

Virulência de fungos entomopatogênicos a *Enneothrips flavens* (Thysanoptera: Thripidae)

Submetido - 28 jul. 2020

Aprovado - 20 set. 2020

Publicado - __ out. 2020



<http://dx.doi.org/10.17648/sas.v1i2.94>

Lucas Adjuto Ulhoa

Agrônomo e Mestre em Agronomia (Fitossanidade) - Universidade Federal de Goiás (UFG), luc2090@gmail.com.

Gabriel Fernandes Rezende

Agrônomo e Mestre em Agronomia - Universidade Federal de Uberlândia (UFU), gabriel.f.rezende@hotmail.com.

Cintia de Melo Gomes

Agrônoma - Universidade Federal de Uberlândia (UFU), cintiamelogomes@gmail.com.

José Ricardo Lima Pinto

Agrônomo e Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola) - Universidade Estadual Paulista (UNESP-FCAV), ricardolima_01@hotmail.com.

Ricardo Antonio Polanczyk

Agrônomo e Doutor em Entomologia - Universidade de São Paulo (USP-ESALQ), rapolanc@yahoo.com.br.

RESUMO

A importância do Brasil como produtor de amendoim tem crescido nos últimos anos principalmente na produção de óleo vegetal e de subprodutos. Embora os produtores tenham adotado sistemas de produção mais eficientes, as perdas causadas por pragas têm sido um grande problema. *Enneothrips flavens* têm sido a principal praga do amendoim no Brasil. O controle de *E. flavens* tem sido realizado utilizando-se produtos químicos sintéticos. Objetivou-se com este trabalho avaliar a patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* de produtos comerciais e da coleção da UNESP/FCAV sobre ninfas de *E. flavens*. Esporos destes fungos, na concentração de 10^8 mL⁻¹ foram aplicados sobre o folíolo de plantas de amendoim contendo 10 ninfas de *E. flavens*. A mortalidade das ninfas foi avaliada após 3, 5 e 7 dias de observação. *M. anisopliae* (ARSEF 3293) e a cepa do produto comercial (Metarril®) apresentaram valores de mortalidade de 34% e 32%, respectivamente. A cepa *B. bassiana* do produto comercial (Boveril®) e a cepa *B. bassiana* (ARSEF 3288) apresentaram valores de mortalidade de 76% e 44%, respectivamente. Os dados obtidos neste trabalho sugerem que os isolados ARSEF 3293 e ARSEF 3288, assim como as cepas comerciais, têm potencial para serem usados como agente de controle biológico de *E. flavens*.

Palavras-chave: Amendoim; Controle biológico; Tripes; *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*.

Virulence of entomopathogenic fungi to *Enneothrips flavens* (Thysanoptera: Thripidae)

ABSTRACT

Brazil's importance as a peanut producer has grown in recent years mainly in the production of vegetable oil and by-products. Although producers have adopted more efficient production systems, the losses caused by pests have been a major problem. *Enneothrips flavens* have

been the main pest of peanuts in Brazil. The control of *E. flavens* has been carried out using synthetic chemicals. The objective of this work was to evaluate the pathogenicity of fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products and from the UNESP / FCAV collection on *E. flavens* nymphs. Spores from these fungi, at a concentration of 10^8 mL⁻¹, were applied to the peanut plant leaflet containing 10 *E. flavens* nymphs. Nymph mortality was assessed after 3, 5 and 7 days of observation. *M. anisopliae* (ARSEF 3293) and the commercial product strain (Metarril®) showed mortality values of 34% and 32%, respectively. The *B. bassiana* strain of the commercial product (Boveril®) and the *B. bassiana* strain (ARSEF 3288) presented mortality values of 76% and 44%, respectively. The data obtained in this work suggest that the isolates ARSEF 3293 and ARSEF 3288, as well as commercial strains, have the potential to be used as a biological control agent for *E. flavens*.

Keywords: Peanut; Biological control; Thrips; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*.

Virulencia de hongos entomopatógenos a *Enneothrips flavens* (Thysanoptera: Thripidae)

RESUMEN

La importancia de Brasil como productor de maní ha crecido en los últimos años principalmente en la producción de aceite vegetal y subproductos. Aunque los productores han adoptado sistemas de producción más eficientes, las pérdidas causadas por las plagas han sido un problema importante. *Enneothrips flavens* ha sido la principal plaga del maní en Brasil. El control de *E. flavens* se ha realizado utilizando productos químicos sintéticos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad de los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* de productos comerciales y de la colección UNESP / FCAV sobre ninfas de *E. flavens*. Se aplicaron esporas de estos hongos, a una concentración de 10^8 mL⁻¹, al folleto de la planta de maní que contenía 10 ninfas de *E. flavens*. La mortalidad de las ninfas se evaluó después de 3, 5 y 7 días de observación. *M. anisopliae* (ARSEF 3293) y la cepa de producto comercial (Metarril®) mostraron valores de mortalidad de 34% y 32%, respectivamente. La cepa *B. bassiana* del producto comercial (Boveril®) y la cepa *B. bassiana* (ARSEF 3288) presentaron valores de mortalidad de 76% y 44%, respectivamente. Los datos obtenidos en este trabajo sugieren que los aislados ARSEF 3293 y ARSEF 3288, así como las cepas comerciales, tienen potencial para ser utilizados como agente de control biológico de *E. flavens*.

Palabras clave: Maní; Control biológico; Trips; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*.

Introdução

O amendoim (*Arachis hypogaea*, L.) faz parte da cultura brasileira e são consumidos principalmente na forma de grãos, torrados ou cozidos. Os frutos do amendoim (*Arachis hypogaea*, L.) são importante fonte de energia pois são ricos em lipídeos, proteínas e vitaminas (MACÊDO, 2007). No Brasil, na safra 2019/2020, foram produzidas aproximadamente 422.2 mil toneladas de amendoim sendo que 406.50 mil foram produzidas no Estado de São Paulo, o que representa 96% da produção nacional (CONAB, 2020). A produção de amendoim no Brasil tem aumentado nos últimos anos e o país ocupa atualmente a décima primeira posição mundial.

O aumento na produção de amendoim no Brasil se deve principalmente ao uso de cultivares mais produtivas, adoção de sistemas de produção tecnificados e a redução dos custos de produção agrícola. Entretanto, fatores tais como clima e ocorrência de pragas têm causado perdas significativas na produção. O tripses-do-prateamento *Enneothrips flavens* Moulton (Thysanoptera: Thripidae) tem sido descrito como a principal praga do amendoim (*Arachis hypogea* L.) no Brasil (MONTEIRO; MOUND; ZUCCHI, 2000). O ciclo de vida de *E. flavens* dura cerca de 13 dias, passando pelos estágios de ovo, dois estágios imaturos (ninfas I e II), dois estágios quiescentes (pré-pupa e pupa) e adultos (MOUND; TEULON, 1995).

Os insetos podem afetar as diferentes partes da planta, tais como folhas, raízes, vagens e sementes (SANTOS; FREIRE; SUASSUMA, 2007). Esta praga causa prejuízo em decorrência do ataque aos folíolos jovens das plantas, que quando se abrem evidenciam estrias e deformações, apresentando aspecto de prateamento (MORAES *et al.*, 2005).

Alguns autores observaram que dependendo da cultivar, a falta de controle de *E. flavens* reduz a emissão de brotos e o desenvolvimento vegetativo das plantas (LOURENÇÃO *et al.*, 2007). Quando não controlada, essa praga é capaz de reduzir a produtividade em até 62,7%, dependendo a população do inseto, da cultivar utilizada e do local de plantio (MORAES *et al.*, 2005).

O método de controle largamente usado para redução de populações da praga é o químico, aplicado de forma calendarizada a cada 15 dias durante todo o desenvolvimento da cultura (MICHELOTTO *et al.*, 2017). Porém, o comportamento de se alojar no interior de folíolos fechados reduz a eficiência do controle químico, uma vez que não têm contato direto com o produto. O uso de inseticidas sistêmicos tem sido o mais utilizado por ser mais eficiente no controle de pragas. O uso destes defensivos traz problemas de impacto ambiental, custos de produção e principalmente resistência da praga a diferentes inseticidas.

Esse cenário força a busca por estratégias diversificadas de controle, como a resistência de genótipos de amendoim (BOIÇA JÚNIOR *et al.*, 2012; MICHELOTTO *et al.*, 2017; PIROTTA *et al.*, 2017). Entretanto, alguns autores relatam a dificuldade de obtenção desses genótipos, pois os materiais comerciais diferem em número de cromossomos daqueles silvestres que possuem alta resistência a pragas (ROBLEDO; SEIJO, 2008; 2010).

Outra estratégia importante é a utilização do manejo integrado de pragas através do controle biológico utilizando microrganismos. Dentre os fungos entomopatogênicos, *B. bassiana* e *M. anisoplae* tem sido os mais estudados nas pesquisas e utilizados nas formulações de produtos comerciais (LITWIN; NOWAK, RÓŻALSKA, 2020).

O uso de controle biológico de *E. flavens* na cultura do amendoim foi relatado apenas com o uso de predadores da família Chrysopidae (RODRIGUES *et al.*, 2014). Neste trabalho os autores observaram que as plantas que receberam ovos embrionados e larvas de primeiro instar de *Chrysoperla externa* apresentaram redução significativa no número médio de tripes (RODRIGUES *et al.*, 2014).

Entretanto, em outras espécies de tripes já foi relatado o uso de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) (LEE *et al.*, 2017) e *Metarhizium anisoplae* (Mestch.) (LOPES; ALVES; TAMAI, 2000; VESTERGAARD *et al.*, 1995) em culturas de tomate, pepino e alface. Os estudos mostraram que estes fungos foram capazes de causar 90% de mortalidade de *Frankliniella occidentalis*, valores semelhantes aos obtidos com o emprego de controle químico.

No Brasil produtos à base destes fungos têm sido utilizado em programas de controle biológico de pragas em diferentes culturas. O desenvolvimento de um programa de controle biológico de pragas depende do isolamento e caracterização de novos isolados de fungos entomopatogênicos e deve ser a etapa inicial. Nesse contexto, objetivou-se com este trabalho avaliar a suscetibilidade de *E. flavens* aos fungos

entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* da coleção do Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga da UNESP/FCAV e de dois produtos comerciais.

Material e métodos

Coleta de *Enneothrips flavens*

Ninfas de *E. flavens* foram obtidas de plantas de amendoim (*Arachis hypogea* L.) cultivadas em áreas comerciais na região de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Tendo sido constatada infestação de tripes na área, folíolos fechados foram coletados e acondicionados em placas de Petri providas de algodão hidrofílico úmido, objetivando preservar o turgor dos folíolos.

Fungos entomopatógenos

Foram testados dois produtos comerciais formulados com *Beauveria bassiana* (Boveril®) e *Metarhizium anisopliae* (Metarril®), ambos fornecidos pela empresa Koppert Brasil – Produtos Biológicos (Piracicaba, São Paulo, Brasil). Foram também utilizados isolados provenientes do Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga da UNESP/FCAV, *Beauveria bassiana* (ARSEF 3288) e *Metarhizium anisopliae* (ARSEF 3293). Para todos os isolados utilizados foi realizado teste de viabilidade, no qual foi obtido valores acima de 70%.

Os isolados usados neste trabalho foram multiplicados em placas de Petri contendo meio BDA (Batata, dextrose, ágar) e incubadas a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotoperíodo, por sete dias. Após esse tempo, 10 mL de água destilada esterilizada contendo Tween® 80 (0,01%) foram adicionados nas placas e os conídios coletados por raspagem da superfície do meio de cultura. A suspensão obtida foi diluída em solução salina (0.9%) e a quantidade de conídios contadas em uma câmara de Neubauer afim de padronizar a concentração em 1×10^8 conídios/mL.

Teste de patogenicidade

Para determinar a patogenicidade indireta de isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* a *E. flavens* quando aplicado sobre o folíolo, foi montado experimento com parcelas compostas por 10 ninfas e cada tratamento replicado 10 vezes. Os tratamentos utilizados são: (i) – isolado *M. anisopliae* (ARSEF 3293) contendo 10^8 conídios/ mL + adjuvante (0,05%); (ii) – produto comercial *M. anisopliae* (Metarril®) contendo 10^8 conídios/ mL + adjuvante (0,05%); (iii) – isolado *B. bassiana* (ARSEF 3288) contendo 10^8 conídios/ mL + adjuvante (0,05%); (iv) – produto comercial *B. bassiana* (Boveril®) contendo 10^8 conídios/ mL + adjuvante (0,05%); (v) – testemunha (água destilada + adjuvante (0,05%)).

As ninfas foram dispostas em folíolos, sendo que cada folíolo abrigará 10 ninfas de *E. flavens*, sendo em sequência colocado em placas de Petri de 90 mm de diâmetro sobre papel filtro. Foi aplicado 1 mL de suspensão de conídios de *M. anisopliae* ou *B. bassiana* com o auxílio da Torre de Potter. Os folíolos infestados foram colocados em placas de Petri de 70 mm de diâmetro contendo folíolos de amendoim e foram selados com plástico filme para manter a umidade. No tratamento controle as ninfas foram pulverizadas com água destilada e adjuvante (0,05%) (ADAPTADO DE THUNGRABEAD, 2007).

As placas de Petri foram colocadas em B.O.D. regulada a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 60 – 70% U. R. e fotoperíodo de 13L:11E (GAO, 2012).

As avaliações de mortalidade confirmada e observada foram realizadas após 3, 5 e 7 dias após a aplicação dos tratamentos, pela observação de esporulação na camada externa do inseto. Para essa avaliação os folíolos foram abertos com o uso de pinças de pontas finas.

Análise estatística

As comparações entre as medias foram feitas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa estatístico Statistical Analysis System (SAS) (SAS, 2015).

Resultados e discussão

Durante o ciclo fenológico da cultura do amendoim diversos insetos e ácaros podem ocorrer, atacando tanto raízes quanto a parte aérea das plantas. As principais pragas de parte aérea são causadas por *E. flavens*, *Caliothrips brasiliensis* e *Frankliniella shultzei* (DALVA, 2016). Neste trabalho foi comparado a virulência de *B. bassiana* (ARSEF 3288) e *M. anisopliae* (ARSEF 3293), da coleção da UNESP/FCAV, com dois produtos comercializados no Brasil a base destes fungos.

Os isolados dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram capazes de colonizar as ninfas de *E. flavens*. No levantamento inicial, realizado após 3 dias de aplicação da suspensão de conídios dos isolados (10^8 conídios mL⁻¹) observamos uma mortalidade significativa das ninfas de *E. flavens*, principalmente nos tratamentos com o produto comercial Boveril. O isolado comercial e o ARSEF 3293 de *M. anisopliae* provocaram uma morte de 24 e 16% das ninfas, respectivamente (Figura 1A). O isolado comercial e o ARSEF 3288 de *B. bassiana* provocaram uma morte de 38 e 20%, respectivamente. Enquanto na testemunha houve uma morte de 4% das ninfas *E. flavens*.

Após 5 dias de aplicação o isolado comercial e o ARSEF 3293 de *M. anisopliae* provocaram uma morte de 30 e 28% das ninfas, respectivamente (Figura 1B). O isolado comercial e o ARSEF 3288 de *B. bassiana* provocaram uma morte de 40 e 24%, respectivamente. Enquanto na testemunha houve uma morte de 10% das ninfas *E. flavens*.

No levantamento final, realizado após 7 dias de aplicação da suspensão de esporos o isolado comercial e o ARSEF 3293 de *M. anisopliae* provocaram uma morte de 34 e 32% das ninfas, respectivamente (Figura 1C). O isolado comercial e o ARSEF 3288 de *B. bassiana* provocaram uma morte de 76 e 44%, respectivamente (Figura 1C). Enquanto na testemunha houve uma morte de 12% das ninfas *E. flavens* (Figura 1C). De modo geral o isolado de *B. bassiana* do produto comercial Boveril apresentou as maiores médias, quando comparadas aos outros tratamentos (Figura 1).

Os resultados obtidos mostraram que o isolado de *M. anisopliae* (ARSEF 3293 da coleção da UNESP/FCAV) foi eficiente na mortalidade das ninfas de *E. flavens* com valores comparados com aqueles obtidos com o produto comercial (Metarril®). Entretanto, o isolado de *B. bassiana* do produto comercial (Boveril®) foi mais eficiente na mortalidade das ninfas de *E. flavens*, quando comparado com o isolado de *B. bassiana* (ARSEF 3288). Em geral isolados de *B. bassiana* foram mais virulentos do que os isolados de *M. anisopliae*.

Resultados semelhantes foram encontrados por DHYEGO et al. (2014) que avaliaram o potencial de 49 isolados dos fungos entomopatogênicos das espécies *B. bassiana* e *M. anisopliae*, contra lagartas de *Spodoptera frugiperda*. Os autores concluíram que os isolados de *B. bassiana* apresentaram maior patogenicidade contra lagartas de *S. frugiperda* quando comparado com isolados de *M. anisopliae*.

Os produtos comerciais que apresentam conídios dos fungos *B. bassiana* e *M. anisoplae* são muito utilizados e eficientes para o controle biológico de diversas pragas (LITWIN et al., 2020). Seus conídios podem penetrar na cutícula do inseto e são mediados pela ação de enzimas hidrolíticas (proteases e quitinases) e metabolitos secundários. Depois de atravessar a cutícula dos hospedeiros, formam-se tubos germinativos e hifas que atravessam o tegumento e chegam até a hemolinfa matando o inseto (LITWIN et al., 2020).

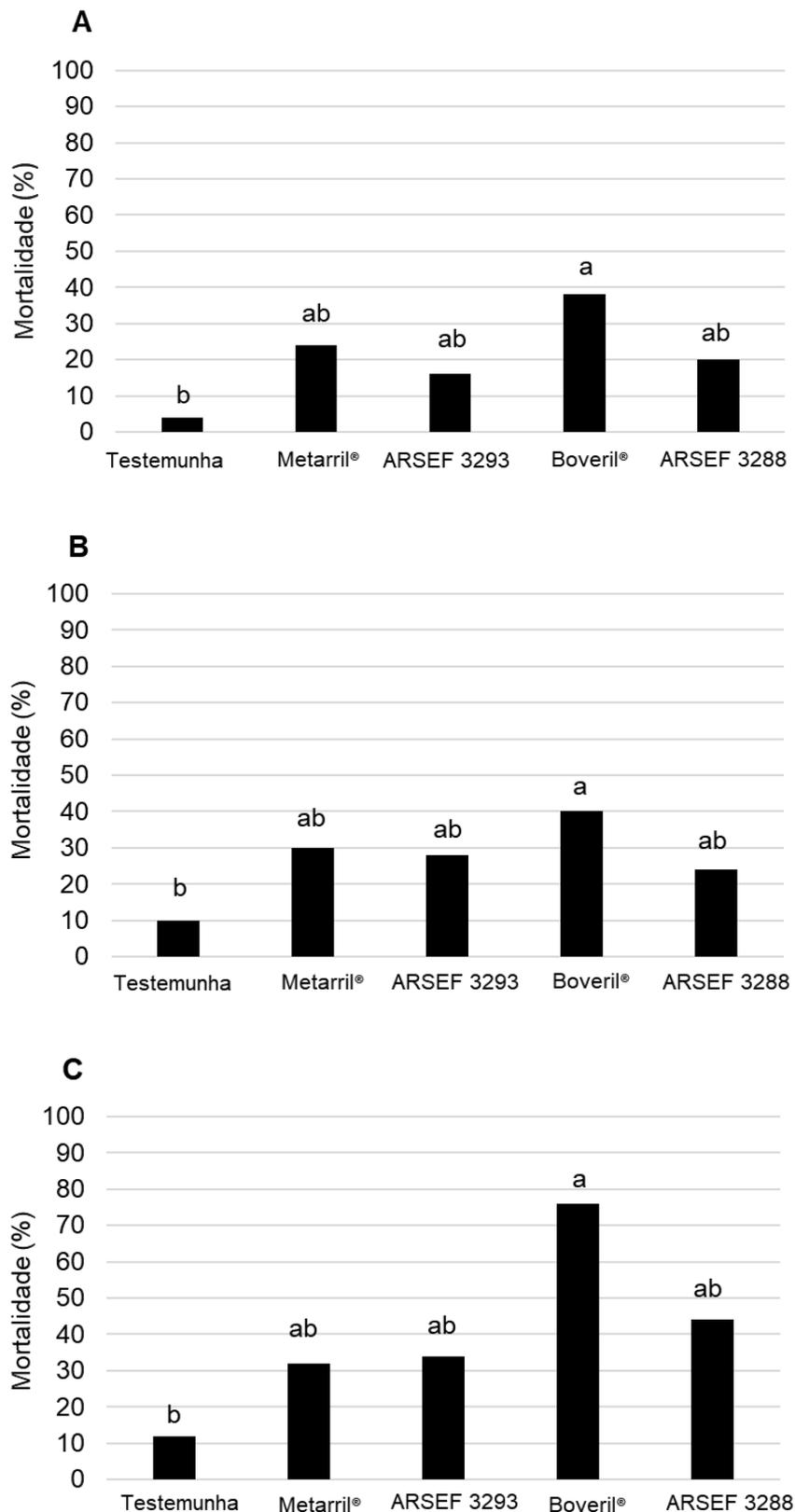


Figura 1. Mortalidade (%) de ninfas de *Enneothrips flavens* com 3 dias (A), 5 dias (B) e 7 dias (C) após a aplicação dos fungos entomopatogênicos. Médias com a mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que os isolados *M. anisopliae* (ARSEF 3293) e *B. bassiana* (ARSEF 3288) possuem potencial para serem utilizados como agentes de controle biológico de *E. flavens*. Entretanto, outros trabalhos precisam ser feitos para avaliar os mecanismos de ação destes isolados contra *E. flavens*, custo de produção em escala comercial, vida útil dos esporos, desenvolvimento de formulações e tempo de prateleira para que possam ser utilizados como produto comercial.

Agradecimentos

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio a esta pesquisa e a empresa Koppert pelo fornecimento dos produtos comerciais.

Referências

BOIÇA-JÚNIOR, Arlindo Leal *et al.* Avaliação de resistência de cultivares de amendoim de hábito de crescimento rasteiro a *Enneothrips flavens* Moulton (Thysanoptera: Thripidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 1, p. 33-38, 2012.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, V. 7 - Safra 2019/20 - Décimo levantamento, Brasília, p. 1-31. julho 2020.

DALVA, Gabriel. Pragas do amendoim. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, V. 26, p. 1-25, 2016.

DHYEGO, Thomazoni; FORMENTINI, Marina Andressa; ALVES, Luis Francisco Angeli. Patogenicity of entomopathogenic fungi to *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto de Biologia**, [s.l.], v. 81 (2), p. 126-133, 2014

LEE, Se Jin *et al.* Entomopathogenic *Beauveria bassiana* granules to control soil-dwelling stage of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). **Biocontrol**, [s.l.], v. 62 n, 5, p. 639–648, 2017.

LITWIN, Anna; NOWAK, Monika; RÓŻALSKA, Sylwia. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, [s.l.], v. 19, 23–42, 2020.

LOPES, Rogério Biaggioni; ALVES, Sérgio Batista; TAMAI, Marco Antonio. Fungo *Metarhizium anisopliae* e o controle de *Frankliniella occidentalis* em alface hidropônico. **Scientia Agricola**. [online], v. 57 (2), p. 239-243, 2000.

LOURENÇÃO, André Luiz *et al.* Fitossanidade efeito da infestação de *Enneothrips flavens* moulton sobre o desenvolvimento de cultivares de amendoim. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.4, p.623-636, 2007.

MICHELOTTO, Marcos Doniseti *et al.* Resistance to thrips (*Enneothrips flavens*) in wild and amphidiploid *Arachis* species. **Plos One**, [s.l.], v. 12, n. 5, p. e0176811, 2017.

MONTEIRO, Renata; MOUND, Laurence; ZUCCHI, Roberto Antônio. Thrips (Thysanoptera) as pests of plant production in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, [s.l.], v. 43, p.163-171, 2000.

MORAES, Andrea Rocha Almeida *et al.* Infestation by *Enneothrips flavens* Moulton and yield of peanut cultivars. **Scientia Agricola**, [s.l.], v. 62, n. 5, p. 469-472, 2005.

MOUND, Laurence; TEULON, David Austin John. Thysanoptera as phytophagous opportunists. In: PARKER, B. L.; SKINNER, M; LEWIS, T. (Ed.). Thrips biology and management. New York: Plenum Publishing Corporation, 1995. p.3-20.

PIROTTA, Maria Zacarelli *et al.* Resistance to *Enneothrips flavens* Moulton and genetic parameters estimation in interspecific genotypes of peanut. **Acta Scientiarum. Agronomy**, [s.l.], v. 39, n. 3, p. 339-348, 2017.

ROBLEDO, Germán; SEIJO, Guillermo. Characterization of the *Arachis* (Leguminosae) D genome using fluorescence in situ hybridization (FISH) chromosome markers and total genome DNA hybridization. **Genetics and Molecular Biology**, [s.l.], v. 31, n.3, p. 717-724, 2008.

ROBLEDO, Germán; SEIJO, Guillermo. Species relationships among the wild B genome of *Arachis* species (section *Arachis*) based on FISH mapping of rDNA loci and heterochromatin detection: a new proposal for genome arrangement. **Theoretical and Applied Genetics**, [s.l.], v. 121, n. 6, p. 1033-1046, 2010.

RODRIGUES, Camilla Alves *et al.* Dynamics and predation efficiency of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) on *Enneothrips flavens* (Thysanoptera: Thripidae). **Florida Entomologist**, [s.l.], v. 97, n. 2, p. 653-658, 2014.

SANTOS, Roseane Calvacanti; FREIRE, Rosa Maria Mendes; SUASSUNA, Tais de Moraes Falleiro. Amendoim : o produtor pergunta, a Embrapa responde / editores técnicos, - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 240 p. il. ; 22 cm - (Coleção 500 perguntas, 500 respostas).

SAS Institute (2015) SAS/IML 14.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc

VESTERGAARD, Susanne *et al.* Pathogenicity of the hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. **Biocontrol Science and Technology**, [s.l.], v.5, p. 185–192, 1995.