

FL 05294

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 47

ISSN 1809-5003
Dezembro, 2010

**Metodologias de Inoculação de
Beauveria bassiana para Avaliação
da Virulência em Adultos de
Cosmopolites sordidus
(Coleoptera: Curculionidae)**



ISSN 1809-5003

Dezembro, 2010

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 47

Metodologias de Inoculação de *Beauveria bassiana* para Avaliação da Virulência em Adultos de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae)

Miguel Michereff Filho

Marilene Fancelli

Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves

Myrian Silvana Tigano

Rogério Biaggioni Lopes

Sharrine Omarí Domingues de Oliveira

Márcio Wandré M. Oliveira

Embrapa Mandioca e Fruticultura
Cruz das Almas, BA
2010

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa, s/nº, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia

Caixa Postal 007

Fone: (75) 3312-8048

Fax: (75) 3312-8097

Homepage: <http://www.cnpmf.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpmf.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Aldo Vilar Trindade*

Vice-Presidente: *Ana Lúcia Borges*

Secretária: *Maria da Conceição Pereira Borba dos Santos*

Membros: *Abelmon da Silva Gesteira*

Carlos Alberto da Silva Ledo

Davi Theodoro Junghans

Eliseth de Souza Viana

Léa Ângela Assis Cunha

Marilene Fancelli

Supervisão editorial: *Ana Lúcia Borges*

Revisão de texto: *Rudiney Ringenberg*

Zilton José Maciel Cordeiro

Revisão Gramatical: *Léa Ângela Assis Cunha*

Ficha catalográfica: *Lucivalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro*

Editoração: *Maria da Conceição Borba*

Fotos da capa: *Miguel Michereff Filho*

Foto 1 (besouro): *Nilton Fritzons Sanches*

1ª edição

Versão online: (2010)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Mandioca e Fruticultura**

Metodologias de inoculação de *Beauveria bassiana* para avaliação da virulência em adultos de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). [recurso eletrônico]. / Miguel Michereff Filho... [et.al.]. - Dados eletrônicos. - Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/ Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-5003; 47).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web: <http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/boletins/boletim_47.pdf>. Título da página web (acesso em 29/03/11)

1. Banana. 2. Fungo entomopatogênico. 3. Inoculação. I. Michereff Filho, Miguel. II. Marilene Fancelli. III. Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves. IV. Myrian Silvana Tigano. V. Rogério Biaggioni Lopes. VI. Sharrine Omari Domingues de Oliveira. VII. Márcio Wandré M. Oliveira. VIII. Série.

CDD 632.4 (21.ed.)

© Embrapa 2010

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	16
Conclusão	20
Agradecimentos	20
Referências	20

Metodologias de Inoculação de *Beauveria bassiana* para Avaliação da Virulência em Adultos de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae)

Miguel Michereff Filho¹

Marilene Fancelli²

Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves³

Myrian Silvana Tigano⁴

Rogério Biaggioni Lopes⁵

Sharrine Omari Domingues de Oliveira⁶

Márcio Wandré M. Oliveira⁷

Resumo

O fungo *Beauveria bassiana* destaca-se como um importante agente de controle microbiano da broca da bananeira, *Cosmopolites sordidus*. A avaliação da virulência de diferentes linhagens do patógeno é uma das etapas do desenvolvimento do micopesticida. Metodologias que permitam a comparação entre linhagens e a avaliação precisa da atividade do microrganismo são determinantes na fase de seleção. Este trabalho teve como objetivo testar metodologias de inoculação para bioensaios visando a seleção de isolados de *B. bassiana*, baseada na virulência em adultos de *C. sordidus*. Foram testadas três metodologias de inoculação, utilizando-se o isolado CG 1027 (= ESALQ PL63): 1. Pulverização direta da suspensão aquosa de conídios sobre os insetos; 2. Imersão de indivíduos em suspensão aquosa de conídios por diferentes períodos e 3. Caminhamento em superfície contaminada. Após a inoculação, os insetos foram colocados em recipientes plásticos contendo pedaços de pseudocaule de bananeira e

¹Eng.-Agr., D.Sc., Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. miguel@cnph.embrapa.br

²Eng.-Agr., D.Sc., Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA. fancelli@cnpmf.embrapa.br

³Eng.-Agr., D.Sc., Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Londrina, PR. pedroneves@uel.br

⁴Eng.-Agr., PhD., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. myrian@cenargen.embrapa.br

⁵Eng.-Agr., D.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. rblopes@cenargen.embrapa.br

⁶Eng.-Agr., mestrando Programa Pós-Graduação Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

⁷Químico, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

mantidos em incubadoras B.O.D. (25 °C, 80% de UR e fotofase de 12h), durante 30 dias, com avaliação diária da mortalidade. Adultos inoculados via caminhamento em superfície contaminada apresentaram maior taxa de mortalidade confirmada (98-100%), seguida de insetos inoculados por imersão (69-82%) e por pulverização (11-22%). Na imersão, as maiores quantidades de conídios aderidos aos insetos e os maiores índices de mortalidade ocorreram na maior concentração e tempo de exposição. A pulverização direta mostrou-se menos apropriada para bioensaios com adultos de *C. sordidus*, estando relacionada à baixa quantidade de conídios aderidos ao corpo dos insetos.

Termos para indexação: Fungo entomopatogênico; bioensaio; inoculação; seleção de isolados; broca-do-rizoma da bananeira

***Beauveria bassiana* Inoculation
Methods for Evaluating the Virulence
over Adults of *Cosmopolites sordidus*
(Coleoptera: Curculionidae)**

Miguel Michereff Filho

Marilene Fancelli

Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves

Myrian Silvana Tigano

Rogério Biaggioni Lopes

Sharrine Omari Domingues de Oliveira

Márcio Wandré M. Oliveira

Abstract

The fungus *Beauveria bassiana* is one of the most efficient agents of microbial control of banana borer weevil, *Cosmopolites sordidus*. Methodologies that allow to compare different isolates and to evaluate accurately microorganism activity are determinant for selection of isolates. This work was held with the objective of testing inoculation methodologies for bioassays aiming the selection of isolates of *B. bassiana* based on the virulence for adults of *C. sordidus*. Three inoculation methodologies were evaluated, using the isolate CG 1027 (= ESALQ PL63): 1. Direct spraying of the aqueous suspension of conidia on the insects; 2. Immersion of individuals in aqueous suspension of conidia for different time expositions and 3. Walking on contaminated surface. After the inoculation, the insects were placed in plastic pots containing pieces of banana pseudostem and kept in B.O.D. chamber (25 °C, 80% RH and photophase of 12 h), for 30 days, and the mortality was evaluated daily. The contaminated surface methodology showed the higher rate of confirmed mortality (98-100%), followed by the immersion (69-82%) and from the individuals spraying methodology (11-22%). In the immersion method, the higher quantities of conidia attached to the insects and mortality rates corresponded to the highest concentration and exposition time. The direct spraying demonstrated to be inappropriate for bioassays with adults of *C. sordidus*, due to the low quantity of conidia attached to the body of the insects.

Index terms: Entomopathogenic fungus, bioassay; inoculation; selection of isolates; banana weevil

Introdução

A broca-do-rizoma da bananeira, *Cosmopolites sordidus* (Germ.), é considerada a mais severa praga da bananeira, em razão dos prejuízos causados às plantas e da sua ampla distribuição geográfica (ARLEU; SILVEIRA NETO, 1984; GOLD et al., 2001). Essa praga ocorre em todas as regiões brasileiras e seus danos são causados pelas larvas que abrem galerias no rizoma e base do pseudocaule. O ataque dessa praga, além de reduzir o tamanho dos cachos comprometendo até 50% da produção, provoca enfraquecimento das plantas, aumenta o tombamento das bananeiras e favorece o ataque do fungo causador do mal-do-Panamá (MESQUITA, 2003; FANCELLI et al., 2004).

Há mais de duas décadas, sistemas de autodisseminação de fungos entomopatogênicos vêm sendo testados para o controle de *C. sordidus* no Brasil. Grande parte dos trabalhos sobre o controle biológico da broca-do-rizoma da bananeira no país menciona a aplicação do fungo *B. bassiana* na forma como foi produzido (substrato + fungo) em iscas confeccionadas com material proveniente de pseudocaule ou rizoma de plantas colhidas, sendo as mais comuns do tipo queijo e telha (FANCELLI et al., 2004). Em condições de laboratório, vários isolados de *B. bassiana* mostraram-se eficientes no controle da praga, contudo, no Brasil os resultados obtidos em campo têm sido bastante controversos (BATISTA FILHO et al., 1991; FANCELLI; ALVES, 2001; FANCELLI et al., 2004).

Parte deste problema pode ser resultante da grande variabilidade genética natural de *B. bassiana* (Maurer et al., 1997; Aquino de Muro et al., 2003, 2005; Rehner et al., 2006), aliada à falta de padronização das metodologias utilizadas nos bioensaios para seleção de isolados virulentos a *C. sordidus* (Gold et al., 2001). Pequenas diferenças metodológicas podem interferir na resposta à infecção e, consequentemente, levar a equívocos no processo de seleção, bem como dificultar a comparação direta entre resultados de diferentes estudos com o mesmo isolado (BURGES; THOMPSON, 1971; CASADEVALL; PIROFSKI, 2001; SANTORO, 2007).

No desenvolvimento e validação de protocolos para seleção de microrganismos entomopatogênicos, vários componentes do bioensaio devem ser alvo de estudos, dentre eles: o modo de inoculação do entomopatógeno; o número de insetos utilizados no bioensaio; a variabilidade genética e a virulência do entomopatógeno; as concentrações de conídios; o tempo de exposição do inseto-alvo ao entomopatógeno; o período e o modo de avaliação do bioensaio; e a mortalidade considerada (total, confirmada e corrigida) (BUTT; GOETTEL, 2000; SANTORO, 2007). Assim, este trabalho teve como objetivo testar metodologias de inoculação para bioensaio visando a seleção de isolados de *B. bassiana* baseada na virulência em adultos de *C. sordidus*.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Micologia de Invertebrados, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF. Adultos da broca-do-rizoma foram coletados mensalmente em áreas de cultivo comercial da Bahia e do Distrito Federal, quarentenados por 30 dias e posteriormente transferidos para caixas plásticas com vermiculita mantidas em salas climatizadas (25 °C, 80% de UR e f fotofase de 12 h), até serem utilizados no experimento. Os insetos foram alimentados com pseudocauls de bananeira do grupo Nanica (Figura 1). Após a quarentena, não foram observados insetos doentes nas populações mantidas em laboratório.

O estudo foi realizado com o isolado CG 1027 (= ESALQ PL63), depositado na Coleção de Fungos de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e previamente selecionado como patogênico à broca-do-rizoma. Conídios do fungo foram obtidos após cultivo do material criopreservado em meio BDA (batata-dextrose-ágar) em condições controladas (25 °C, 12h de fotofase) durante 12 dias. Objetivando a reativação do isolado, adultos de *C. sordidus* foram imersos durante cinco segundos em suspensão aquosa de conídios na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios mL⁻¹. Em seguida os insetos foram transferidos para recipientes

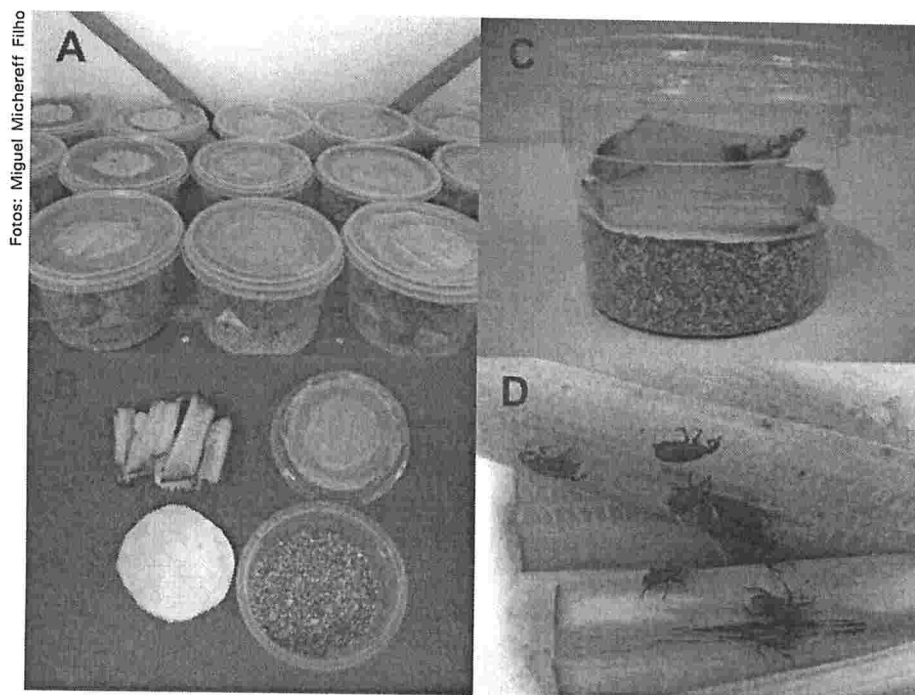
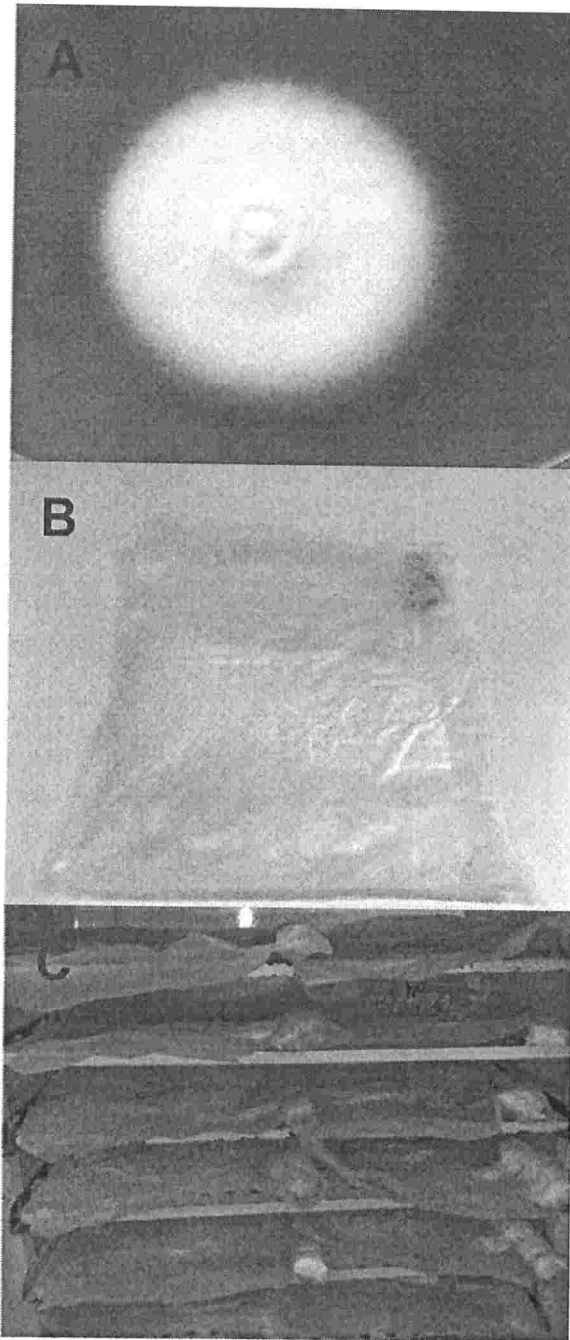


Figura 1. Colônias de *Cosmopolites sordidus*. A - Recipientes de plástico com adultos da broca-do-rizoma, em sala climatizada; B - Recipiente de criação, contendo vermiculita, papel filtro e pedaços de pseudocaule de bananeira; C - Detalhe do recipiente de criação, em vista lateral e D - Adultos da broca-do-rizoma sobre pedaços de pseudocaule.

plásticos (145 mL) com tampa telada, contendo em seu interior pedaços de pseudocaule dispostos sobre papel filtro e vermiculita. Estes recipientes foram mantidos em câmara climatizada (25 °C, >80% de UR e fotofase de 12 h) durante 35 dias.

Após a conidiogênese sobre o cadáver do hospedeiro (10 dias em câmara úmida), o isolado foi cultivado em meio BDA por dois ciclos consecutivos antes de ser submetido à produção em grãos de arroz e utilizado no estudo (Figura 2).

Nos experimentos de avaliação de métodos de inoculação, foram utilizados conídios oriundos de produção massal do isolado em sacolas de polipropileno, contendo arroz parboilizado cozido (com 30% de água v/p),



Fotos: Miguel Michereff Filho

Figura 2. Aspecto do isolado CG 1027 de *Beauveria bassiana*. A - Colônia do fungo entomopatogênico em placa com meio de cultura; B e C - Produção do fungo em sacolas de polipropileno com arroz parboilizado cozido.

conforme metodologia adaptada de Leite et al. (2003). Os lotes de fungo + substrato foram previamente secos (até 8% de teor de água) em dessecadores contendo sílica gel (20% p/p), durante sete dias, sob temperatura ambiente. Posteriormente a massa de fungo + substrato foi submetida à extração em conjunto de peneiras sob agitação em Shaker a 400 rpm, mediante três baterias de agitação a intervalos de 10 minutos. O material obtido foi armazenado em temperatura de 8°C. A viabilidade dos conídios foi determinada antes de cada experimento mediante técnica proposta por Magalhães et al. (1997), garantindo-se desta forma o uso de conídios com 92-98% de viabilidade. Foram utilizadas suspensões aquosas de conídios preparadas com água estéril e Tween 80 a 0,1% v/v, nas concentrações de 1×10^8 e 1×10^9 conídios/mL. Foram avaliadas três metodologias de inoculação dos insetos, descritas a seguir:

- 1) *Pulverização direta* – foram testadas suspensões aquosas de conídios nas duas concentrações, aplicando-se sobre grupos de 10 insetos adultos não sexados, 1 mL da suspensão, com o auxílio de um aerógrafo para micropintura (pressão de 25 libras/pol²), dentro de um recipiente plástico (350 mL) (Figura 3A).
- 2) *Imersão* – consistiu no mergulho de insetos adultos não sexados em suspensão aquosa de conídios, para as duas concentrações de conídios e para três tempos de imersão (30, 90 e 120 segundos). A suspensão de conídios foi depositada em becker de vidro (100 mL), onde posteriormente foram imersos os insetos, em grupo de 10 indivíduos por vez (Figura 3B).
- 3) *Superfície contaminada* – primeiramente efetuou-se a inoculação do fundo em placas de Petri (superfície de vidro, área de 63,6 cm²), com 10 mL de suspensão aquosa de conídios com maior concentração, resultando em depósito de 2×10^8 conídios/cm². Esta concentração de inóculo foi estabelecida a partir das recomendações de aplicação desse fungo em iscas vegetais para controle da broca-do-rizoma (PRANDO, 2004; BATISTA FILHO et al., 1995a, 1995b; ALVES et al., 2008). Após a inoculação, transferiram-se as placas de Petri para uma câmara de fluxo laminar, mantida à temperatura ambiente, por duas horas, para secagem

da superfície interna e formação de resíduo sólido (massa conidial). Em seguida foram liberados cinco insetos, não sexados, por placa de Petri, os quais permaneceram neste recipiente por um período de 72 horas, sem alimentação (Figura 3C).

As testemunhas dos três métodos de inoculação foram tratadas apenas com água destilada estéril, adicionada de Tween 80 a 0,01% v/v. Após a inoculação, para todos os métodos de inoculação, os insetos foram transferidos em grupos de 10 indivíduos para recipientes plásticos limpos (145 mL), contendo pedaços de pseudocaule de bananeira e tampa telada. Estes recipientes, por sua vez, foram acondicionados dentro de recipientes plásticos maiores (1 L) (Figura 4) e mantidos em condições controladas (25 °C, >80% de UR e fotofase de 12 h) durante 30 dias. A troca de alimento (pedaços de pseudocaule), de papel filtro e de vermiculita foi realizada a cada três dias. Diariamente foi avaliada a mortalidade dos insetos, sendo a mortalidade pelo fungo confirmada em câmara úmida após 10 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro a seis repetições por tratamento.

Para cada técnica de inoculação também determinou-se a quantidade de conídios aderidos ao corpo dos insetos, conforme metodologia descrita por Neves e Hirose (2005). Após duas horas da inoculação, parte dos insetos de cada tratamento (tamanho homogêneo) foi transferida, em grupos de cinco indivíduos, para nove tubos de acrílico (repetições), sendo os conídios suspensos em 7,5 mL de água destilada estéril + Tween 80 a 1% v/v. Na sequência, os tubos foram submetidos à agitação em vortex por um minuto e, em seguida, a banho de ultrassom durante 30 minutos. Posteriormente, foram coletadas alíquotas de 1 mL da suspensão e o número de conídios foi determinado com o auxílio de uma câmara de Neubauer (hemacitômetro), após diluição seriada. Realizou-se uma leitura por tubo e os dados foram expressos em número de conídios por inseto.

Os dados coletados para todos os experimentos foram transformados em $\log(x + 1)$ ou $[\text{raiz}(x + 1)]$ e submetidos à análise de variância (Anova), enquanto as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (5%).

Fotos: Miguel Michereff Filho

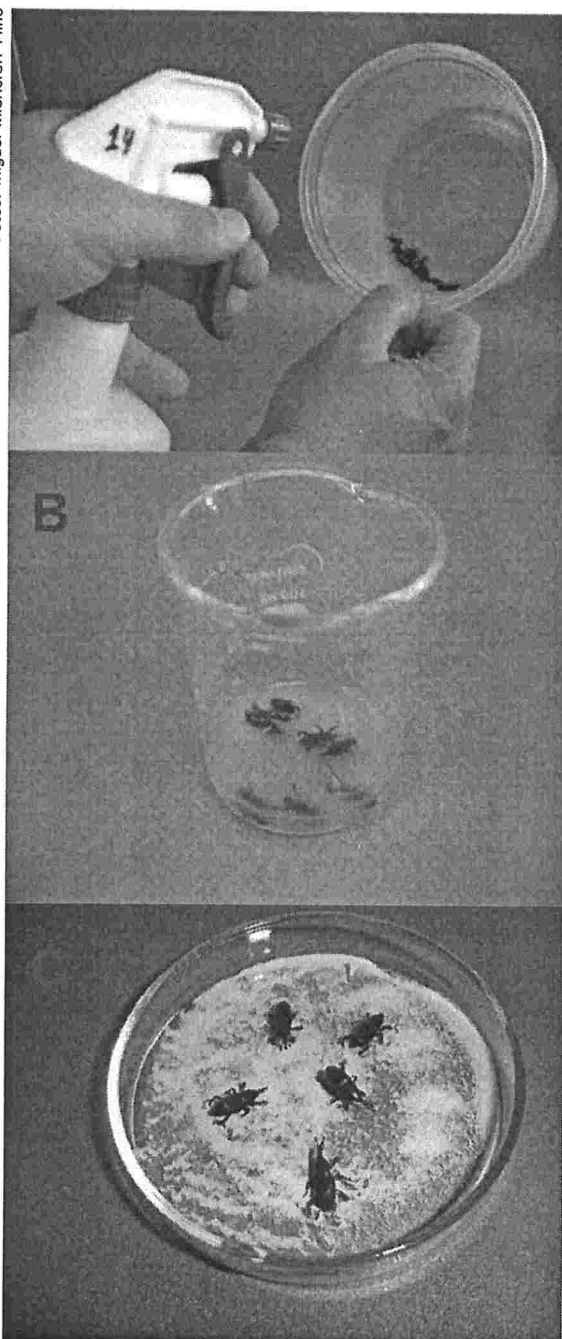
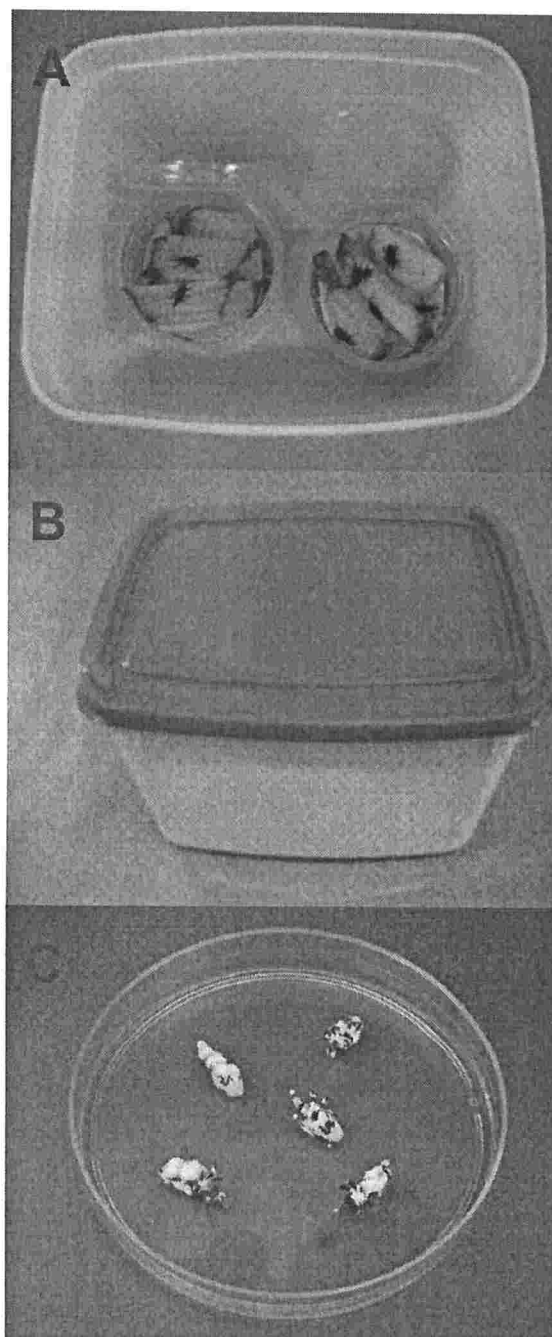


Figura 3. Técnicas de inoculação do fungo *Beauveria bassiana*. A - Inoculação por pulverização direta sobre os insetos; B - Inoculação por imersão de insetos e C - Inoculação por deslocamento (contato) em superfície contaminada.



Fotos: Miguel Michereff Filho

Figura 4. Acondicionamento dos insetos após a inoculação do fungo entomopatogênico. A - Insetos recém-inoculados em recipientes plásticos limpos, contendo pedaços de pseudocaule, papel filtro e vermiculita; B - Caixa plástica onde foram acondicionados os recipientes do mesmo tratamento e C - Insetos mortos apresentando conidiogênese de *Beauveria bassiana* após 10 dias em câmara úmida.

Resultados e Discussão

Houve efeito significativo ($P < 0,05$) da técnica de inoculação dos insetos sobre a mortalidade ocasionada pelo isolado CG 1027 (Tabela 1). A técnica de superfície contaminada proporcionou as maiores taxas de mortalidade confirmada (98-100%), sendo seguida pela técnica de imersão (69-82%), as quais diferiram estatisticamente entre si e da técnica de pulverização dos indivíduos (11-22%). Não foram observados insetos mortos pelo entomopatógeno nas testemunhas.

Considerando-se que a germinação do conídio e consequente produção de enzimas para degradar a cutícula iniciam-se após sua adesão ao hospedeiro, a diferença na mortalidade entre os métodos de inoculação avaliados neste trabalho pode ser atribuída a diferenças na quantidade de conídios que efetivamente entraram em contato e ficaram aderidos ao corpo do inseto (BOUCIAS et al., 1988; FERNANDES et al., 2001; SANTORO et al., 2007).

A quantidade de conídios aderidos aos insetos submetidos ao deslocamento em superfície contaminada (resíduo seco de unidades infectivas do fungo) geralmente é inferior ao verificado nas técnicas de imersão e de pulverização direta dos insetos (FERNANDES et al., 2001; SANTORO et al., 2007). Isto ocorre porque os conídios ficam restritos a algumas regiões do corpo, como pernas e parte ventral, e ainda são removidos da cutícula ao longo do tempo pelo atrito do corpo do inseto com outras superfícies durante o deslocamento (NEVES; ALVES, 2000; FERNANDES et al., 2001). Contudo, neste trabalho, a maior mortalidade observada na técnica da superfície contaminada foi relacionada à maior concentração de conídios utilizada (1×10^{10} conídios/placa) e ao tempo de exposição (72 horas), os quais teriam compensado a perda de inóculo pela movimentação do inseto sobre o substrato, resultando em média a $4,0 \times 10^7$ conídios/inseto.

Na pulverização direta da suspensão a 1×10^9 conídios/mL, constatou-se baixa adesão de conídios ao corpo ($1,6 \times 10^6$ a $2,0 \times 10^6$ conídios/inseto), o que explicaria a sua menor taxa de mortalidade em relação às demais técnicas de inoculação (Tabela 2). Com este resultado, também verificou-

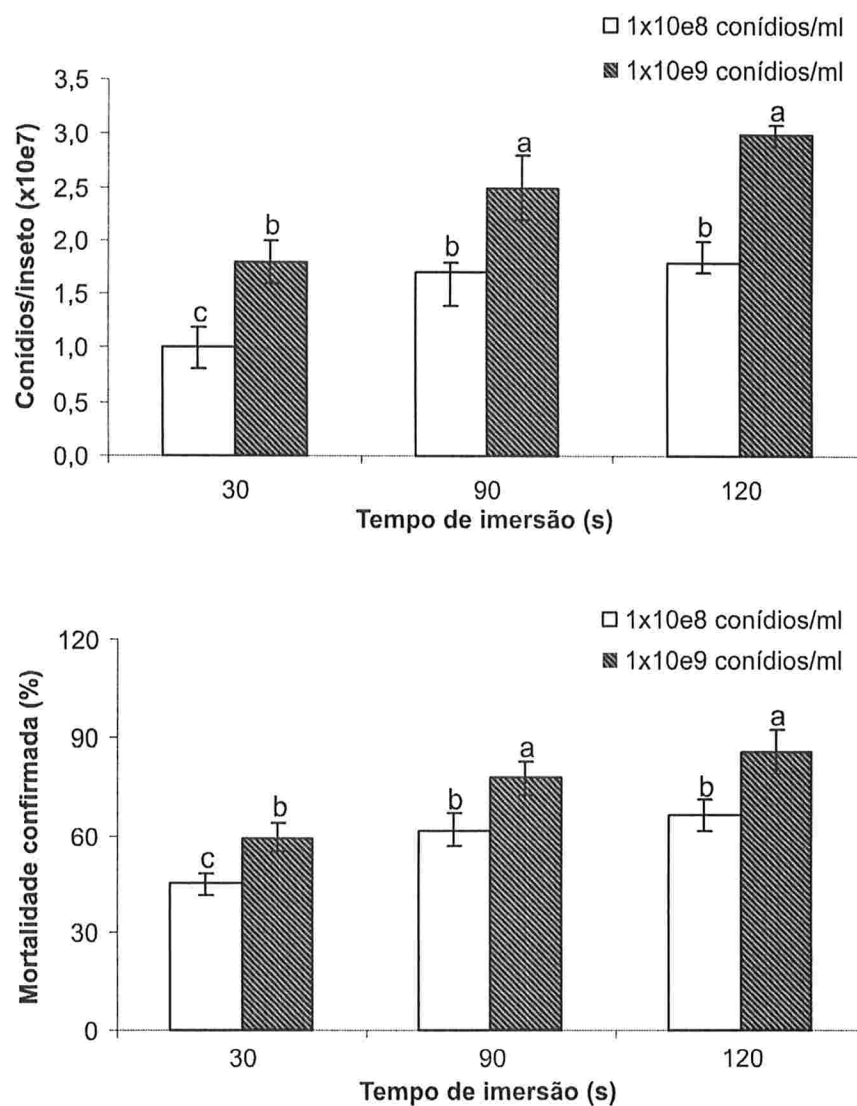


Figura 5. Número de conídios de *Beauveria bassiana* aderidos ao corpo e mortalidade confirmada (%) de *Cosmopolites sordidus*, em função da concentração da suspensão de conídios (isolado CG 1027) e do tempo de imersão dos indivíduos. Colunas seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey ($P \geq 0,05$). As barras representam o erro padrão da média (EPM). Os dados foram transformados, respectivamente, em $\log(x+1)$ e $\sqrt{x+1}$, para as análises estatísticas. A quantidade de conídios aderidos foi estimada a partir da contagem, em câmara de Neubauer, de nove amostras de 10 insetos, por concentração de conídios.

foram observadas na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios/mL e nos tempos de imersão de 90 e 120 segundos (Figura 5), os quais não diferiram estatisticamente entre si.

Gold et al. (2001) apresentaram uma lista de estudos no mundo que fizeram seleção de isolados de *Beauveria* spp. para controle de *C. sordidus*. Dos resultados compilados na revisão utilizando-se a imersão dos insetos adultos em suspensão de conídios, mortalidades entre 15% e 100% foram observadas para suspensões nas concentrações entre 1×10^7 e 1×10^9 conídios/mL; isolados com melhor desempenho promoveram até 50% de mortalidade da broca-do-rizoma em concentrações entre $1,1 \times 10^7$ e $4,6 \times 10^7$ conídios/mL. Neste trabalho, pela imersão dos insetos durante 90 segundos em suspensão aquosa do isolado CG1027 nas concentrações de $1,0 \times 10^8$ e $1,0 \times 10^9$ conídios/mL, foram obtidas mortalidades de 56,6% e 82,9%, respectivamente. Considerando-se que o tempo de imersão influenciou a taxa de mortalidade pelo entomopatógeno, e existindo a necessidade de se determinar previamente o período em que os insetos devam ficar imersos, a utilização do tempo de 90 segundos mostrou-se satisfatória, a fim de não superestimar o potencial do entomopatógeno, já que existe tendência de diminuição da CL_{50} à medida que se aumenta o tempo de imersão (BUTT; GOETTEL, 2000; SANTORO et al., 2007).

Os resultados deste trabalho confirmaram que o modo de inoculação, assim como a concentração e o tempo de contato com o inóculo do entomopatógeno, influencia diretamente nos resultados gerados em bioensaios. As técnicas de imersão dos adultos na suspensão de conídios e o deslocamento de insetos em superfície contaminada mostraram-se apropriadas para os bioensaios com *C. sordidus*. A imersão destaca-se pela praticidade e rapidez, compatíveis com a rotina de testes envolvendo grande número de insetos e isolados, enquanto que o uso de superfície contaminada simula uma das principais formas de contaminação da broca-do-rizoma da bananeira no campo. Assim, pode-se utilizar a técnica de imersão em etapas de pré-seleção para descarte de materiais pouco virulentos. Já a técnica de superfície contaminada seria empregada na última etapa da seleção para uma avaliação mais apurada (discriminatória)

e com isolados altamente virulentos sobre *C. sordidus*, permitindo melhor previsão do que poderia ocorrer em condições de campo.

Conclusão

A imersão dos insetos em suspensão de conídios durante 90 segundos e o deslocamento dos insetos em superfície contaminada durante 72 horas foram as metodologias mais apropriadas para bioensaios visando à seleção de isolados de *B. bassiana* baseada na virulência em adultos de *C. sordidus*.

Agradecimentos

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa; Macroprograma 2/Competitividade e Sustentabilidade, projeto “Aprimoramento do sistema de liberação do fungo *Beauveria bassiana* para controle de *Cosmopolites sordidus* em áreas de Produção Integrada de banana”), pelo suporte financeiro. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsas de Iniciação Científica (ICI) e aos estudantes Rafael Eduardo Teza Souza (Universidade de Brasília – UnB) e Fernanda Guimarães Brandão (Centro Universitário de Brasília – UniCEUB), pelo apoio durante a condução dos experimentos.

Referências

ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. Cap. 3, p. 69-110.

AQUINO DE MURO, M.; MEHTA, S.; MOORE, D. The use of amplified fragment length polymorphism for molecular analysis of *Beauveria bassiana* isolates from Kenya and other countries, and their correlation with host and geographical origin. **FEMS Microbiology Letters**, London, v. 229, p.249-257, 2003.

AQUINO DE MURO, M.; ELLIOTT, S.; MOORE, D.; PARKER, B. L.; SKINNER, M.; REID, W.; EL BOUHSSINI, M. Molecular characterization of *Beauveria bassiana* isolates obtained from overwintering sites of Sunn Pests (*Eurygaster* and *Aelia* species). **Mycological Research**, London, v. 109, p.294-306, 2005.

ARLEU, R.J.; SILVEIRA NETO, S. Broca da bananeira *Cosmopolites sordidus* (Germ. 1824) (Coleoptera: Curculionidae). **Turrialba**, San José, v. 34, p.359-367, 1984.

BATISTA FILHO, A., SATO, M. E.; LEITE, L. G.; RAGA, A.; PRADA, W. A. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle do moleque da bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.13, p. 35-40, 1991.

BATISTA FILHO, A., LEITE, L.G., RAGA, A.; SATO, M.E.. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 24, p. 405- 408, 1995a.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E.; OLIVEIRA, J.A. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no manejo de *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824, em Miracatu, SP. **Biológico**, São Paulo, v. 57, p. 17-19, 1995b.

BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J.C.; LATGE, J.P. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, p. 1795-1805, 1988.



***Mandioca e Fruticultura
Hortaliças
Recursos Genéticos
e Biotecnologia***

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

