

EPIZOOTIA EM LARVAS DE *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758) CAUSADA POR *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., COM ESTUDOS DE IDENTIFICAÇÃO E SINTOMATOLOGIA<sup>1</sup>

M.E.M. HABIB<sup>2</sup> C.F. ANDRADE<sup>3</sup>

ABSTRACT

Epizooty in larvae of *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758) caused by *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., with studies of identification and symptomatology

Occurrence of a fungal disease in larvae of *Brassolis sophorae* was reported in Campinas, SP. The fungus was isolated, purified and identified as *Beauveria bassiana*. The virulence of this fungus, its growth in artificial media and the pre-mortem and post-mortem symptoms were studied.

INTRODUÇÃO

As larvas do gênero *Brassolis* (Brassolidae, Lepidoptera) são gregárias, noturnas e durante o dia ficam abrigadas num cartucho feito com pínulas da planta hospedeira unidas com fios de seda.

Vários autores tem salientado a importância das espécies deste gênero como pragas de palmeiras e coqueiros no Brasil (BONDAR, 1940; CAMPOS, 1920; ROSA, 1926; TRAVASSOS F<sup>o</sup> & CARRERA, 1941; MACEDO, 1943; PIZA JR. & ZAMITH, 1944; GONÇALVES, 1946; LORDELO, 1949 e 1952; MARICONI, 1952; MARICONI & ZAMITH, 1954) e em outros países da região neotropical (CLEARE & SQUIRE, 1934; BREYER, 1939).

A ocorrência de *Brassolis sophorae* e *B. astyra* no Norte e Nordeste do Brasil, região de coqueirais e carnaubais economicamente importantes a essas regiões, torna relevante o seu estudo no contexto das pragas agrícolas do Brasil.

Além da ocorrência em palmeiras, PYENSON (1938) registrou a espécie *B. sophorae* em bananeiras no Estado de Pernambuco e MONTE (1934) em bananeiras e cana-de-açúcar em Minas Gerais.

Muitos são os inimigos naturais do gênero *Brassolis* no Brasil e no exterior. MARICONI & ZAMITH (1954) alistaram 17 parasitos de *B. sophorae* e *B. astyra*, sendo que 13 ocorrem na fauna brasileira. PIZA JR & ZAMITH (1944), TRAVASSOS F<sup>o</sup> & CARRERA (1941) e LORDELO (1952) menciona

<sup>1</sup>Trabalho apresentado no 4º Congresso da SEB, Goiânia, GO, 1977.

<sup>2</sup>Departamento de Zoologia, UNICAMP.

<sup>3</sup>Aluno de Pós-Graduação do Departamento de Zoologia, UNICAMP.

ram a importância do Tachinidae, *Xanthozona melanopyga*, como parasito de Brassolidae. Outros autores citam o parasitismo gregário do Chalcididae, *Spilochalcis morleyi*, no Brasil e no exterior (SCHROTTKY, 1909; WALTERSTON, 1923; SAUER, 1946).

A ocorrência de fungo entomógeno nas larvas do gênero *Brassolis* foi relatada em 1954 por MARICONI & ZAMITH, que obtiveram, em Piracicaba (SP), dois ninhos com todas as larvas mortas por um fungo do gênero *Beauveria*.

*Beauveria bassiana*, o fungo mais usado atualmente no controle biológico de insetos, foi registrado pela primeira vez por FORBES em 1895, como inimigo natural do percevejo *Blissus leucopterus*. O número de espécies de insetos susceptíveis até 1964, nos Estados Unidos, chegou a 175 (DeBACH, 1969).

BAIRD (1958a e 1958b) alistou 41 tentativas bem sucedidas no controle de 28 espécies de insetos usando-se fungos entomógenos, a maioria através de *Beauveria bassiana* e *Metarrhizium anisopliae*.

O presente trabalho traz observações feitas a partir de uma epizootia em larvas de *B. sophorae* no Município de Campinas, SP. A capacidade do fungo causador da doença como inimigo natural motivou o isolamento, identificação e o estudo dos sintomas pré- e pós-mortais, além da morfologia do fungo e a sua capacidade de crescimento em meios artificiais. Tais observações e estudos representam uma iniciativa das investigações sobre a capacidade deste fungo como agente no controle biológico tanto de larvas de Brassolidae como também de outras pragas agrícolas brasileiras.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Em fevereiro de 1976, foi recebido do Prof. Dr. Francisco Mariconi, um ninho de larvas de *Brassolis* sp. coletado no parque da ESALQ, Piracicaba, SP., contendo todas as larvas mortas e mumificadas pela ação de um fungo. Falharam todas as tentativas de isolamento do fungo por falta de condições adequadas de laboratório e aparecimento de contaminação incontrolável. As larvas não utilizadas nas tentativas de isolamento foram guardadas a seco, na geladeira, a 6-8°C.

Em setembro do mesmo ano, foi coletado em palmeiras ornamentais, no Campus da UNICAMP, Campinas, SP., 2 ninhos de *Brassolis sophorae*. O primeiro continha várias larvas principalmente de penúltimo e último estádios; algumas com suspeitas de doença. O segundo ninho, continha 72 larvas a maioria nos últimos estádios. Algumas estavam mumificadas e outras com aspectos anormais em diferentes graus. No mesmo período, foram coletados dois ninhos sadios da mesma espécie, cujas larvas foram mantidas isoladas em criação no laboratório.

Os ninhos foram abertos e fotografados. As larvas foram avaliadas e agrupadas do ponto de vista das semelhanças e diferenças externas, quanto à cor, consistência, atividade e grau de crescimento do fungo, quando já o apresentavam.

Após análise inicial dos sintomas, as larvas não totalmente fungadas foram colocadas em vidros, isoladamente, à temperatura do laboratório. Algumas larvas mumificadas foram acondicionadas em vidros com glicerina P.A. e glicerina comercial (BURGES & HUSSEY, 1971), sem qual

quer agente bactericida ou bacteriostático. Outras larvas também mumificadas foram guardadas a seco em vidros contendo aproximadamente 5 gramas de sílica gel embrulhadas em papel alumínio perfurado; todos esses vidros tampados com tampas de plástico, lacrados com parafina e guardados na geladeira a 6-8°C.

Para se avaliar a virulência do fungo, aplicar os postulados de Koch e determinar a sequência dos sintomas, foram infectadas, por conta to, 20 larvas sadias de último estágio e um número igual de larvas foi utilizado como testemunha. Os dois lotes de larvas foram alimentados com folhas verdes e limpas de palmeira. As observações foram feitas diariamente adotando-se o critério de STEINHAUS & MARSH (1962) e STEINHAUS (1963).

O isolamento do fungo foi feito em tubos de ensaio e placas de Petri com meios Batata Dextrose Agar (BDA), completo (AZEVEDO & COSTA, 1973) e meio de farinha de milho (variedade Nutrimaiz, sintética criada pelo Prof. Dr. William J. da Silva, Departamento de Genética, UNICAMP); este último meio, formulado pelos autores, apenas farinha e água (2,5:1).

A identificação do fungo foi confirmada pelo Prof. Dr. Donald M. MacLeod, micologista do "Canadian Forestry Service, Insect Pathology Research Institute".

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### SINTOMAS:

Da análise das larvas doentes coletadas e da doença provocada nas larvas infectadas no laboratório, pode-se determinar a seguinte sequência de sintomas (Figura 1):

Após 24 horas da infecção por contato, as larvas estavam vivas, apresentavam movimentos mais lentos, ainda se alimentavam e a coloração estava pouco alterada. Após 48 horas, as larvas ainda vivas não se movimentavam (a não ser quando perturbadas), estavam mais flácidas, a coloração dorsal era mais escura, opaca e ventralmente estavam rosadas ou verde-amareladas. A partir desse dia não mais se alimentaram. Com 72 horas de infecção, as larvas, em geral, mostraram flacidez e paralisia geral com leve cheiro desagradável. A coloração ventral era nitidamente rósea. No quarto dia, as larvas já mortas, apresentavam uma rigidez marcante, tendo algumas endurecido retas e outras com uma ou mais dobras no corpo. No quinto dia, notava-se pontos brancos conspicuos (fungo emergido do tegumento da larva) nos espiráculos, entre as pernas torácicas, no *cervice* e no aparelho bucal. A partir desses pontos o crescimento micelial branco tomou todo o corpo das larvas, seguindo para as membranas intersegmentares, região ventral, dorsal, cabeça e por último a região posterior do corpo. Dessa forma em 7 a 8 dias, as larvas encontram-se totalmente mumificadas (Figura 2). A temperatura e a umidade relativa médias, no laboratório, durante as observações, foram de 19,94°C e 63,49% respectivamente.

Quanto à virulência do fungo, tanto os dois ninhos coletados cujas larvas estavam doentes, como também, as larvas infectadas no laboratório morreram e mumificaram-se. Em relação à testemunha, todos os indi-

vídios se desenvolveram e chegaram ao estágio adulto. Assim, a mortalidade, devido à infecção pelo fungo, é de 100%, o que demonstra alta virulência em larvas de *Brassolis sophorae*.



FIGURA 1 - Sequência dos sintomas externos e do desenvolvimento de *Beauveria bassiana* em larvas de *Brassolis sophorae*.



FIGURA 2 - Larvas de *Brassolis sophorae* mortas e totalmente cobertas por *Beauveria bassiana*.

## ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO:

O isolamento do fungo foi conseguido a partir de larvas que mumificaram no laboratório, o que deve ter reduzido o aparecimento de contaminação. As técnicas empregadas permitiram a obtenção de colônias púras em meio completo e meio BDA.

A identificação foi feita com o auxílio do trabalho de MACLEOD (1954). A comparação de fotografias e desenhos de crescimento micelial, conidióforos e conídios com as do trabalho permitiu a conclusão de se tratar de um fungo do gênero *Beauveria*. O critério usado foi a típica distribuição em zig-zag dos conídios no conidióforo e a forma dos conídios (Figuras 3 e 4), além de dados sobre o crescimento das colônias em meios de cultura e nos insetos hospedeiros (STEINHAUS, 1963; DEBACH, 1969; BURGESS & HUSSEY, 1971).

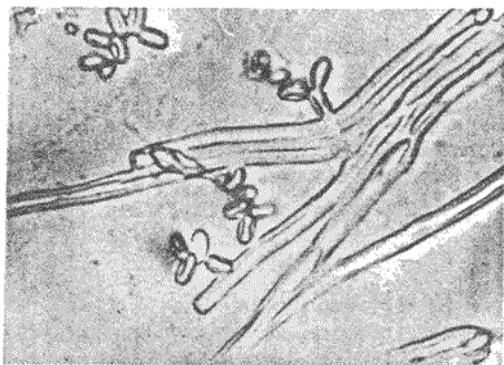


FIGURA 3 - Aspecto geral de hifa e conidióforo de *Beauveria bassiana*.



FIGURA 4 - Típica distribuição de conídios de *Beauveria bassiana*.

A confirmação da identificação foi feita pelo Prof. Dr. Donald MacLeod, a quem foram enviadas amostras, como sendo um típico exemplo de *Beauveria bassiana*. O fungo encontra-se cadastrado no "Insect Pathology Research Institute, Ontario" sob número 613.

#### CRESCIMENTO EM MEIOS ARTIFICIAIS:

Os meios usados na produção de microorganismos em larga escala devem ser econômicos e nutritivos, principalmente no caso da indústria de agentes de controle biológico. Assim, os meios usados com esta finalidade devem ser, via de regra, diferentes dos usados em práticas laboratoriais.

Foi usado no presente trabalho o meio clássico (BDA) no isolamento e identificação do fungo. Também foi utilizado o meio completo de fungo (AZEVEDO & COSTA, 1973), porém trata-se de um meio mais caro que o (BDA) e não apresentou diferença significativa no crescimento.

FORBES (1895) foi o primeiro a usar o meio de farinha de milho enriquecido com caldo de carne na produção de *Beauveria bassiana* em larga escala.

O meio de farinha de milho (var. Nutrimaiz) e água (proporção, 2,5 : 1), formulada pelos autores e usada no presente trabalho, resultou em crescimento maior e mais rápido do que os outros dois meios mencionados anteriormente e trata-se, sem dúvida, de um meio mais econômico.

Sugere-se estudos comparativos sobre o efeito de reinoculações, contínuas, na esporulação e na virulência do fungo, nos três meios mencionados anteriormente.

#### LITERATURA CITADA

- AZEVEDO, J.L. & COSTA, S.O.P. *Exercícios práticos de genética*. São Paulo, Editora Nacional, Ed. USP, 1973. 288p.
- BAIRD, R.B. Field experiments with *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter). *Canadian Ent.*, 90:89-91, 1958-a.
- \_\_\_\_\_. Use of fungous diseases in biological control of insects. International Congress of Entomology, 109, Montreal, 1956. *Proceedings*. Montreal, 1958-b. v.4. p. 689-692.
- BONDAR, G. *Insetos nocivos e moléstias do coqueiro (Cocos nucifera) no Brasil*. Bahia, Instituto Central From. Econ., 1940. 160p.
- BREYER, A. Los representantes Argentinos de la Familia Brassolidae. *Physis*, B. Aires, 17:495-502, 1939.
- BURGES, H.D. & HUSSEY, N.W. *Microbial control of insects and mites*. London, Academic Press, 1971. 861p.
- CAMPOS, J.N. Dois belos parasitas das palmeiras. I. Escaravelho que destrói bulbos de palmeirinhas (*Dynaster = Megalosoma hector*) II. Lagarta das palmeiras (*Brassolis sophorae*, Lin.). *B. Agric.*, S. Paulo, 21(1-3):186-200, 1920.
- CLEARE, L.D. & SQUIRE, F.A. The coconut caterpillar, *Brassolis sophorae* L. (Lep. Brassolidae) in British Guiana. *Agric. J. Brit. Guiana*, (Georgetown), 5(3):166-199, 1934.
- DeBACH, P. *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*.

- México, Continental, 1969. 949p.
- FORBES, S.A. *On contagious disease in the chinch-bug (Blissus leucopterus, Say). Illinois State Entomol. 19th Rept., 16:176, 1895.*
- GONÇALVES, C.R. Males da Carnauba no Ceará e no Piauí. *B. Fitos., Rio de Janeiro, 3(3-4):145-170, 1946.*
- LORDELO, L.G.E. *Brassolis sophorae lurida* Stich, Séria praga de palmáceas. *Sit. e Faz., São Paulo, 14(11):9-11, 1949.*
- \_\_\_\_\_. Sobre os inimigos naturais da lagarta das palmáceas, *Brassolis sophorae sophorae* (L.) (Lep. Brassolidae). *An. Esc. Sup. Agric. "L. Queiroz", Piracicaba, 9:23-30, 1952.*
- MACEDO, A. Pelo aumento da produção do coqueiro na Paraíba. *B. M. nist. Agric., Rio de Janeiro, 32(9):27-44, 1943.*
- MACLEOD, D.M. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber. *Can. J. Botany, 32:818-890, 1954.*
- MARICONI, F.A.M. As lagartas das palmeiras. A- *Brassolis sophorae* (Linneu, 1758); B- *Brassolis astyra* Godat, 1821. *O Biol., São Paulo, 18(6):103-107, 1952.*
- \_\_\_\_\_. & ZAMITH, A. Contribuição para o conhecimento da *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758), *B. astyra* Godart, 1821 (Lep., Brassolidae) e de seus inimigos naturais. *An. Esc. Sup. Agric. "L. Queiroz", Piracicaba, 11:160-222, 1954.*
- MONTE, O. Borboletas que vivem em plantas cultivadas. *Secret. Agric. Est. M. Gerais, Serv. Agric., 21(8):222, 1934.*
- PIZA JUNIOR, S.T. & ZAMITH, A. Contribuição para o conhecimento da organização e da biologia de *Brassolis sophorae* (Lep., Brassolidae) e de seu parasita *Xanthozona melanopyga* (Dip., Tachinidae). *R. Agric., Piracicaba, 19(5-6):204-220, 1944.*
- PYENSON, L. The problems of Applied Entomology in Pernambuco, Brazil. Part II. A survey of some of the pests of the crops of Pernambuco. *R. Entomol., Rio de Janeiro, 9(1-2):16-31, 1938.*
- ROSA, M. Lepidópteros do Norte do Brasil. *B. Museu Nac., Rio de Janeiro, 2(4):23-24, 1926.*
- SAUER, H.F.G. Constatação de himenópteros e dípteros entomófagos no Estado de São Paulo. *B. Fitos., Rio de Janeiro, 3(1):7-23, 1946.*
- SCHROTTKY, C. Hymenoptera Nova. *An. Soc. Cient. Argent., B. Aires, 67:209-228, 1909.*
- STEINHAUS, E.A. & MARSH, G.A. Report of Diagnosis of diseased insects, 1951 - 1961. *Hilgardia, 33(9):349-490, 1962.*
- \_\_\_\_\_. *Insect pathology: an advanced treatise*: London, Academic Press, 1963. v.2. 689 p.
- TRAVASSOS FQ, L. & CARRERA, M. *Xanthozona melanopyga* (Wiedemann, 1830) (Diptera, Tachinidae) Predadora de *Brassolis astyra* Godart, 1821 (Lepidoptera, Brassolidae), praga das palmeiras. Dados bionômicos dos dois insetos e morfológicos do taquinídeo. *Arq. Zool. Est. São Paulo, 3:43-74, 1941.*
- WATERSTON, J. Notes on parasitic Hymenoptera. *Bull. Entomol. Res., London, 14(1):103-118, 1923.*

## RESUMO

Foi observada a ocorrência de epizootia em larvas de *Brassolis sophorae* causada por um fungo entomôgeno no Município de Campinas, SP. O fungo foi isolado, purificado e identificado como *Beauveria bassiana*.

Foram estudados a virulência, o crescimento do fungo em meios artificiais e os sintomas externos pré e pós-mortais.