do pulgão. A partir dos dados de mortalidade confirmada estimou-se a CL₅₀ empregando-se o Proc Probit do programa estatístico SAS (SAS Institute 1999-2001).

Foram preparadas suspensões fúngicas nas concentrações de 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ e 10⁷ conídios mL⁻¹. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e 10 repetições cada. Os tratamentos corresponderam a 100 pulgões tratados com as diferentes concentrações dos isolados, sendo cada parcela constituída por 10 ninfas com 24-48 horas de idade de *L. erysimi*. Na preparação e aplicação das suspensões, determinação da viabilidade de conídios, acomodação dos pulgões e avaliações, utilizou-se a mesma metodologia empregada no experimento de patogenicidade.

Ação de contato do nim sobre *L. erysimi*. Foi realizada em duas etapas, onde na primeira aplicaram-se emulsões de óleo de nim (Neemseto[®], Cruangi Neem do Brasil Ltda, Timbaúba, PE) nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0% sobre os pulgões, sendo posteriormente 10 ninfas com 24-48h de idade transferidas para discos de folha de couve em placas de Petri contendo meio ágar-água (1%), e para segunda etapa discos de 5cm de diâmetro de folhas de couve foram imersos, por um período de 20 segundos, em emulsão do óleo de nim nas mesmas concentrações citadas anteriormente, sendo em seguida os discos colocados sobre papel toalha e deixados ao ar livre durante uma hora para perda do excesso de umidade. Na testemunha os discos e os pulgões foram

pulverizados com água destilada. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e 10 repetições, cada.

As avaliações foram realizadas diariamente, por um período de 10 dias. Os insetos mortos foram coletados e contados, sendo os dados de mortalidade média analisados mediante análise de variância (ANOVA) utilizando o Proc ANOVA do SAS (SAS Institute 1999-2001). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, quando significativas, sendo os dados transformados para $\sqrt{x + 0,5}$.

Efeito *in vitro* do óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade de isolados selecionados. Foi avaliado o efeito da emulsão do óleo de nim em diferentes concentrações sobre a esporulação dos isolados dos fungos entomopatogênicos, utilizando os isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae*, selecionados como os mais eficientes no controle do pulgão. Em função dos resultados experimentais de compatibilidade verificados em outros trabalhos (Marques *et al.* 2004, Depieri *et al.* 2005), o Neemseto foi utilizado nas concentrações de 0,125; 0,25 e 0,5%. Para tanto, foi adicionado o produto ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) ainda líquido a uma temperatura próxima de 40°C e em seguida, o meio foi vertido em placas de Petri (20mL placa). Após a solidificação do meio com o produto, os entomopatógenos foram inoculados tocando-se, com ajuda de uma pinça, um fragmento de sílica gel impregnado com fungo em três pontos por placa, três placas por tratamento, em câmara de fluxo laminar.

Após inoculação as placas foram mantidas em B.O.D. ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h) por um período de 14 dias. Após esse período, foi aferido o diâmetro médio das colônias e contados o número de conídios produzidos por colônia, em câmara de Neubauer, através de suspensões obtidas (Alves 1998). Essa etapa do experimento foi realizada em delineamento inteiramente casualizado, constando de sete tratamentos, onde cada tratamento foi composto por três placas de Petri com três colônias do fungo em cada, sendo avaliadas apenas seis colônias.

Para os testes de germinação, foi adicionado 1mL da suspensão de conídios padronizada em 10^7 conídios mL^{-1} às emulsões do Neemseto nas concentrações de 0,125; 0,25 e 0,5%. Decorridos 60 minutos, alíquotas de 0,1 mL foram espalhadas, com o auxílio da alça de Drigalsky, em placas de Petri contendo meio de cultura BDA+A. Na testemunha utilizou-se a suspensão do fungo diluída em ADE+E. Para cada tratamento foram feitas quatro repetições (placas). Após 20 horas avaliou-se a viabilidade, dividindo-se as placas em quatro quadrantes, quantificando-se os conídios germinados e não germinados (100 conídios/quadrante), sob microscópio óptico.

Para a classificação da compatibilidade do produto com os entomopatógenos foi utilizado o modelo IB (= antigo valor de T segundo Alves *et al.* 1998), desenvolvido para caracterizar a compatibilidade de fungos entomopatogênicos com produtos inseticidas in vitro, em meio de cultura sólido. Assim, foram calculados os valores percentuais médios de esporulação e crescimento vegetativo das colônias dos fungos com relação à testemunha, sendo aplicada, para cada concentração do produto, a seguinte fórmula (Rossi-Zalaf *et al.* 2008):

$$IB = [47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GERM)] / 100$$
, onde IB, índice biológico; CV, porcentagem de crescimento vegetativo; ESP, porcentagem de esporulação das colônias ; GER, porcentagem de germinação dos conídios, todos em relação á testemunha. Os valores de IB para a classificação dos produtos quanto à compatibilidade com entomopatógenos são: Tóxico de 0 a 41, moderadamente tóxico de 42 a 66 e compatível > 66.

Resultados e Discussão

Testes de patogenicidade dos isolados. Todos os isolados de *B. bassiana* e de *M. anisopliae*, apresentaram viabilidades superiores a 95%, demonstrando a alta capacidade germinativa dos mesmos. A mortalidade total, mortalidade confirmada e sobrevivência dos pulgões, obtidos dos

isolados de ambos os fungos, mostram que a patogenicidade dos isolados diferiram entre si para *B. bassiana* ($F_{10; 99} = 11,36$; $P < 0,0001$) variando de 22 a 90% (Tabelas 2), bem como para *M. anisopliae* ($F_{10;99} = 24,07$; $P < 0,0001$) que apresentaram variação de 14 a 64% (Tabelas 3). Os valores médios percentuais de sobrevivência, ao final dos 10 dias de avaliação (Figura 1), foram estatisticamente diferentes, onde variaram de 4,4 a 7,3 dias ($\chi^2_{GI=9} = 178,06$; $P < 0,0001$) e 3,8 a 6,4 dias ($\chi^2_{GI=9} = 141,68$; $P < 0,0001$), para *B. bassiana* e *M. anisopliae*, respectivamente.

Levando-se em consideração que os valores de mortalidade e sobrevivência final foram significativos do ponto de vista biológico, verifica-se que o isolado de *B. bassiana* que apresentou maior eficiência sobre o pulgão *L. erysimi* foi o CG 001, proporcionando 90% de mortalidade confirmada e 4,4 dias de sobrevivência, ao término dos dez dias de avaliação. Constatando a eficiência do produto comercial Boveril[®], que contém conídios do fungo *B. bassiana*, sobre o pulgão *B. brassicae*, Almeida *et al.* (2007) apresentaram níveis de mortalidade confirmada superiores a 85%.

Para *M. anisopliae*, o isolado selecionado como o mais patogênico para *L. erysimi* foi o CG 30, proporcionando 64% de mortalidade e 3,8 dias de sobrevivência, devido ao mesmo motivo descrito acima para o isolado de *B. bassiana*. Butt *et al.* (1994) avaliando dois isolados de *M. anisopliae*, na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} , sobre os pulgões *L. erysimi* e *M. persicae*, obtiveram valores de mortalidade que alcançaram 100%, quatro dias após inoculação, para ambas as espécies dos pulgões. Resultados, também, de alta patogenicidades de três isolados dos fungos *M. anisopliae* (IBCB 121), *B. bassiana* (IBCB 66) e *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* (JAB 02) sobre os pulgões *Aphis gossypii* e *M. persicae*, foram encontrados por Loureiro & Moino Júnior (2006), onde obtiveram dados de mortalidade de até 100% no 7º dia após inoculação, para os isolados testados sobre os pulgões.

Trabalhando com o fungo *Verticillium lecanii* (Zimm.) na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} , sobre o pulgão-gigante-do-pinus *Cinara atlantica* (Wilson) (Hemiptera: Aphididae), Leite *et al.* (2005) constataram mortalidades que variaram de 23 a 72%.

Em condições de temperatura e umidade relativa próximas as do presente trabalho, Xu e Feng (2002), obtiveram um percentual de mortalidade superior a 80%, avaliando a patogenicidade do fungo *Pandora delphacis* (Hori) sobre o pulgão *M. persicae* criados em plantas de repolho, sugerindo o referido fungo como um controlador potencial para esta espécie de pulgão. Já Shah *et al.* (2004), testando isolados do fungo *Pandora neoaphidis* (Remaudière & Hennebert) sobre sete espécies de pulgões, dentre eles *B. brassicae* e *M. persicae*, obtiveram valores de mortalidade que variaram de 40 a 100%.

Determinação das concentrações letais (CL_{50}) para os isolados selecionados. Os resultados obtidos na segunda etapa do experimento (Tabela 4) referem-se aos valores percentuais de mortalidade confirmada do pulgão *L. erysimi* ocasionada pelos isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae*.

As percentagens de mortalidade do pulgão *L. erysimi* pelo isolado CG 001 de *B. bassiana* nas diferentes concentrações testadas foram altamente significativas ($\chi^2_{\text{Gl}=3} = 16,7$; $P < 0,0001$), porém a concentração 10^7 conídios mL^{-1} foi a única que apresentou mortalidade superior a 50% (76%), sendo indicada como a mais eficiente para o controle do pulgão. Assim como para *B. bassiana*, o isolado CG 30 de *M. anisopliae* apresentou maior eficiência na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} , com uma percentagem de mortalidade de 66%, porém as concentrações testadas não foram significativamente diferentes ($\chi^2_{\text{Gl}=3} = 2,7$; $P = 0,428$).

A determinação da CL_{50} , para fungos entomopatogênicos, é importante para determinação da dosagem mais econômica, que servirá como embasamento para uma possível utilização em campo. Portanto, baseado nos dados da Tabela 4, foi possível determinar a CL_{50} para os isolados

testados, que resultou em valores de $1,6 \times 10^6$ conídios mL^{-1} para CG 001 de *B. bassiana* e $3,4 \times 10^6$ conídios mL^{-1} para CG 30 de *M. anisopliae*.

Ação de contato do nim sobre *L. erysimi*. A mortalidade de ninfas do pulgão foi significativamente diferente ($F_{6; 63} = 29,54$; $P < 0,0001$), com maior eficácia para os tratamentos onde se realizou a pulverização das emulsões do Neemseto[®] a 2,0 e 1,0% (Tabela 5), seguidos pelos tratamentos imersão foliar, também nas mesmas concentrações. Avaliando a toxicidade de extrato de sementes de nim, aplicado via imersão foliar, nas concentrações de 0,5 e 1,0% sobre o pulgão *M. persicae*, Venzon *et al.* (2007) obtiveram percentuais de mortalidade de adultos de 55 e 59,1%, respectivamente. Também Santos *et al.* (2004) relataram que o extrato aquoso das sementes de nim é uma alternativa eficiente para o controle do pulgão *A. gossypii*, causando mortalidade ninfal de 60 a 100%, nas concentrações de 410 e 1.410 mg/100mL de água, respectivamente.

Testando a ação tópica foliar de inseticidas à base de extratos de sementes de nim sobre os pulgões *M. persicae* e *B. brassicae*, Verkerk *et al.* (1998), aplicando o produto sobre folhas de repolho contendo ninfas dos pulgões, observaram que, após 96 horas da aplicação registrou-se mortalidade de até 100%. Souza (2004) testando extratos aquosos de nim nas concentrações de 0,5; 1,0 e 5% sobre ninfas de terceiro instar de *Bemisia tabaci* biótipo B, criadas em tomateiro, registrou percentagem de mortalidade ninfal acima de 90% para todas as concentrações.

A aplicação de azadiractina sobre plantas hospedeiras de pulgões proporciona a redução da capacidade de alimentação desses insetos, podendo afetar a habilidade em realizar a transmissão de vírus, assim como, também, causa uma redução nas concentrações do ecdisônio e do hormônio juvenil na hemolinfa, afetando as ecdises, a metamorfose e a reprodução (Mordue & Nisbet 2000).

Efeito *in vitro* do óleo de nim sobre o crescimento, esporulação e viabilidade de isolados selecionados. O isolado CG 001 de *B. bassiana* teve apenas a esporulação afetada, quando se utilizou o produto Neemseto[®] na maior concentração (0,5%), não havendo nenhum efeito sobre sua viabilidade e crescimento vegetativo. Na classificação proposta por Alves (1998), o fator esporulação é considerado mais influente que o crescimento vegetativo. Isto se deve ao fato de os conídios serem estruturas do fungo que se disseminam no ambiente e também são responsáveis pelo início da infecção no campo; então, em uma colônia que apresenta um pequeno crescimento, mas produz grande quantidade de propágulos, a disseminação da doença tende a ser maior que em uma colônia que cresceu bem, mas teve uma pequena esporulação.

Também observou-se que o crescimento vegetativo e a viabilidade, do isolado CG 30 de *M. anisopliae*, só foi afetado na maior concentração do Neemseto (0,5%) (Tabela 6). Do ponto de vista do uso associado dos fungos com o óleo de nim, no controle biológico de insetos, este resultado é importante, pois mostra o potencial de utilização conjunta de esporos do fungo veiculados em emulsão de óleo de nim, sem que haja redução da germinação dos esporos.

Nessa linha de pesquisa, Depieri *et al.* (2005), avaliando a compatibilidade de óleo emulsionável de nim (Dalneem[®]), nas concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5%, sobre um isolado do fungo *B. bassiana*, constatando que esse produto, nas concentrações testadas, não foi compatível com *B. bassiana*, inibindo significativamente o crescimento vegetativo e reduzindo a produção e a viabilidade dos conídios com efeitos mais acentuados nas concentrações mais altas. Já Rodriguez-Lagunes *et al.* (1997) ressaltaram que as concentrações de óleo emulsionável de nim, abaixo de 5%, não afetaram significativamente o crescimento vegetativo, a esporulação e a germinação dos isolados testados do fungo *B. bassiana*, não apresentando efeito fungitóxico. Os resultados encontrados por Marques *et al.* (2004), contrário aos apresentados no presente trabalho, indicam que o crescimento radial das colônias e a esporulação de *B. bassiana* (JAB 07) e *M. anisopliae*

(E9) foram afetados, quando estes foram inoculados em meio de cultura contendo óleo de nim a 0,156, 0,312 e 0,625%, concentrações essas mais próximas as utilizadas nesse trabalho. Porém, a germinação dos conídios não foi afetada em todas as concentrações testadas.

Hirose *et al.* (2001) observaram que o óleo de nim na concentração de 2% apresentou efeito negativo sobre a germinação de conídios de *M. anisopliae* (CB 38) e *B. bassiana* (CG 252), com redução de 17,26% e 45,27% respectivamente, causando ainda uma redução próxima a 50% na produção de conídios.

Pelos resultados apresentados na Tabela 7 para classificação de agrotóxicos quanto à sua toxicidade aos fungos entomopatogênicos ("IB"), verificou-se que as emulsões de nim, nas concentrações de 0,125; 0,25 e 0,5% foram compatíveis com os isolados CG 001 de *B. bassiana*, e CG 30 de *M. anisopliae*. Sendo assim, estes resultados confirmam que, nas referidas concentrações, o produto Neemseto[®] não altera o desenvolvimento dos isolados dos fungos citados, podendo ser utilizado em programas de manejo de pragas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo concedimento de bolsas durante o curso, à Rachel Gonçalves Ferreira da Empresa IPA (Recife-PE) e a Sérgio Batista Alves (ESALQ-USP), respectivamente pela identificação de *L. erysimi* e *L. muscarium*.

Literatura Citada

Almeida, G.D., D. Pratissoli, R.A. Polanczyk, A.M. Holtz & V.B. Vicentini. 2007.

Determinação da concentração letal média (CL₅₀) de *Beauveria bassiana* para o controle de *Brevicoryne brassicae*. IDESIA 25: 69-72.

- Alves, S.B. 1998.** Fungos Entomopatogênicos, p: 289-381. In: Alves, S.B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B., A. Moino Júnior & J.E.M. Almeida. 1998.** Produtos fitossanitários e entomopatógenos, p. 217-238. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Rossi-Zalaf, L.S., S.B. Alves, R.B. Lopes, S. Silveira Neto, M.R. Tanzini. 2008.** Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p. 279-302. In Alves S.B. & R.B. Lopes. Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba, FEALQ, 414P.
- Araujo Júnior, J.M., E.J. Marques, L.M. Pires, C.C.M. Silva e R.B. Rocha. 2007.** Ocorrência de *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams no pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em couve no Estado de Pernambuco. Anais da VII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX), UFRPE, Recife – PE (CD-Room).
- Blackman, R.L. & V.F. Eastop. 2000.** Aphids on the world's crops: An identification and information guide. 2nd. ed., New York, John Wiley & Sons, 475p.
- Bhalla, J.S., G.S. Sandhu & K.S. Brar. 1994.** Efficacy of some insecticides for the control of *Lipaphis erysimi* (Kalt.) on rapeseed-mustard and turnip. Indian J. Entomol. 56: 421-425.
- Butt, T.M., L. Ibrahim, B.V. Ball & S.J. Clark. 1994.** Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. Pest Manage. Sci. 4: 207-214.
- Castle, S.J., T.M. Perring, C.A. Farrar & A.N. Kishaba. 1992.** Field and laboratory transmission of watermelon mosaic virus 2 and zucchini yellow mosaic virus by various aphid species. Phytopathology 82: 235-240.

- Chander, S. & K.G. Phadke. 1995.** Intraplant distribution of aphid infesting rapeseed. *J. Insect Sci.* 8: 151-153.
- Choi, J.S., C.Y. Hwang, H.G. Goh, I.S. Kim & S.G. Lee. 1996.** Insect pest fauna and their spatial distribution pattern on kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC). *J. Agric. Sci.* 38: 489-494.
- Depieri, R.A., S.S. Martinez & A.O. Menezes Jr. 2005.** Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. *Neotrop. Entomol.* 34: 601-606.
- Goel, S.C & B. Singh. 1994.** The intrinsic rate of natural increase and life expectancy of *Lipaphis erysimi* (Kalt.) on mustard in India. *Insect Sci. Appl.* 15: 287-291.
- Hirose, E., P.M.O.J. Neves, J.A.C. Zequi, L.H. Martins, C.H. Peralta & A. Moino Jr. 2001.** Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 44: 419-423.
- Leite, M.S.P., S.R.C. Penteado, S.R.M. Zaleski, J.M.M. Camargo & R.D. Ribeiro. 2005.** Seleção de isolados de *Verticillium lecanii* para o controle de *Cinara atlantica*. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 40: 1141-1144.
- Loureiro, E.S. & A. Moino Júnior. 2006.** Patogenicidade de fungos hifomicetos aos pulgões *Aphis gossypii* Glover e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Neotrop. Entomol.* 35: 660-665.
- Marques, R.P., A.C. Monteiro & G.T. Pereira. 2004.** Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). *Rev. Centr. Cienc. Rural* 34: 1675-1680.

- Martinez, S.S. & H.F. Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by Azadirachtin. Neotrop. Entomol. 30: 113-124.
- Mordue, A.J. & A.J. Nisbet. 2000.** Azadirachtin from the neem tree *Azadirachata indica*: its action against insects. An. Soc. Entomol. Bras. 29: 615-632.
- greenhouse chrysanthemums. J. Entomol. Sci. 34: 186-294.
- Rodríguez-Lagunes, D.A., A.L. Tejedó, D.R. Díaz, C.R. Maciel, J.V. Mendoza, E.B. Roman, S.R. Colorado & E.P. Velasco. 1997.** Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y extractos acuosos de nim (*Azadirachta indica*) para el control de la broca del cafeto (*Hypothenemus hampei*). Man. Integr. Plagas 44: 14-19.
- SAS Institute. 1999-2001.** SAS user's guide: Statistics, version 8.2, 6th ed. SAS Institute, Cary, NC..
- Santos, T.M., N.P. Costa, A.L. Torres & A.L. Boiça Júnior. 2004.** Effect of nim extract on the cotton aphid. Pesqu. Agropecu. Bras. 39: 1071-1076.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from neem tree. Annu. Rev. Entomol. 35: 271-297.
- Shah, P.A., S.J. Clark & J.K. Pell. 2004.** Assessment of aphid host range and isolate variability in *Pandora neophidis* (Zygomycetes: Entomophthorales). Biol. Control 29: 90-99.
- Sousa-Silva, C.R. & F.A. Ilharco. 1995.** Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras (lista preliminar). São Carlos, EDUFSCar, 85p.
- Souza, A.P. 2004.** Atividade inseticida e modo de ação de extratos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn., 1889) biótipo B. Tese de Doutorado. Piracicaba – SP, 116 p.

- Srivastava, A., H. Singh & H.L. Thakur. 1996.** Assessment of avoidable yield loss caused by green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) and mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) in Brassica. Indian J. Plant Prot. 24: 115-116.
- Venzon, M., M.C. Rosado, A. Pallini, A. Fialho & C.J. Pereira. 2007.** Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopis connexa*. Pesqu. Agropecu. Bras. 42: 627-631.
- Verkerk, R.H.J., K.R. Neugebauer, P.R. Ellis & D.J. Wright. 1998.** Aphids on cabbage: tritrophic and selective insecticide interactions. Bull. Entomol. Res. 88: 343-349.
- Xu, J.H. & M.G. Feng. 2002.** *Pandora delphacis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae) infection affects the fecundity and population dynamics of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) at varying regimes of temperature and relative humidity in the laboratory. Biol. Control 25: 85–91.
- Zheng, B.Z., X.W. Gao, G.Y. Zhao & B.J. Cao. 1997.** Insecticide resistance in turnip aphids, *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach), from Beijing and suburbs. Resis. Pest. Manage. 9: 27-28.

Tabela 1. Procedência (origem e hospedeiro) dos isolados de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. muscarium* utilizados nos experimentos com *L. erysimi*.

Isolados	Origem	Hospedeiros
<i>B. bassiana</i>		
URPE-4	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	<i>Membracis</i> sp.
URPE-8	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	<i>Membracis foliata</i> L.
URPE-9	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	<i>M. foliata</i>
URPE-14	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	Amostra de solo
URPE-18	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	Amostra de solo
URPE-22	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	Percevejo
ESALQ-447	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	<i>Solenopsis invicta</i> (Buren)
ESALQ-645	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	Amostra de solo
ESALQ-604	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	Amostra de solo
CG 001	CENARGEN – DF	<i>Deois flavopicta</i> (Stal)
<i>M. anisopliae</i>		
URPE-6	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	<i>Periplaneta americana</i> L.
URPE-19	Lab. Patologia de Insetos (UFRPE)	Amostra de solo
ESALQ-1189	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	Amostra de solo
ESALQ-1204	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	<i>M. foliata</i>
ESALQ-866	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	<i>Atta</i> sp.
PL 43	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	<i>Mahanarva posticata</i> (Stal)
PL 47	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	<i>M. posticata</i>
4407	Instituto de Micologia (UFPE)	<i>M. posticata</i>
E9	Lab. Patologia de Insetos (ESALQ-USP)	<i>M. posticata</i>
CG 30	CENARGEN – DF	<i>D. flavopicta</i>

Tabela 2. Mortalidade total e confirmada (%), e sobrevivência (dias) de *L. erysimi* por isolados de *Beauveria bassiana* (10^7 conídios mL⁻¹). Temp.: 26 ± 2 °C; UR 70 ± 10%.

Isolados	Mortalidade Total ¹	Mortalidade Confirmada ¹	Média de sobrevivência (dias) ²
CG 001	98,0 ± 1,33 a	90,0 ± 3,65 a	4,4 ± 0,16 e
ESALQ 645	93,0 ± 3,00 a	74,0 ± 5,41 ab	4,8 ± 0,13 e
URPE-4	93,0 ± 2,60 a	71,0 ± 6,22 ab	5,3 ± 0,13 d
ESALQ 604	91,0 ± 5,04 a	69,0 ± 6,40 ab	4,9 ± 0,11 d
URPE-8	85,0 ± 5,21 ab	62,0 ± 6,63 ab	5,4 ± 0,15 d
ESALQ 447	72,0 ± 4,42 ab	58,0 ± 5,12 ab	4,9 ± 0,11 d
URPE-22	73,0 ± 5,97 ab	56,0 ± 6,18 ab	5,7 ± 0,14 c
URPE-9	62,0 ± 5,73 bc	51,0 ± 7,37 bc	7,3 ± 0,28 a
URPE-14	48,0 ± 5,92 cd	30,0 ± 6,32 cd	6,2 ± 0,14 b
URPE-18	37,0 ± 4,22 d	22,0 ± 4,42 d	5,8 ± 0,06 b
Testemunha	5,00 ± 2,23 e	-	-
	F _{10; 99} = 55,68 ^{<0,0001}	F _{10; 99} = 11,36 ^{<0,0001}	χ ² = 178,06 ^{<0,0001}

¹Médias (±EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

²Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si através de análise de sobrevivência pelo método de Kaplan-Meyer (Proc LIFETEST do SAS) e, seguido, de teste de Log-Rank por comparação entre pares de isolados.

Tabela 3. Mortalidade total e confirmada (%), e sobrevivência (dias) de *L. erysimi* por isolados de *Metarhizium anisopliae* (10^7 conídios mL⁻¹). Temp.: 26 ± 2 °C; UR: $70 \pm 10\%$.

Isolados	Mortalidade Total ¹	Mortalidade Confirmada ¹	Média de sobrevivência (dias) ²
CG 30	79,0 ± 3,48 a	64,0 ± 3,71 a	3,8 ± 0,10 c
ESALQ 866	65,0 ± 4,28 ab	54,0 ± 4,00 ab	4,9 ± 0,13 b
URPE-19	62,0 ± 4,16 abc	46,0 ± 4,00 abc	5,6 ± 0,16 b
PL 43	52,0 ± 4,66 bc	41,0 ± 3,14 bc	5,2 ± 0,11 b
PL 47	52,0 ± 3,26 bc	40,0 ± 3,33 bc	6,1 ± 0,13 a
ESALQ 1204	51,0 ± 3,48 bc	38,0 ± 2,90 bc	6,1 ± 0,13 a
URPE-6	43,0 ± 5,58 c	32,0 ± 4,42 c	6,2 ± 0,12 a
ESALQ 1022	44,0 ± 3,71 bc	31,0 ± 2,76 c	6,4 ± 0,11 a
4407	24,0 ± 3,05 d	14,0 ± 1,63 d	4,9 ± 0,03 b
E 9	21,0 ± 3,14 d	14,0 ± 2,21 d	5,8 ± 0,07 b
Testemunha	9,00 ± 2,76 e	-	-
	$F_{10; 99} = 30,04^{<0,0001}$	$F_{10; 99} = 24,07^{<0,0001}$	$\chi^2 = 141,68^{<0,0001}$

¹Médias (±EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

²Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si através de análise de sobrevivência pelo método de Kaplan-Meyer (Proc LIFETEST do SAS) e, seguido, de teste de Log-Rank por comparação entre pares de isolados.

Tabela 4. Mortalidade (%) de *L. erysimi* pelos isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae*, nas concentrações de 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios mL⁻¹ e CL₅₀. Temp.: 26 ± 2°C; UR: 70 ± 10%.

Isolado	Concentração (conídios mL ⁻¹)	Mortalidade (%)	χ^2 ¹	$\beta \pm EP$ ²	CL ₅₀ (conídios mL ⁻¹) (IC) ³
CG 001	10^7	76,0 ± 4,98a	16,7	0,51 ± 0,11	1,6 x 10 ⁶ (1,9x10 ⁵ – 1,0x10 ⁹)
	10^6	38,0 ± 5,92b			
	10^5	16,0 ± 4,26c			
	10^4	14,0 ± 4,00c			
	10^3	9,0 ± 2,76c			
		P < 0,0001	P = 0,0008		
CG 30	10^7	66,0 ± 5,81a	2,7	0,63 ± 0,06	3,4 x 10 ⁶ (1,9x10 ⁶ – 6,9x10 ⁶)
	10^6	31,0 ± 5,46b			
	10^5	16,0 ± 3,39bc			
	10^4	6,0 ± 1,63cd			
	10^3	2,0 ± 1,33d			
		P < 0,0001	P = 0,428		

¹ χ^2 = teste qui-quadrado;

² $\beta \pm EP$ = Coeficiente angular da reta ± erro padrão;

³CL₅₀ = Concentração Letal / IC (95%) = Intervalo de Confiança. Significância ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Mortalidade (%) de *L. erysimi* tratado com óleo de Nim (Neemseto) via imersão foliar e pulverização. Temp.: 26 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Aplicação	Concentração Neemseto (%)	Mortalidade (%) ¹
Pulverização	2,0	90,0 ± 5,16 a
Pulverização	1,0	81,0 ± 5,46 ab
Imersão foliar	2,0	79,0 ± 6,04 ab
Imersão foliar	1,0	77,0 ± 7,60 ab
Pulverização	0,5	63,0 ± 6,50 ab
Imersão foliar	0,5	60,0 ± 10,32 b
Testemunha		7,0 ± 3,00c
		$F_{6,63} = 29,54^{<0,0001}$

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 6. Efeito de emulsão de óleo de Nim (Neemseto) sobre o crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade dos isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} Temp.: 26 ± 1 °C, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Isolados	Concentração Neemseto (%)	Crescimento vegetativo ¹ (cm)	Redução (%)	Esporulação ¹ ($\times 10^7/\text{mL}$)	Redução (%)	Viabilidade ¹ (%)	Redução (%)
CG 001	0,125	4,48 \pm 0,08a	+ 0,4	14,54 \pm 0,36a	+ 14,8	99,56 \pm 0,21a	- 0,2
	0,25	4,43 \pm 0,07a	- 0,7	14,18 \pm 1,03a	+ 12,0	98,81 \pm 0,25a	- 0,9
	0,5	4,20 \pm 0,12a	- 5,8	9,26 \pm 0,39b	- 26,9	98,93 \pm 0,32a	- 0,8
Testemunha		4,46 \pm 0,07a	0,0	12,66 \pm 0,28a	0,0	99,68 \pm 0,15a	0,0
		$F_{3;20} = 1,78^{=0,183}$		$F_{3;20} = 18,81^{<0,0001}$		$F_{3;12} = 3,14^{=0,065}$	
CG 30	0,125	4,47 \pm 0,05ab	- 3,5	3,18 \pm 0,24a	+ 7,0	99,68 \pm 0,11ab	+ 0,1
	0,25	4,51 \pm 0,06ab	- 2,6	3,08 \pm 0,32a	+ 3,7	98,12 \pm 0,38bc	- 1,5
	0,5	4,40 \pm 0,05b	- 5,0	2,39 \pm 0,49a	- 19,5	97,31 \pm 0,18c	- 2,3
Testemunha		4,63 \pm 0,05a	0,0	2,97 \pm 0,11a	0,0	99,62 \pm 0,21a	0,0
		$F_{3;20} = 2,92^{=0,059}$		$F_{3;20} = 1,59^{=0,222}$		$F_{3;12} = 15,26^{=0,0002}$	

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 7. Classificação de compatibilidade dos isolados CG 001 de *B. bassiana* e CG 30 de *M. anisopliae*, na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} , com emulsão de óleo de Nim (Neemseto).
Temp.: $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Isolados	Concentração Neemseto (%)	IB ¹	Classificação
CG 001	0,125	106,5	Compatível
	0,25	104,7	Compatível
	0,5	85,6	Compatível
CG 30	0,125	101,4	Compatível
	0,25	100,2	Compatível
	0,5	89	Compatível

¹ Segundo Alves *et al.* 2007, valores de IB (= antigos valores de T segundo Alves *et al.* 1998):
entre 0 e 41 = tóxico; entre 42 e 66 = moderadamente tóxico; e maiores que 66 = compatível.

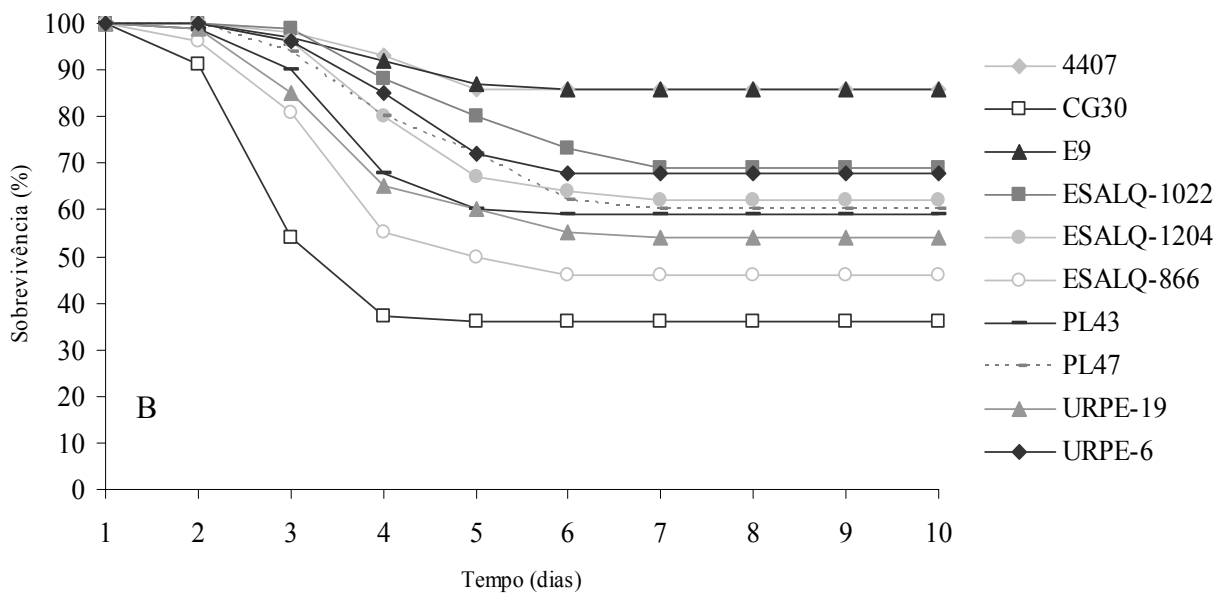
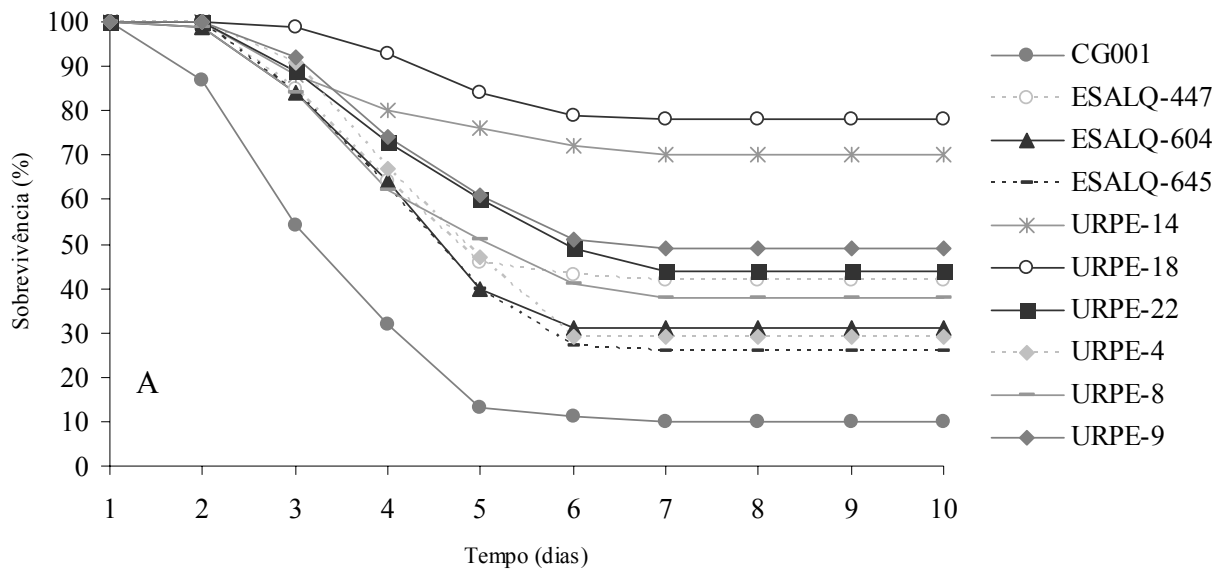


Figura 1. Sobrevivência do pulgão *L. erysimi* tratado com isolados de *B. bassiana* (A) e *M. anisopliae* (B) em 10 dias de avaliação.