

MARCIA MARZAGÃO RIBEIRO

PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS).  
VUILL., EM *Hedypathes betulinus* (KLUG, 1825)  
(COLEOPTERA: CERAMBYCIDAE), EM CONDIÇÕES  
DE LABORATÓRIO E DE CAMPO.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Silvicultura, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre.

CURITIBA — PR

1996

A DEUS

AGRADEÇO

AOS MEUS PAIS,

E À MINHA FILHA VICTÓRIA,

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Honório Roberto dos Santos, pela orientação e ajuda na elaboração deste trabalho, bem como pelo incentivo e apoio.

Ao Eng<sup>o</sup> Florestal Marco Antonio Diodato, pela dedicação, na teoria e na prática dos experimentos realizados.

Aos Professores Acácio Geraldo de Carvalho e Eli Nunes Marques pela colaboração na correção deste trabalho e pelas sugestões.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Pesquisador Agustin Lajarte Cassanello, pela contribuição com a biologia da broca da erva-mate e material didático fornecido.

À Empresa Matte Leão Reflorestamentos Ltda. que, através da pessoa do Eng<sup>o</sup>. Agrônomo Zaqueu Burco, pôs a disposição suas instalações; pelo apoio, colaboração e incentivo.

Ao exemplar funcionário da empresa Matte Leão Reflorestamentos Ltda., Juarez Porcath que atenciosamente colaborou, de diversas maneiras, nos experimentos de campo e possibilitou o fornecimento de insetos para os experimentos de laboratório.

Ao Professor Vinalto Graf, pela identificação do himenóptero parasitóide da broca da erva-mate.

Ao Pesquisador Airton Brizola do IAPAR, pelo apoio oferecido no início da pesquisa e em diversas oportunidades.

Ao Professor Dr. Sérgio Batista Alves, pelos esclarecimentos e sugestões.

Aos engenheiros Honório Prando e Renê Arthur Ferreira da EPAGRI de Santa Catarina, pelo estágio concedido e pela atenção dispensada.

Ao CENARGEM; ESALQ; UNICAMP; INSTITUTE BOYCE THOMPSON; pelas linhagens de *Beauveria bassiana* cedidas para pesquisa.

Ao Eng<sup>o</sup> Agrônomo Jorge Zbigniew Mazuchowski, pela colaboração e fornecimento de material sobre *Ilex paraguariensis*.

À Bibliotecária Lílana Luisa Pizzolato, pela orientação no levantamento bibliográfico e na estruturação desta Dissertação.

À Professora Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima, pelo auxílio nas técnicas de laboratório.

À EMBRAPA - CNPF pela colaboração.

A todos os funcionários rurais da Matte Leão Reflorestamentos Ltda., que auxiliaram nas coletas dos insetos, no campo.

À Universidade Federal do Paraná, pela estrutura cedida, que permitiu a conclusão deste trabalho.

Aos professores dos cursos de Pós-Graduação de Engenharia Florestal e de Entomologia pelos conhecimentos transmitidos e pelas sugestões.

Aos amigos: Alexandre Nehring Pagliosa, Lídia Elizabeth Nehring Pagliosa, Alfredo Marcelo Grigio, Alfredo Knop Neto e Iole Sabino Santos.

Também agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
<b><u>LISTA DE TABELAS</u></b> .....	vii
<b><u>LISTA DE FIGURAS</u></b> .....	viii
<b><u>RESUMO</u></b> .....	x
<b><u>ABSTRACT</u></b> .....	xi
1 <b><u>INTRODUÇÃO</u></b> .....	01
2 <b><u>REVISÃO DE LITERATURA</u></b> .....	03
2.1 <i>Ilex paraguariensis</i> .....	03
2.1.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE <i>Ilex paraguariensis</i> .....	03
2.1.2 HISTÓRICO ECONÔMICO .....	05
2.1.3 CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS DA ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DA ERVA-MATE .....	06
2.1.4 MANEJO DA ERVA-MATE .....	08
2.2 <i>Hedypathes betulinus</i> .....	08
2.2.1 POSIÇÃO SISTEMÁTICA .....	08
2.2.2 BIOLOGIA .....	09
2.2.3 OCORRÊNCIA DE <i>Hedypathes betulinus</i> EM <i>Ilex paraguariensis</i> .....	09
2.2.4 COMPORTAMENTO E DANOS .....	10
2.2.5 SINTOMAS DE ATAQUE NA PLANTA E CONTROLE .....	11
2.3 <i>Beauveria bassiana</i> .....	12
2.3.1 PROCESSO DE PATOGENICIDADE .....	12
2.3.2 FATORES QUE INFLUENCIAM NA EFICIÊNCIA DE <i>Beauveria bassiana</i> .....	14
2.3.2.1 Temperatura .....	14
2.3.2.2 Umidade relativa .....	15
2.3.2.3 Concentração .....	17
2.3.2.4 Irradiação e fotoperíodo .....	17
2.3.2.5 Infectividade e agressividade .....	18
2.3.2.6 Microclima .....	18
2.3.3 OCORRÊNCIA DE <i>Beauveria bassiana</i> .....	19
3 <b><u>MATERIAL E MÉTODOS</u></b> .....	21
3.1 <b>LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE PESQUISA</b> .....	21
3.2 <b>LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i> UTILIZADAS NOS EXPERIMENTOS DE LABORATÓRIO E DE CAMPO</b> .....	22
3.3 <b>PRODUÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGENICO <i>Beauveria bassiana</i> E DETERMINAÇÃO DA FASE DE DESENVOLVIMENTO DE <i>Hedypathes betulinus</i> PARA O SEU CONTROLE</b> .....	23

3.4	<b>EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DE DIVERSAS LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM LABORATÓRIO</b> .....	24
3.5	<b>EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DA LINHAGEM 152 DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM LARVAS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM LABORATÓRIO</b> .....	25
3.6	<b>EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DA LINHAGEM 152 DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM CAMPO</b> .....	26
3.7	<b>EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DAS LINHAGENS 152 E 447 DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM CAMPO</b> .....	27
4	<b><u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u></b> .....	29
4.1	<b>AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE DIVERSAS LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM LABORATÓRIO</b> .....	29
4.2	<b>SINTOMAS APRESENTADOS POR ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM DECORRÊNCIA DA AÇÃO DO FUNGO <i>Beauveria bassiana</i></b> .....	34
4.3	<b>AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DA LINHAGEM 152 DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM LARVAS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM LABORATÓRIO</b> .....	35
4.4	<b>AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE <i>Beauveria bassiana</i>, EM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i>, EM CAMPO</b> .....	37
4.4.1	<b>EXPERIMENTO COM A LINHAGEM 152, NAS CONCENTRAÇÕES <math>5 \times 10^6</math> E <math>5 \times 10^7</math> CONÍDIOS/ML</b> .....	37
4.4.2	<b>EXPERIMENTO COM A LINHAGEM 152 E 447, NA CONCENTRAÇÃO <math>2,76 \times 10^7</math> CONÍDIOS/ML</b> .....	40
4.5	<b>IDENTIFICAÇÃO DE <i>Labena</i> sp., PARASITÓIDE DE LARVAS DE <i>Hedypathes betulinus</i></b> .....	42
5	<b><u>CONCLUSÕES</u></b> .....	43
6	<b><u>RECOMENDAÇÕES</u></b> .....	44
7	<b><u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u></b> .....	45
	<b><u>ANEXOS</u></b> .....	50

## LISTA DE TABELAS

	Página
1 LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i> UTILIZADAS PARA OS EXPERIMENTOS DE PATOGENICIDADE EM <i>Hedypathes betulinus</i> , DISCRIMINADAS POR INSTITUIÇÕES E HOSPEDEIRO. CURITIBA, PR. 1993 .....	23
2 TOTAL DE INSETOS, INSETOS INFECTADOS POR <i>Beauveria bassiana</i> (Nº), MORTALIDADE E MORTALIDADE CORRIGIDA (%), TEMPO LETAL MEDIANO (DIAS) E TESTE DE DUNCAN, POR LINHAGEM, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. NOVEMBRO DE 1993 .....	30
3 QUANTIDADE DE INSETOS INFECTADOS, NÚMERO DE INSETOS COM EXTRUSÃO E EXTRUSÃO (%), POR LINHAGEM, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. NOVEMBRO DE 1993 .....	31
4 NÚMERO DE INSETOS AVALIADOS E TEMPO MÉDIO DA EXTRUSÃO DAS HIFAS (EM DIAS), DE CINCO DIFERENTES LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i> , NO CORPO DE <i>Hedypathes betulinus</i> , EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993 .....	33
5 NÚMERO DE LARVAS DE <i>Hedypathes betulinus</i> MORTAS, MORTALIDADE E MORTALIDADE CORRIGIDA (%), NA CONCENTRAÇÃO $2,2 \times 10^8$ CONÍDIOS/ML E $TL_{50}$ (DIAS), DA LINHAGEM 152 DE <i>Beauveria bassiana</i> , EM LABORATÓRIO, CURITIBA, PR. 1994 .....	35
6 CONCENTRAÇÕES DA LINHAGEM 152 DE <i>Beauveria bassiana</i> , NÚMERO TOTAL DE INSETOS POR TRATAMENTO, NÚMERO DE INSETOS MORTOS, MORTALIDADE (%), $TL_{50}$ (DIAS) E TESTE DE DUNCAN, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1993 .....	38
7 NÚMERO TOTAL DE ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> POR TRATAMENTO, TOTAL DE INSETOS MORTOS POR <i>Beauveria bassiana</i> , NA CONCENTRAÇÃO DE $2,76 \times 10^7$ CONÍDIOS/ML, MORTALIDADE (%), $TL_{50}$ (DIAS) E TESTE DE DUNCAN, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994 .....	40

## LISTA DE FIGURAS

	Página
1 ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DE ERVA-MATE (ARGENTINA, BRASIL E PARAGUAI) (FONTE: EMBRAPA-CNPQ, 1983) .....	04
2 TIPOS CLIMÁTICOS DE KÖPPEN PARA A REGIÃO DE OCORRÊNCIA NATURAL DE ERVA-MATE. (FONTE: EMBRAPA-CNPQ, 1983) .....	07
3 CROQUI DA FAZENDA EM FERNANDES PINHEIRO, PR. ONDE FORAM REALIZADOS OS EXPERIMENTOS DE CAMPO E COLETADOS OS INSETOS PARA REALIZAÇÃO DOS TRABALHOS DE LABORATÓRIO. (FONTE: MATTE LEÃO REFLORESTAMENTOS LTDA, 1994) .....	22
4 ACONDICIONAMENTO DE ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> , EM GALHOS DE ERVA-MATE PARA APLICAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE <i>Beauveria bassiana</i> . FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994. (DIODATO, M. A.) .....	26
5 GAIOLA PARA CONFINAMENTO DE ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> , PARA A APLICAÇÃO DAS LINHAGENS 152 E 447 DE <i>Beauveria bassiana</i> . FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994 .....	28
6 MORTALIDADE DE ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> (%), PROVOCADA POR DIVERSAS LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i> , NA CONCENTRAÇÃO DE $2,2 \times 10^8$ CONÍDIOS/ML, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1994 .....	30
7 PORCENTAGEM DE EXTRUSÃO DE DIVERSAS LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i> , EM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> , EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993 .....	32
8 TEMPO MÉDIO (EM DIAS), PARA EXTRUSÃO DAS HIFAS DE CINCO DIFERENTES LINHAGENS DE <i>Beauveria bassiana</i> UTILIZADAS NO EXPERIMENTO COM ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> , EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993 .....	33

9 ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> , INFECTADOS POR <i>Beauveria bassiana</i> , COM A MANIFESTAÇÃO EXTERNA DO FUNGO, NOS ESPAÇOS INTERSEGMENTAIS DO INSETO CURITIBA, PR. 1993. (SANTOS, H. R.) .....	34
10 LARVAS DE <i>Hedypathes betulinus</i> INFECTADAS POR <i>Beauveria bassiana</i> , COM A MANIFESTAÇÃO EXTERNA DO FUNGO. CURITIBA, PR. 1994. (SANTOS, H. R.) .....	36
11 MORTALIDADE DE LARVAS DE <i>Hedypathes betulinus</i> (%), PROVOCADA PELA LINHAGEM 152 DE <i>Beauveria bassiana</i> , CONCENTRAÇÃO DE $2,2 \times 10^8$ CONÍDIOS/ML EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1994 .....	36
12 MORTALIDADE DE ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> (%), PROVOCADA POR <i>Beauveria bassiana</i> , LINHAGEM 152, NAS CONCENTRAÇÕES $5 \times 10^6$ E $5 \times 10^7$ CONÍDIOS/ML, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994 .....	39
13 MORTALIDADE DE ADULTOS DE <i>Hedypathes betulinus</i> (%), RELATIVO AO EXPERIMENTO COM AS LINHAGENS 152 E 447 DE <i>Beauveria bassiana</i> , CONCENTRAÇÃO DE $2,76 \times 10^7$ CONÍDIOS/ML, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994 .....	41

## RESUMO

A broca da erva-mate, *Hedypathes betulinus* (Klug,1825) (Coleoptera, Cerambycidae), constitui-se na principal praga da cultura, devido aos danos causados a ela. A larva constrói galerias no interior dos galhos, troncos e raízes, prejudicando a circulação normal da seiva e ocasionando o depauperamento da planta. A Norma Técnica Higiénico Sanitária para a erva-mate, proíbe a utilização de produtos químicos durante a manipulação e armazenagem. O mercado externo é rigoroso, não permitindo a entrada de produto que contenha resíduos químicos, restando como alternativa o controle biológico da praga. Por essa razão, foi estudada a patogenicidade de cinco linhagens de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., em *H. betulinus*. Os experimentos de patogenicidade do fungo *B. bassiana* em laboratório foram executados em insetos adultos e larvas, coletados no campo. Os resultados de mortalidade corrigida destes, em laboratório, foram de 69,62; 66,82; 60,00; 56,61 e 37,28 %, para as linhagens 152, 2629, 447, 785 e 212, respectivamente e TL<sub>50</sub> de 9,39; 10,57; 9,00; 8,68 e 7,65 dias. Em larvas, foi testada a linhagem 152 a qual se mostrou mais promissora para adultos em laboratório, obtendo-se uma eficiência de 93,02 % de mortalidade corrigida das larvas e TL<sub>50</sub> de 9,39 dias. Também realizaram-se experimentos no campo, em adultos do inseto, com as linhagens que apresentaram melhores resultados em laboratório. A linhagem 152, em campo, provocou mortalidade de 14% e TL<sub>50</sub> de 27,15 dias, na concentração 5 X 10<sup>6</sup> conídios/ml, e de 22,00%, na concentração 5 X 10<sup>7</sup> conídios/ml e TL<sub>50</sub> de 25,21 dias. Estatisticamente, não houve diferença significativa entre as concentrações. As linhagens 152, 447 e a testemunha, no experimento de campo apresentaram mortalidade de 2,00, 34,00 e 4,00%, na concentração de 2,76 x 10<sup>7</sup> conídios/ml respectivamente. A linhagem 447 apresentou TL<sub>50</sub> de 17,14 dias. No campo a linhagem 447 se mostrou mais promissora. Foi detectado um parasitóide de larva de *H. betulinus*, da ordem Hymenoptera, do gênero *Labena* sp.

## ABSTRACT

The erva-mate (*Ilex paraguariensis*) borer, *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera, Cerambycidae), is the main pest to the tillage, due to the damages that causes. The larvae digs galleries in the branches, trunks and roots, blocking the normal sap circulation and weakening the plant. The higienic sanitary rule to the erva-mate forbides the chemical products use during the handling and storing. The external market is strict, not allowing the entrance of product which contains chemical residuals, resting, as alternative soluction, the biological control of the pest. For that reason, the patogenicity of five strains of *Beauveria bassiana* in *H. betulinus*, erva-mate borer, was studied. The experiments of patogenicity of the fungi *B. bassiana* at laboratory were executed during the adult and larvae phases of insects caught at field. The results of mortality in laboratory, were 69.62; 66.82; 60.00; 56.61 and 37.28 % for the strains 152, 2629, 447, 785, 212, respectively and and TL<sub>50</sub> 9.39; 10.57; 9.00; 8.68 and 7.65 days. In larvae the strain 152 was tested in laboratory, and was more succesful for adults, obtaining an efficiency of 93.02 % of mortality and TL<sub>50</sub> of 9.39 days. Also were done field experiments in the adult phase of the insect with strains that were more successful in laboratory. The strain 152 at field caused 14% of mortality and TL<sub>50</sub> of 27.15 days at the concentration 5 X 10<sup>6</sup> conidia/ml, and of 22.00%, at the concentration 5 X 10<sup>7</sup> conidia/ml and TL<sub>50</sub> of 25.21 days and 10% of mortality of the control. Statistically, there was no significative difference between the concentrations of this experiment. The strains 152, 447 and the control at field, showed mortality of 2.00, 34.00 and 4.00% respectively at the concentration 2.76 x 10<sup>7</sup> conidia/ml. The strain 447 showed TL<sub>50</sub> of 17.14 days. Statistically, the strain 447 was more successful at this experiment. A *H. betulinus* worm parasitoide was detected, of the Hymenoptera order of the genus *Labena* sp.

## 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hilaire, 1822 (Aquifoliaceae), foi o esteio econômico da província, no terceiro ciclo da economia paranaense. Planta nativa, constituiu-se em fonte de riqueza e divisas, trazendo prosperidade a muitas cidades do sul do Paraná (MAZUCHOWSKI, 1993). O setor ervateiro, dada a importância sócio-econômica e alimentar da erva-mate, participa diretamente no processo de integração comercial entre os países membros do MERCOSUL, através da redução de gravames, ajuste das políticas públicas internas e da racionalização econômica aos níveis tecnológicos, adequados as exigências do mercado. O Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), objetiva a coordenação de políticas macroeconômicas e setoriais, entre os principais países membros, Argentina-Brasil-Paraguai-Uruguai, acordado em 1991, pelo Tratado de Asunción.

Em 1990, o consumo nacional de erva-mate (chimarrão e chá-mate), foi de 117.000 ton. As exportações de erva-mate beneficiada, em 1991, para Alemanha, foram de 554 ton; Uruguai 3.379; Chile 4.097; Japão 6; Canadá 76; Oceania 21; Europa 53; em um total de 8.198 ton. (BANCO DO BRASIL. DECEX, 1991). No Brasil, o Paraná está em primeiro lugar na produção, seguido de Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul (MAZUCHOWSKI, 1989).

Com o plantio sistematizado, a falta de abrigo para os inimigos naturais e outros fatores fitotécnicos surgiram as pragas e dentre elas, a de maior importância é a broca da erva-mate, *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae), devido aos danos que vem causando a cultura. A larva constrói galerias, nos galhos, troncos e raízes, prejudicando a circulação normal da seiva e ocasionando o depauperamento da planta, que custa para o produtor cerca de vinte dólares desde o plantio até a primeira poda (quatro anos mais tarde).

A ocorrência de fungos entomopatogênicos tem sido um fator importante na regulação populacional de insetos no Brasil. Os fungos são os principais patógenos de insetos a serem utilizados no controle microbiano. Cerca de 80% das doenças dos insetos tem como agentes etiológicos os fungos. O fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. encontra-se entre os gêneros mais importantes. Existem 26 espécies de insetos de diversas ordens e de importância agrícola no país, susceptíveis ao fungo *B. bassiana*. (ALVES, *et al.* 1986).

Com o propósito de fornecer subsídios racionais e mais econômicos para diminuir as populações da praga no campo, comparar e comprovar a patogenicidade de diferentes linhagens do fungo *B. bassiana*, efetuou-se experimentos nas fases larval e adulta da broca da erva-mate *H. betulinus*, em laboratório e campo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Ilex paraguariensis*

A erva-mate, *I. paraguariensis* St. Hilaire, 1822, da família Aquifoliaceae, já era conhecida desde a antiguidade pelos aborígenes Tupí-Guaraní do Brasil, Paraguai e Argentina que a chamavam de “ca-á”. Estes começaram a cultivá-la sob orientação dos jesuítas no século XVI, para obter as folhas usadas em infusões que deram origem a duas bebidas tradicionais o “tereré” no Paraguai e Mato Grosso do Sul e o chimarrão nos estados do sul do Brasil (COSTA, 1989).

O gênero e a espécie foram identificados pelo naturalista francês August de Saint Hilaire em 1822, e publicado nas memórias do Museu de História Natural de Paris. O naturalista declarou que suas coletas foram realizadas nas proximidades de Curitiba, que na época pertencia à Província de São Paulo, do qual foi desmembrada em 1853. O nome *I. paraguariensis* foi devido a Saint Hilaire considerá-la exatamente igual à erva do Paraguai (MAZUCHOWSKI, 1993).

#### 2.1.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *Ilex paraguariensis*

Esta árvore de clima subtropical originária da América do Sul, aparece como espécie componente de florestas nativas, numa extensa área que abrange aproximadamente 540.000 km<sup>2</sup> compreendendo territórios do Brasil, Paraguai e

Argentina, situados entre as latitudes de 21° S e 30° S e longitudes de 48° 30' W e 56° 10' W, com altitude variável entre 500 e 1000 m (Figura 1).

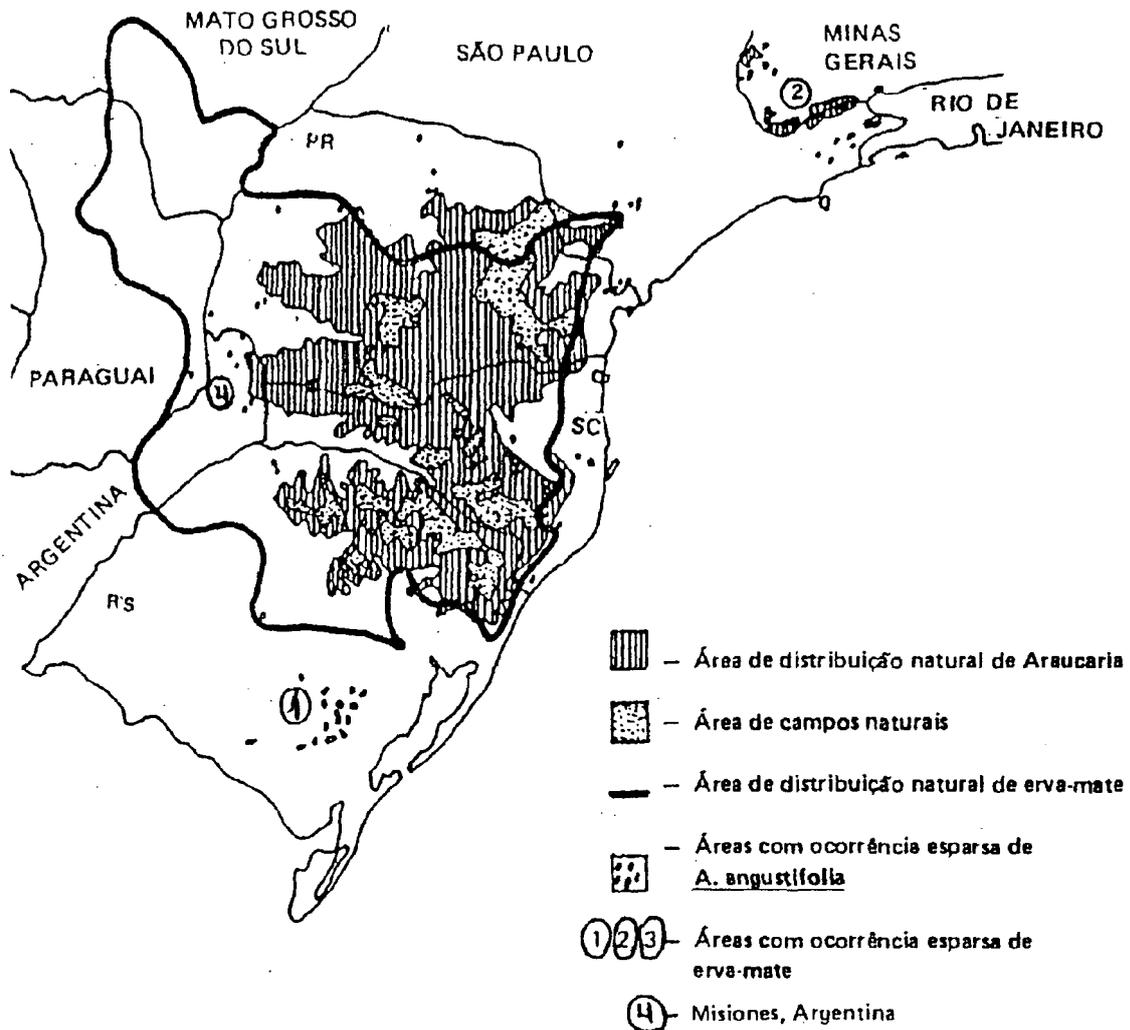


FIGURA 1 - ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DE ERVA-MATE (ARGENTINA, BRASIL E PARAGUAI). (FONTE: EMBRAPA-CNPF, 1983)

No Brasil, a erva-mate distribui-se naturalmente na região centro norte do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, no centro-sul do Paraná, pequena parte da região sudeste de São Paulo, sul de Mato Grosso do Sul e sul de Minas Gerais. No Paraguai

ocorre numa ampla faixa da região oriental, desde a localidade de Concepción até a localidade de Itapuá no sul do país. Na Argentina encontra-se na Província de Misiones (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

Esta espécie constituiu-se em fonte de riquezas e divisas, monopolizando capital e trabalho. No ano de 1853 sua cultura teve grande influência na emancipação política do estado do Paraná (MAZUCHOWSKI, 1989).

## 2.1.2 HISTÓRICO ECONÔMICO

Durante longo período, a Argentina foi o maior comprador de erva-mate do Brasil. Porém, no início do século, esse país, estimulado por programas governamentais, começou a efetuar plantios de erva-mate, atingindo sua auto-suficiência nos anos 40, perdendo assim o Brasil, seu melhor importador. Continuaram, porém, as exportações para o Chile e Uruguai que até hoje são consumidores do produto brasileiro. A perda do mercado argentino e a diminuição do consumo de erva-mate no Uruguai, estimularam o desenvolvimento do mercado interno (REDIG, 1985).

A erva-mate pode ser considerada como a mais importante indústria extrativista depois da borracha. Porém, como toda exploração extrativista, esta fonte de riquezas foi se exaurindo e não tardou a entrar em declínio, dando lugar a expansão de outras culturas. Na década de 70, o desenvolvimento da pecuária, agricultura e principalmente a introdução da cultura da soja que obtinha alto rendimento por hectare, fez com que os proprietários erradicassem grandes áreas cobertas com ervas nativas, para a implantação destes projetos. Estas transformações sofridas no setor ervateiro geraram escassez na oferta e alta nos preços, estimulando o produtor ao plantio sistematizado (REDIG, 1985).

Com o avanço da fronteira agrícola, a erva-mate teve sua presença diminuída, principalmente nas duas últimas décadas. O Instituto de Terras e Cartografia, no ano de 1975, desenvolveu um estudo para avaliar o programa ecológico no Estado do Paraná,

concluindo que dos 201.203 km<sup>2</sup> de solo coberto por mata virgem, restava apenas pouco mais de 7% (ZANOTTO, 1979).

Atualmente, nas regiões produtoras, principalmente nos estados de Santa Catarina e Paraná, estão plantados aproximadamente 5.000.000 de plantas de erva-mate, por iniciativa de pequenos e médios produtores que, com recursos próprios, provaram a rentabilidade da cultura (REDIG, 1985).

A erva-mate tem um alto valor econômico nas regiões onde é cultivada ou explorada de modo extrativista. Entre os produtos de origem vegetal (excluindo as madeiras e derivados) que o Paraná exportou no ano de 1990, a erva-mate ocupou o terceiro lugar depois da soja e do café. A quantidade total (beneficiada mais cancheada) foi de 7.969 toneladas no valor de US\$ 12.026.166 FOB (BANCO DO BRASIL. DECEX, 1991).

### 2.1.3 CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS DA ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DA ERVA-MATE

Segundo Köppen, fica evidenciado que a distribuição predominante da erva-mate é abrangida pelos tipos climáticos Cfb, seguido pelo Cfa. Toda esta área esta compreendida na região sul-americana de climas pluviais temperados, indicado por Köppen pela letra C. Em sua grande maioria, as chuvas são regulares, distribuídas por todos os meses do ano, promovendo um clima sempre úmido (letra f), com variações de temperaturas do mês mais quente superiores ou inferiores a 22° C (letras a ou b, respectivamente). Há pequenas áreas de ocorrência com os tipos climáticos Cwa (temperado ou subtropical com período seco de inverno) e Aw (tropical com período seco no inverno) (Figura 2) (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

Segundo MARTINS (1949); LINHARES (1969) e IBDF (1975)<sup>1</sup> citados por OLIVEIRA e ROTTA (1985), as temperaturas médias anuais da área de ocorrência da erva-mate podem variar, de 12° a 24°C, sendo que na região dos pinheirais a média é de 17° a 21°C e, no Paraguai, de 22°C. A média anual de temperatura mais apropriada ao desenvolvimento ideal da erva-mate é de 20° a 23°C.

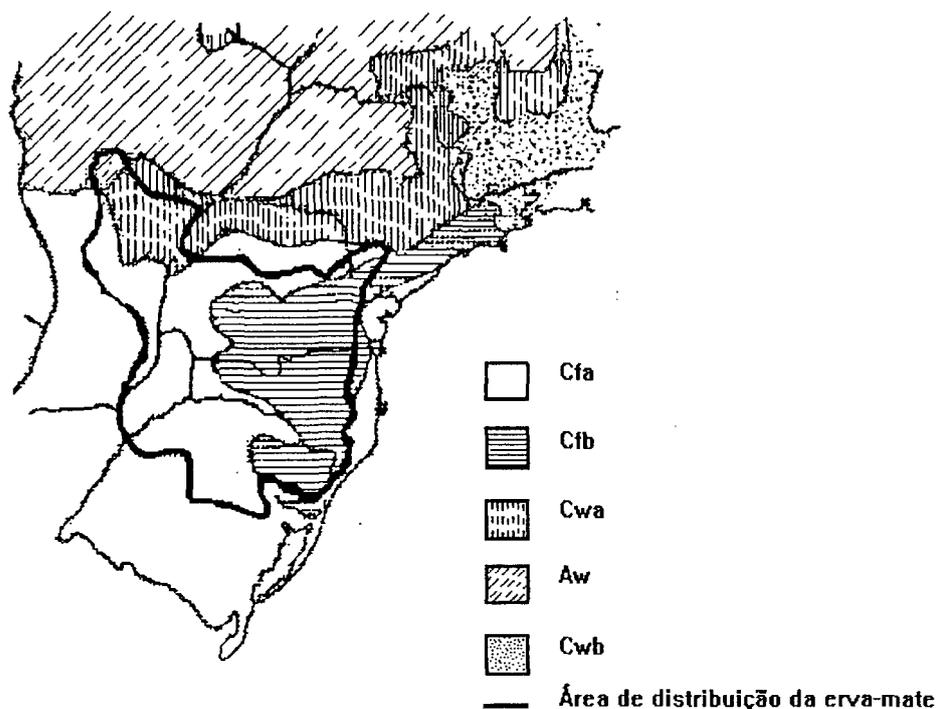


FIGURA 2- TIPOS CLIMÁTICOS DE KÖPPEN PARA A REGIÃO DE OCORRÊNCIA NATURAL DE ERVA-MATE. (FONTE: EMBRAPA-CNPF, 1983)

<sup>1</sup> MARTINS, R. G. O problema econômico do mate. Rio de Janeiro : Ministério da Agricultura, 1949. 43 p.; LINHARES, T. História econômica. Rio de Janeiro : J. Olympio, 1969. 522 p.; IBDF. Departamento de Industrialização e Comercialização. Erva-mate: origem, cultura e industrialização. Brasília, 1975. 25 p.

## 2.1.4 MANEJO DA ERVA-MATE

O manejo da erva-mate esta estreitamente relacionado com a alta incidência de *H. betulinus*, na cultura. Segundo BRANDÃO FILHO (1945), as podas em épocas apropriadas, as adubações e a limpeza dos troncos tornam as plantas mais resistentes.

As podas efetuadas com facão causam ferimentos na planta, que facilitam a entrada de pragas e doenças, dificultam a cicatrização e posteriormente a brotação e o crescimento da planta.. As práticas de conservação e adubação dos solos geralmente não são efetuadas, ou são efetuadas de maneira incorreta, o que torna a planta ainda mais estressada e susceptível ao ataque das pragas (JUAREZ, *ipsis verbis*)<sup>2</sup>.

## 2. 2 *Hedypathes betulinus*

### 2.2.1 POSIÇÃO SISTEMÁTICA

A posição sistemática da broca da erva-mate é:

ORDEM:	Coleoptera
SUBORDEM:	Polyphaga
SUPERFAMÍLIA:	Chrysomeloidea
FAMÍLIA:	Cerambycidae
SUBFAMÍLIA:	Lamiinae
GÊNERO E ESPÉCIE:	<i>Hedypathes betulinus</i> (Klug), 1825

---

<sup>2</sup> Informação obtida junto ao funcionário da empresa Matte Leão Reflorestamentos Ltda., Juarez Porcath.

## 2.2.2 BIOLOGIA

Segundo CASSANELLO (1992), o ciclo evolutivo de *H. betulinus*, em laboratório, dura em média, 318 dias, sendo 12 dias do período de incubação, 278 dias do estágio larval, 8 dias do estágio pré-pupal e 20 dias do estágio pupal. A larva apresenta de 8 a 10 ínstars. O período de permanência dos adultos na câmara pupal foi em média 6 dias. O período pré alimentar dura, em média 9,81 dias. A proporção de sexo é de 1,22 machos para cada fêmea. Os períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição duram em média: 16, 118 e 10 dias respectivamente. A fecundidade média das fêmeas foi de 95 ovos. O número de posturas foi em média de 31. O número médio de ovos por postura diária foi de 3 ovos. O maior número de ovos são colocados nos primeiros dias de oviposição. A fertilidade média dos ovos foi de 81,57 %. A longevidade média das fêmeas foi de 144,50 dias e dos machos, 100,60 dias. O ciclo de vida de *H. betulinus* foi de 489,75 dias para as fêmeas e 422,60 dias para os machos.

## 2.2.3 OCORRÊNCIA DE *Hedypathes betulinus* EM *Ilex paraguariensis*.

Exceto os insetos vetores de patógenos, um único inseto jamais poderia ser considerado uma praga, porque não produziria um dano que compensasse seu controle ou eliminação. Isoladamente ele não seria uma praga. Praga seria uma população de insetos que evidenciasse estragos ou danos às culturas e conseqüentemente afetasse a produção das mesmas. A população de um inseto seria um elemento unitário na determinação do momento preciso em que medidas de controle deversem ser tomadas, para que não ocorresse um dano econômico (NAKANO,1981).

Há aproximadamente quatro anos, *H. betulinus* vem aumentando sua população nos ervais da empresa Matte Leão Reflorestamentos Ltda, sendo objeto de controle

devido aos danos causados. A falta de inimigos naturais e o estresse da planta, são fatores do desequilíbrio da vêm da erva-mate (CASSANELLO, 1992).

Como exemplo cita-se uma área de 56 ha em Fernandes Pinheiro-Pr, onde foram coletados manualmente 46.778 adultos no período de setembro de 1990 a março de 1991 (dados obtidos do produtor que pagou Cr\$ 1,00 por inseto apanhado). No período de dezembro de 1994 a abril de 1995 foram coletados mais de 23.000 insetos em 40% da área das fazendas de Angaí e Fernandes Pinheiro-Pr, aproximadamente 283,2 ha. Não é possível deduzir com esses dados, se a população vem aumentando ou diminuindo devido ao número irregular de pessoal para a catação dos insetos nos diferentes anos, como também por não terem sido coletados os insetos, durante o mesmo período de tempo.

#### 2.2.4 COMPORTAMENTO E DANOS

As fêmeas efetuam as posturas em fendas na casca, a uma profundidade de 1 a 3mm, as vezes atingindo o lenho, colocando um ovo em cada fenda (CASSANELLO, 1992). A larva, recém eclodida, perfura com suas mandíbulas a casca da planta, até encontrar o lenho, que lhe serve de alimento (CÂNDIDO FILHO, 1929) As larvas são ápodas e brancas (GALLO *et. al.*, 1988).

A broca da erva-mate é do grupo dos serradores (CANDIDO FILHO, 1929). É assim chamada por perfurar os galhos, troncos e raízes da planta. A larva constrói galerias longitudinais ascendentes, que impedem a circulação normal da seiva, resultando no depauperamento das erva-mates (ALENCAR, 1960). A medida que perfura o tronco, a larva deixa atrás de si uma serragem, que vai se acumulando na base do caule, denunciando a presença da broca (MAZUCHOWSKI, 1989). Quando a larva se aproxima do período pupal, desce através da madeira e constrói galeria anelar, fazendo com que as plantas da erva-mate se quebrem sob a ação dos ventos, o que pode causar mortalidade entre as árvores (ALENCAR, 1960).

## 2.2.5 SINTOMAS DE ATAQUE NA PLANTA E CONTROLE

Os principais sintomas do ataque da broca da erva-mate são: grande quantidade de serragem jogada para fora das galerias (FRANKEL, 1983); folhagem escassa e amarelada (CASSANELLO, 1992); galhos secos no ápice da planta (CASSANELLO, 1991); apresentam galhos e até a planta toda quebrada pela ação dos ventos (BRANDÃO FILHO, 1945).

Devido ao hábito de abrigo das larvas que se encontram dentro dos ramos e tronco, as medidas de controle são difíceis de serem realizadas com eficiência (SOUZA, 1932). Algumas recomendações são realizadas de forma empírica por vários autores. GALLO *et al* (1988) recomenda a catação manual dos adultos e ramos caídos por ação da broca, bem como o esmagamento das larvas nas galerias. Além disso sugere o controle químico com fosfina em pasta, sem referir-se ao modo de aplicação.

Outros autores recomendam a utilização de medidas silviculturais visando minimizar o ataque da praga, como CASSANELLO (1991), que aconselha a consorciação de erva-mate, com outras essências florestais como pinus ou araucária, pois estas podem criar um ambiente favorável para a ação dos inimigos naturais.

Segundo ALENCAR (1960) as podas realizadas na época apropriada, as adubações e limpeza, tornam as plantas mais tolerantes ao ataque da broca da erva-mate.

BRANDÃO FILHO (1945) aconselha a poda das partes broqueadas a alguns centímetros abaixo da região infestada, quando o ataque é pouco intenso.

De acordo com informação do Dr. Rodolfo Golbach (*in littera*)<sup>4</sup>, se o núcleo entre um plantio e outro, está distanciado além da distância de vôo da fêmea de *H. betulinus*, haverá pouca probabilidade de ocorrer surtos da praga. Isto porque na natureza desenvolvem-se pequenas áreas de *I. paraguariensis*, com certa distância entre elas. Cita inclusive que os jesuítas tinham este conhecimento e por isso nunca faziam o cultivo em grandes extensões, mas sim, em pequenos núcleos dentro da mata densa, para dificultar o vôo da fêmea.

KIRCH (1983) recomenda para o controle biológico de *Oncideres impluviata* (Coleoptera: Cerambycidae), recomenda a coleta e o depósito dos galhos em valas, cobrindo-as posteriormente com tela milimetrada para possibilitar desta forma a saída dos inimigos naturais, ficando retidas as pragas.

Segundo SOARES, C. M. *et al* (1995), ocorre cerca de 53% de parasitismo natural de ovos de *H. betulinus*, pelo microhimenóptero *Eurytoma* sp., em ervais da fazenda Vila Nova município de Ivaí-Pr, evidenciando que este inimigo natural possui potencial para ser empregado no controle biológico de *H. betulinus*.

### 2.3 *Beauveria bassiana*

O gênero *Beauveria* pertence à classe Deuteromycetes e é comumente encontrado infectando insetos. Ocorre em mais de 200 espécies de insetos, de diferentes ordens (ALVES *et al.*, 1986).

A espécie *B. bassiana* pode ser diferenciada, segundo SAMSOM (1981), pelas seguintes características: conídios globosos ou subglobosos com 2,0 a 3,0 x 2,5 micrômetros, com conidióforos formando densos cachos e pelo aspecto das fiálides em ziguezague. Podem ocorrer linhagens da espécie passíveis de serem diferenciadas por características biológicas e bioquímicas.

O fungo *B. bassiana* ficou conhecido internacionalmente pelo produto soviético Boverin, formulação que contém  $6 \times 10^9$  conídios/g (ALVES *et al.*, 1986).

#### 2.3.1 PROCESSO DE PATOGENICIDADE

A germinação dos conídios, em condições favoráveis de umidade e temperatura, ocorre no mínimo em 12 horas. O conídio do fungo produz um tubo germinativo, em cuja extremidade apresenta uma estrutura denominada apressório. Na

parte inferior do apressório aparece a formação de uma saliência, o grampo de penetração, o qual penetra na epicutícula e procutícula do inseto. Na penetração estão envolvidos dois processos principais: o físico devido a pressão da hifa que rompe as áreas membranosas ou esclerotizadas e o químico, resultante da elaboração de enzimas (proteases, lipases, quitinases), que facilitam a penetração mecânica (ALVES *et al.*, 1986).

O aparelho bucal, ânus, regiões intersegmentais e tarsos são provavelmente as áreas mais comuns de penetração. A partir da penetração inicia-se o processo de colonização do hospedeiro pelo fungo. A hifa que penetra sofre um engrossamento e se ramifica. Após a morte do inseto o fungo cresce dentro do cadáver invadindo todos os tecidos internos penetrados por hifas filamentosas, mas não ocorre desintegração porque o entomopatógeno secreta substâncias antibacterianas (STEINHAUS, 1968).

O tempo de colonização do inseto pode variar de 76 a 120 horas dependendo do inseto, do entomopatógeno e das condições ambientais. A colonização dos diversos órgãos apresenta a seguinte sequência: corpos gordurosos, sistema digestivo e tubos de Malpighi, hipoderme e sistema nervoso, músculos e traquéias. De 48 a 60 horas após a morte do inseto, as hifas começam a emergir através dos espiráculos, das áreas mais fracas (região intersegmentar) e depois da cutícula mais grossa usando a pressão mecânica. A produção de conídios ocorre 24 a 48 horas depois da emergência das hifas sob condições de elevada umidade e temperatura. Os sintomas iniciais da doença podem aparecer como manchas escuras nas pernas, regiões intersegmentais ou distribuídas por todo o tegumento. O inseto cessa a alimentação tornando-se fraco e visivelmente desorientado. Posteriormente, o tegumento torna-se róseo, para depois o inseto assumir coloração esbranquiçada devido ao crescimento do micélio. Associado ao crescimento miceliano ocorre, sob condições favoráveis de temperatura e umidade, a conidiação ou conidiogênese do fungo, que pode ser reconhecida por uma formação pulverulenta que recobre todo o corpo do cadáver (ALVES *et al.*, 1986).

### 2.3.2 FATORES QUE INFLUENCIAM NA EFICIÊNCIA DE *Beauveria bassiana*

A duração das diferentes fases do ciclo das relações entomopatógono-hospedeiro depende das espécies de insetos envolvidos e das condições reinantes durante a ocorrência da doença. Tais condições estão relacionadas à temperatura, porcentagem de umidade e potencial de inóculo (FERNANDES, 1986).

HIRST *et al* (1967), citaram alguns fungos entomopatogênicos cujos conídios são facilmente disseminados pelo vento, porém a luz solar, falta de umidade e temperatura podem matar os conídios.

Para que os conídios permaneçam naturalmente no agroecossistema são necessárias algumas condições. Segundo MADELIN (1966), os fungos entomopatogênicos podem permanecer em outras espécies de insetos de acordo com o grau de especificidade do fungo, persistir como infecção dormente ou permanecer no solo em sua fase saprofítica, mantendo-se em matéria orgânica.

#### 2.3.2.1 Temperatura

A temperatura atua sobre o fungo entomopatogênico durante todas as suas fases, mas influencia sobre maneira, durante a germinação e desenvolvimento da infecção (fase parasítica) e após a morte do hospedeiro, na conidiogênese ou conidiação (fase reprodutiva), bem como na sobrevivência das estruturas de reprodução (FERNANDES, 1986).

Segundo ROBERTS e YENDOL (1971), os limites de temperatura para o crescimento de fungos estão entre 5 e 35°C e a faixa ótima entre 20 e 30°C. PANASENKO (1967), determinou que as temperaturas mínimas, ótimas e máximas para o fungo *B. bassiana* são, respectivamente, 3-5°C, 25-27°C e 36-38°C.

MASERA (1957) refere-se que a temperatura afeta tanto a germinação como o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos, no qual o limite para desenvolvimento está entre 5 e 35°C e a temperatura ótima entre 20 e 30°C, já ALVES *et al* (1986), afirmam que *B. bassiana* requer uma faixa de 22 a 26°C, para apresentar um bom desenvolvimento, porém pode suportar temperaturas de até 45°C.

O rápido crescimento micelial e portanto, a rápida evolução da infecção, dependem da temperatura e em geral, valores ótimos estão entre 20 e 30°C, sendo que, para *B. bassiana*, a temperatura ótima é de 25°C. (FERRON,1978).

FARGUES (1972) concluiu que as melhores condições de infecção de larvas de *Leptinotarsa decemlineata* Say.(Coleoptera: Chrysomelidae), 1824 por *B. bassiana* ocorre a 20°C, devido ao alongamento do ínstar da praga, embora a temperatura ótima para ambos seja a de 25°C.

Segundo ROBERTS e CAMPBELL (1977), tanto o desenvolvimento quanto o nível da doença, são mais altos na temperatura ótima para o fungo, que em temperaturas mais baixas. Em alguns casos, temperaturas abaixo do ótimo, aumentam os tempos letais sem afetar a mortalidade total, mas temperaturas acima do ótimo podem reduzir ou até mesmo eliminar a mortalidade dos insetos por fungo entomopatogênico. A temperatura é muito importante também na longevidade de conídios de fungos entomopatogênicos. A viabilidade de conídios é perdida mais rapidamente em altas temperaturas que em baixas.

### 2.3.2.2 Umidade relativa

A umidade relativa é importante na germinação, crescimento micelial, conidiogênese, dispersão e na sobrevivência de fungos entomopatogênicos. Entretanto várias pesquisas tem demonstrado que este fator nem sempre é limitante à eficiência destes microorganismos no controle de pragas (FERNANDES, 1986).

Segundo ROBERTS e YENDOL (1971), a umidade relativa pode ser limitante em dois períodos de uma epizootia por fungos. Inicialmente, altas umidades (90% ou mais) são necessárias durante no mínimo 48 horas, para a maioria dos fungos germinar e provocar doença; a conidiação em cadáveres só ocorre em altas umidades.

MC LEOD *et al.* (1966) mencionaram que os conídios possuem uma delicada membrana externa podendo perder ou ganhar água rapidamente, de acordo com a umidade do ar, sendo que em atmosfera insaturada perdem facilmente a viabilidade.

ALVES *et al.* (1986) sugerem que é provável que uma quantidade maior de umidade esteja presente sobre o inseto ou sobre os locais que eles vivem, assim, a umidade ao nível desses locais é mais importante para a ocorrência das doenças quando comparadas com a umidade atmosférica a nível macroclimático.

RAMONSKA (1984), trabalhando com *B. bassiana* em *Blissus leucopterus* Say., 1859 (Hemiptera: Lygaeidae), observou que o fungo provocou doença no inseto em umidades relativas de 30, 50, 75 e 100%, porém a conidiogênese só ocorreu em ambientes com umidade relativa de 75 e 100%.

Todavia várias linhagens de *Beauveria bassiana*, conseguiram matar e infectar insetos independente dos níveis de umidade relativa testadas.

FERRON (1977) estudando a influência da umidade relativa (0, 35, 55, 76, 92, 98 e 100%) sobre o desenvolvimento de infecção por *B. bassiana*, em adultos de *Acanthocelides obtectus* Say., 1831 (Coleoptera: Bruchidae), mostrou que a infecção ocorre independente da umidade relativa.

Vários trabalhos têm mostrado que, embora ocorra infecção por *B. bassiana*, em níveis baixos de umidade relativa (menor do que 90%), o desenvolvimento da infecção e mortalidade foram acelerados em umidades relativas maiores do que 90% (FERRON, 1977; DOBERSKI, 1981).

MOORE (1973), testou a patogenicidade de 3 fungos: *B. bassiana*, *Aspergillus flavus* e *Fusarium solani* em adultos de *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae) a temperatura de 0 a 30<sup>o</sup> C e umidades relativas de 55, 75 e 94% e não obteve diferenças significativas na mortalidade em função da variação da umidade.

### 2.3.2.3 Concentração

A estimativa da  $CL_{50}$ , concentração letal média, varia com a linhagem do fungo, espécie de inseto visado e modo de aplicação (FERRON, 1978). Também ressalta que tem sido estabelecido, por vários autores, uma correlação positiva entre o número de conídios infectivos e a mortalidade por fungo. Vários autores obtiveram acréscimos nos níveis de mortalidade e redução dos tempos letais em função de acréscimos nas concentrações de *B. bassiana* aplicadas.

FARGUES (1972) estudando as condições de larvas de *L. decemlineata* infectadas por *B. bassiana* confirmou que a mortalidade das larvas é uma função da concentração empregada.

ALVES *et al.* (1986) apresentam uma tabela com dados que representam a mortalidade acumulada do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boh., 1843 (Coleoptera: Curculionidae) pelo fungo *B. bassiana*. Nos dados, o menor potencial de inóculo correspondente a  $9 \times 10^3$  conídios/inseto foi incapaz de provocar mortalidade, até seis dias após a inoculação. Por outro lado nas concentrações de  $8 \times 10^4$  e  $5,5 \times 10^5$  conídios/inseto obteve-se uma mortalidade crescente. Os autores sugerem que, existe um número mínimo de estruturas do entomopatógeno necessárias para desencadear a doença num inseto ou numa população de insetos sensíveis.

### 2.3.2.4 Irradiação e fotoperíodo

A irradiação pode atuar sobre a germinação e sobre os estágios iniciais de crescimento do tubo germinativo (ALVES *et al.*, 1986).

Segundo BELL (1974), o fungo *B. bassiana* perde a infectividade quando submetido por três horas a luz solar direta.

ALVES *et al.* (1986) estudaram o efeito da luz ultravioleta de 2537 Å, sobre a germinação de 15 isolados de *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Concluíram

que em apenas 120 segundos de irradiação direta houve uma inibição de cerca de 95% na germinação dos conídios de todos os isolados.

SANTOS (1978) observou que tempos de irradiação de meio e um minuto aumentaram a sobrevivência dos conídios, porém, em tempos maiores diminuíram a porcentagem de sobrevivência. Cita ainda que a luz parece ter grande influência na produção de conídios e que sua ausência estimula o desenvolvimento negativo (crescimento miscelial) do fungo.

#### 2.3.2.5 Infectividade e agressividade

Os termos infectividade e agressividade são empregados como sinônimos em patologia de insetos e indicam níveis de doenças provocadas pelos entomopatógenos. A infectividade pode ser avaliada no laboratório através de bioensaios com insetos susceptíveis e pode ser expressa em TL<sub>50</sub> (tempo letal mediano). Os resultados de TL<sub>50</sub> de um mesmo isolado podem variar com a população de insetos submetida aos bioensaios e com as condições da realização dos mesmos (ALVES *et al.*, 1986).

#### 2.3.2.6 Microclima

A importância do microclima tem sido destacada por diversos autores. ROBERTS e YENDOL (1971) enfatizaram que o microclima ao redor do fungo é o ambiente crítico e observaram a ocorrência de epizootias de fungos sobre afídios, em campos de alfafa irrigada, situados em áreas desérticas.

FERRON (1977) e RAMONSKA (1984) afirmaram que a umidade relativa atmosférica e a micro umidade relativa na superfície do inseto seriam diferentes, sugerindo a existência de uma fina camada de ar úmido na superfície do mesmo.

Segundo RAMONSKA (1984), a micro umidade na superfície do inseto seria suficiente para que os conídios germinassem e penetrassem no corpo do inseto. A não produção de conídios em baixas umidades relativas seria devido a morte do inseto, quando este passaria a ter a mesma umidade atmosférica, sendo o fungo então dessecado e morto.

### 2.3.3 OCORRÊNCIA DE *Beauveria bassiana*

Alguns experimentos realizados em 1983, no departamento de Entomologia da ESALQ-USP, com *B. bassiana* visando o controle biológico do bicudo do algodoeiro *A. grandis* (Coleoptera: Curculionidae) e da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867 (Coleoptera: Scolytidae), em condições de laboratório, demonstraram que o entomopatógeno ocorre em condições naturais, enzooticamente ou provocando epizootias em algumas espécies de insetos praga (ALVES *et al.*, 1986).

Vários trabalhos tem sido realizados com *B. bassiana*. TONET e REIS (1979) testaram sua patogenicidade sobre *Diabrotica speciosa* Germar, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Nezara viridula* Linn., 1780 (Hemiptera: Pentatomidae) obtendo índices de mortalidade variando de 75,0 a 93,7% para ninfas de *N. viridula* e de até 100% para adultos de *D. speciosa* usando diferentes técnicas de inoculação.

OLIVEIRA (1990) constatou a ocorrência de *B. bassiana* em lagartas de *Rescynthis armida* Cramer (Lepidoptera: Adelocephalidae), 1780 comprovando através de inoculações artificiais, que o nível de patogenicidade atingiu 65%, em condições de laboratório.

MORGAN (1968) reportou a ocorrência de fungos entomopatogênicos em *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae), na Nova Zelândia, tais como a *B. bassiana* e *Ceratocystis* sp., refere-se a infecção como sendo não significativa.

Foi observada a presença do fungo *B. bassiana*, infectando a vespa-da-madeira, *S. noctilio*, em 1989, no Rio Grande do Sul (CARVALHO, 1992). DIODATO *et al.*

(1993) encontraram uma mortalidade natural de 23,80; 7,62 e 0,44%, em larvas, pupas e adultos da vespa-da-madeira, respectivamente.

Segundo DAGOBERTO *et al.* (1980) *B. bassiana* pode provocar até 95% de mortalidade em lagartas hibernantes de *Diatrea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae), em culturas de arroz em algumas regiões da Argentina.

ALESHINA (1978) relatou que *B. bassiana* tem sido o fungo mais estudado sob o ponto de vista comercial, sendo utilizado na Rússia contra 70 espécies de insetos.

Segundo HUSSEY e TINSLEY (1981), um exemplo do uso de *Beauveria* sp. em larga escala é o que vem ocorrendo na China, onde este patógeno foi aplicado, em 1977, numa área de aproximadamente 400.000 ha de milho, e os danos que chegavam a 60% antes das aplicações deste fungo diminuíram progressivamente a 2%.

*Beauveria bassiana* tem sido testada em diversos cerambicídeos. Adultos de *Plectrodera scalator* (Coleoptera: Cerambycidae), praga de *Populus deltoides* no Kentucky (E.U.A.), foram controlados pelo fungo, atingindo porcentagens de mortalidade superiores a 60% (FORSCHLER e NORDIN, 1989). *B. bassiana* ocorre naturalmente em *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), hospedeiro do nematóide *Bursaphelenchus xylophilus*, em árvores de *Pinus thunbergii* e *P. densiflora* (SHIMAZU, M. *et al.*, 1992).

No Paquistão, ARSHAD e HAFIZ (1983), testaram *B. bassiana*, no laboratório, em *Aeolesthes sarta* Solsky. (Coleoptera: Cerambycidae). Este inseto apresentou uma mortalidade, induzida pelo fungo, de 94,3 %.

Adultos de *H. betulinus* foram coletados no campo, contaminados com *B. bassiana* (SOARES, *ipsis verbis*)<sup>3</sup>.

---

<sup>3</sup> Informação obtida através de coleta efetuada por SOARES, C. M., em 1994 e identificação do fungo efetuada por SANTOS H.R.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE PESQUISA**

As pesquisas foram realizadas no Laboratório de Controle Biológico, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, e no campo em Fernandes Pinheiro, Município de Teixeira Soares, PR., na fazenda de propriedade da empresa Matte Leão Reflorestamentos Ltda. (Figura 3).

Os experimentos de campo foram instalados no talhão I da fazenda, sendo caracterizado por plantio de *I. paraguariensis*, de 15 anos, com espaçamento de 3 x 1 m, o qual estava há dois anos sem poda, portanto, com abundante massa foliar, o que oferece um ambiente com menor irradiação solar. As árvores tinham em média, altura de 2,0 m. e diâmetro de copa de 1,30 m.

Segundo a classificação de Köppen, a área de pesquisa é do tipo climático Cfb. Toda a área esta compreendida na região sul-americana de climas pluviais temperados, indicado pela letra C, as chuvas são regulares, distribuídas por todos os meses do ano, promovendo um clima sempre úmido (letra f), com variações de temperaturas do mês mais quente em torno de 22 °C (letra b).

Os dados meteorológicos da região, foram cedidas pelo IAPAR, da Estação de Teixeira Soares, latitude 25° 27' S, longitude 50° 35' W, altitude 893 m. (Anexos 5, 6, 7, 8 e 9).

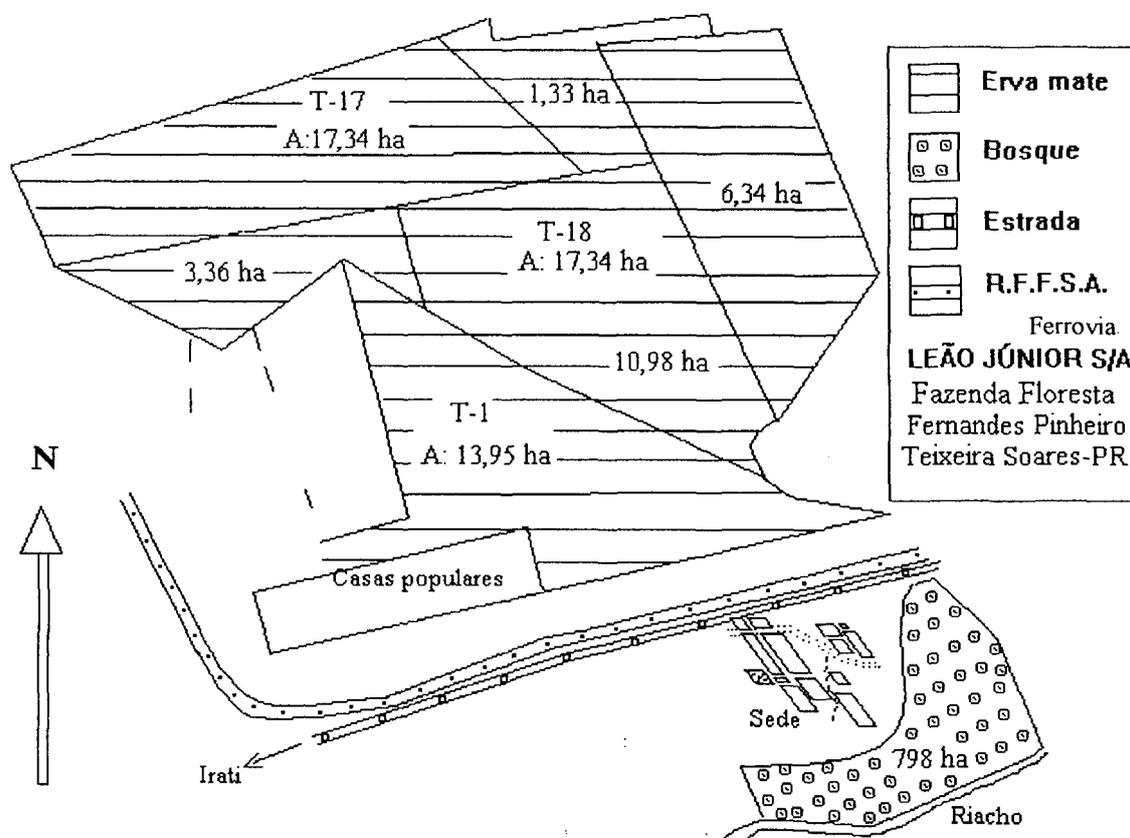


FIGURA 3 - CROQUI DA FAZENDA EM FERNANDES PINHEIRO, PR. ONDE FORAM REALIZADOS OS EXPERIMENTOS DE CAMPO E COLETADOS OS INSETOS PARA REALIZAÇÃO DOS TRABALHOS DE LABORATÓRIO. (FONTE: MATTE LEÃO REFLORESTAMENTOS LTDA, 1994)

### 3.2 LINHAGENS DE *Beauveria bassiana* UTILIZADAS NOS EXPERIMENTOS DE LABORATÓRIO E DE CAMPO

As linhagens utilizadas para os testes de controle de *H. betulinus*, em experimentos de laboratório, foram cinco, cedidas por diversas instituições (Tabela 1).

TABELA 1 - LINHAGENS DE *Beauveria bassiana* UTILIZADAS PARA OS EXPERIMENTOS DE PATOGENICIDADE EM *Hedypathes betulinus*, DISCRIMINADAS POR INSTITUIÇÕES E HOSPEDEIRO. CURITIBA, PR. 1993.

LINHAGEM	INSTITUIÇÃO	HOSPEDEIRO
2629	UNICAMP	Não específica de Cerambycidae
785	Inst. Boyce Thompson	Cerambycidae
152	USP	Chrysomelidae
212	USP	Cerambycidae
447	ESALQ	Hymenoptera

### 3.3 PRODUÇÃO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* E DETERMINAÇÃO DA FASE DE DESENVOLVIMENTO DE *Hedypathes betulinus* PARA O SEU CONTROLE.

O fungo *B. bassiana* foi produzido em meio de cultura BDA (batata, dextrose, ágar). As placas contaminadas com outros fungos foram descartadas utilizando-se apenas as não contaminadas. Foram empregadas as de primeira repicagem para laboratório e as de segunda, para os experimentos de campo. As linhagens repicadas foram mantidas em placa de Petri, vedadas com parafilme e transferidas para câmara de germinação marca Fanem, à temperatura média de  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . Após esporulação, foram transferidas para geladeira.

Devido ao fungo ser aplicado em pulverização, o adulto é facilmente atingido, disseminando o entomopatógeno durante o processo de busca de outro indivíduo de sexo oposto para o acasalamento. Já a larva apresenta a particularidade de se desenvolver dentro do tronco, dificultando o contato direto dos conídios com o inseto.

Por essas razões, deu-se prioridade ao estudo da patogenicidade de *B. bassiana* em adultos, na tentativa de interromper o ciclo do inseto.

#### **3.4 EXPERIMENTOS DE PATOGENICIDADE DE DIVERSAS LINHAGENS DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO**

Após a produção do fungo, conforme descrito no item anterior, foram obtidos os adultos no campo, através de coletas manuais. Os insetos foram confinados em gaiolas de madeira, com tela de arame e porta de vidro com dimensões de (0,30 x 0,30 x 0,60 m.) e transportados até o laboratório onde procedeu-se, de imediato, à imersão dos insetos, em suspensão das diferentes linhagens de *B. bassiana*. O experimento foi instalado em novembro de 1993.

A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer. A concentração utilizada foi de  $2,2 \times 10^8$  conídios/ml. Os insetos foram imersos, três vezes consecutivas, por um segundo na suspensão de *B. bassiana*, água destilada e duas gotas de lauril sulfato. As testemunhas foram imersas três vezes consecutivas, por um segundo em solução de água destilada e lauril sulfato. Em seguida foram individualizados em copos plásticos cilíndricos de 7 x 5 cm, com a tampa furada, com o fundo forrado com papel toalha umedecido e sobre este colocou-se pedaços de galhos, de 2,5 cm de diâmetro por 5,0 cm de altura, para alimentação dos insetos. Os copos plásticos foram mantidos em laboratório a temperatura ambiente, utilizando-se um termohigrógrafo para registrar a temperatura e a umidade relativa do ar. Os insetos foram mantidos com alimentação dentro dos recipientes. Foram feitas observações diárias, até a morte dos insetos e após 20 dias foram dissecados para verificação da causa da mortalidade. Devido a variação no tamanho dos insetos, provenientes do campo, verificou-se a homogeneidade da população através do teste de Bartlett, aplicando-se a técnica de medida de comprimento dos insetos sugerida por CASSANELLO (1992).

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com a quantidade de insetos demonstrada na Tabela 2, sendo cada linhagem um tratamento e cada inseto uma repetição, totalizando seis tratamentos. Foram utilizados machos e fêmeas indistintamente.

### **3.5 EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DA LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, EM LARVAS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO**

A primeira tentativa foi a de extração direta do inseto imaturo do galho, na planta, com o auxílio de machado e serrote. Devido à alta mortalidade dos indivíduos foi abandonado este processo. Realizou-se então a coleta de galhos caídos como consequência da galeria anelar construída pela larva. Com o auxílio de machadinha e formão efetuou-se a abertura dos galhos obtendo-se as larvas sem traumatizá-la. Face ao sucesso obtido os galhos caídos contendo larvas foram coletados e levados ao laboratório, para a obtenção das mesmas.

A população de larvas caracterizava-se pela homogeneidade em relação ao tamanho, sendo provavelmente do mesmo instar não sendo necessário a aplicação do teste de Bartlett.

O processo laboratorial de produção do fungo para o experimento de patogenicidade das larvas foi o mesmo citado no item 3.3, para experimento em adultos. A linhagem utilizada para larvas foi a 152, por ter sido promissora quando se realizou o experimento com adultos, usando-se uma concentração de  $2,2 \times 10^8$  conídios/ml. As larvas foram acondicionadas e individualizadas em copos plásticos cilíndricos de 7 x 5 cm, com a tampa furada, com o fundo forrado com papel toalha umedecido, sem alimento. Os copos plásticos foram mantidos em laboratório a temperatura ambiente, utilizando-se um termohigrógrafo para registrar a temperatura e a umidade relativa do ar. As observações foram feitas diariamente. O experimento foi realizado em Junho de 1994. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado,

com 48 insetos no tratamento e na testemunha, sendo cada inseto uma repetição, num total de 96 insetos. O comprimento médio das larvas foi de 2,6 cm.

### 3.6 EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DA LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CAMPO.

Este experimento foi realizado visando o controle, do adulto de *H. betulinus*, usando-se a linhagem 152 de *B. bassiana*. Os insetos foram acondicionados em galhos de plantas de erva-mate envolvidos com tela branca de nylon, amarrada nas extremidades com barbante (Figura 4). O delineamento estatístico foi o de blocos ao acaso e constou de três tratamentos, com as seguintes concentrações:  $5 \times 10^6$  e  $5 \times 10^7$  conídios/ml e testemunha. Cada tratamento foi constituído de seis blocos com dez insetos por repetição, totalizando 180 insetos. Os insetos mortos foram coletados diariamente durante 10 dias. Utilizou-se um termohigrógrafo para registrar a temperatura e a umidade relativa do ar.



FIGURA 4 - ACONDICIONAMENTO DE ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM GALHOS DE ERVA-MATE PARA APLICAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE *Beauveria bassiana*. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994. (DIODATO, M. A.)

Para os experimentos de campo, a suspensão foi preparada em laboratório e transportada dentro de garrafas plásticas de 1,5 litros, acondicionadas em isopor com gelo. A suspensão foi aplicada 24 horas após o preparo, com pulverizador de capacidade 1 litro. A suspensão era constituída de conídios de *B. bassiana*, linhagem 152, água destilada e duas gotas do espalhante adesivo lauril sulfato. A testemunha foi pulverizada com água e lauril sulfato.

### **3.7 EXPERIMENTO DE PATOGENICIDADE DAS LINHAGENS 152 E 447 DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CAMPO.**

As linhagens 152 e 447 foram utilizadas neste experimento, na concentração de  $2,76 \times 10^7$  conídios/ml. Os insetos foram confinados em gaiolas teladas, nas dimensões de 1 x 1 x 2 m. (Figura 5). Estes insetos foram coletados manualmente nos ervais e no mesmo dia confinados em gaiolas. As gaiolas foram montadas com estrutura de ferro e tela. Cada gaiola foi colocada de maneira que a planta era coberta totalmente por ela. A idade dos ervais era de 15 anos. Na parte inferior da gaiola foi feita uma vala onde foi colocada a borda da tela e cobriu-se com terra para que os insetos não fugissem. As pulverizações foram feitas com pulverizador de capacidade de um litro. nos insetos e na planta. A testemunha foi pulverizada com água e lauril sulfato. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado com dois tratamentos usando-se 50 insetos repetições. Foram utilizadas três gaiolas, cada uma contendo 50 insetos, sendo uma delas da testemunha. Utilizou-se um termohigrógrafo para registrar a temperatura e a umidade relativa do ar. Foram feitas observações diárias dos insetos.

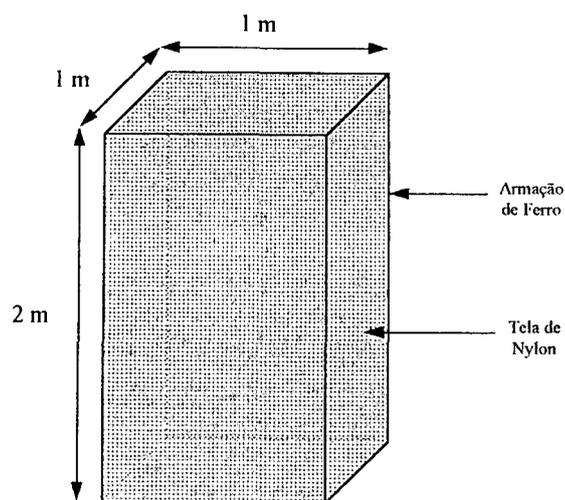


FIGURA 5- GAIOLA PARA CONFINAMENTO DE ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, PARA A APLICAÇÃO DAS LINHAGENS 152 E 447 DE *Beauveria bassiana*. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A produção do fungo antecedeu-se aos experimentos de laboratório. Observou-se visualmente que as linhagens 152 e 447 de *B. bassiana*, cresceram melhor, apresentando colônias que cobriam praticamente toda a placa. Estas linhagens também apresentaram menos fungos contaminantes e crescimento mais rápido.

### **4.1 AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE DIVERSAS LINHAGENS DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO.**

No experimento de patogenicidade de *B. bassiana* em adultos de *H. betulinus*, em laboratório, obtiveram-se as seguintes mortalidades corrigidas: 69,62; 66,82; 60,00; 56,61 e 37,28 % para as linhagens 152, 2629, 447, 785, e 212, respectivamente. A linhagem 152 foi a que apresentou maior porcentagem de mortalidade, porém, de acordo com o teste de Duncan, as linhagens não acusaram diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, diferindo apenas da testemunha (Tabela 2).

Na Tabela 2 verifica-se que a TL<sub>50</sub>, para todas as linhagens, foi de, no máximo, 10,57 dias e segundo CASSANELO (1992) o período de pré-oviposição da fêmea de *H. betulinus* é, em média, de 16 dias. Isto significa que as fêmeas podem ser atingidas pelo fungo antes de iniciarem a oviposição, evitando assim a produção de uma nova geração.

Devido ao fato do adulto de *H. betulinus* não causar danos severos pela alimentação, não justifica-se a escolha da linhagem pela menor TL<sub>50</sub> (linhagem 212:

7,65 dias), mas a que apresentou maior mortalidade, no caso a linhagem 152 (73,42 %) (Figura 6).

TABELA 2 - TOTAL DE INSETOS, INSETOS INFECTADOS POR *Beauveria bassiana* (N°), MORTALIDADE E MORTALIDADE CORRIGIDA (%), TEMPO LETAL MEDIANO (DIAS) E TESTE DE DUNCAN, POR LINHAGEM, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.

Tratamento	Total	Infectados (n°)	Mortalidade (%)	Mortalidade corrigida (%)	TL <sub>50</sub> (dias)	Duncan* (5%)
152	79	58	73,42	69,62	9,39	a
2629	62	44	70,97	66,82	10,57	a
447	80	52	65,00	60,00	9,00	a
785	79	49	62,03	56,61	8,68	a
212	82	37	45,12	37,28	7,65	a
Testem.	80	10	12,50	-	-	b

\* Médias seguidas das mesmas letras não indicam diferenças estatísticas.

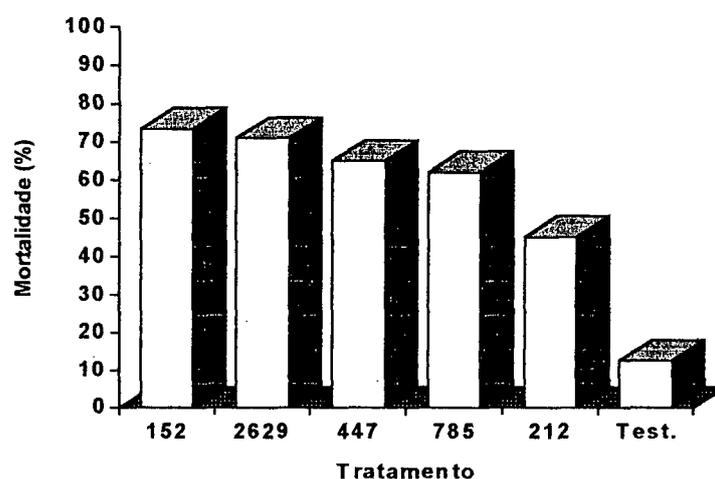


FIGURA 6 - MORTALIDADE DE ADULTOS DE *Hedypathes betulinus* (%), PROVOCADA POR DIVERSAS LINHAGENS DE *Beauveria bassiana*, NA CONCENTRAÇÃO DE  $2,2 \times 10^8$  CONÍDIOS/ML, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.

Durante o experimento tanto a temperatura mínima quanto a máxima (Anexo 10) mantiveram-se dentro da faixa ótima (20 a 30°C), o que propiciou melhores condições para a patogenicidade do fungo. Estes dados estão de acordo com MASERA (1957). Segundo FERRON (1978), a temperatura ótima é de 25°C.

Apesar da umidade estar abaixo do valor ótimo, a mortalidade e conidiação foram boas na maioria das linhagens. As porcentagens de umidade relativa máxima e mínima, estiveram abaixo de 90% (Anexo 11), valor considerado ótimo por ROBERTS e YENDOL (1971). Estes autores ainda acrescentam que a umidade relativa pode ser fator limitante nas primeiras 48 horas e na conidiação, quando requerem umidade em torno de 90%. Porém, alguns autores como FERRON (1977) e MOORE (1973), citam que a umidade relativa não é fator limitante da mortalidade.

Do total de insetos adultos infectados por *B. bassiana*, a extrusão foi de: 58,62; 36,36; 34,54; 32,65; 32,43%, para as linhagens 152, 2629, 447, 785 e 212, respectivamente (Tabela 3, Figura 7).

TABELA 3- QUANTIDADE DE INSETOS INFECTADOS, NÚMERO DE INSETOS COM EXTRUSÃO E EXTRUSÃO (%), POR LINHAGEM, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.

LINHAGEM	INSETOS INFECTADOS (Nº)	INSETOS COM EXTRUSÃO (Nº)	EXTRUSÃO (%)
152	58	34	58,62
447	55	19	34,54
785	49	16	32,65
2629	44	16	36,36
212	37	12	32,43

A maior porcentagem de extrusão, foi observada na linhagem 152 (Tabela 3, Figura 7). Este índice indica o potencial de disseminação dos conídios e pode aumentar o intervalo de aplicação do fungo para esta linhagem. Porém para que os conídios permaneçam viáveis, serão necessárias boas condições de temperatura e umidade relativa. Apesar de não terem sido feitos experimentos, quanto ao ciclo de vida e disseminação de *B. bassiana*, pode-se dizer que as condições para a persistência desta, no agroecossistema, depende de um manejo apropriado da cultura, quanto ao solo, podas e biodiversidade do meio ambiente.

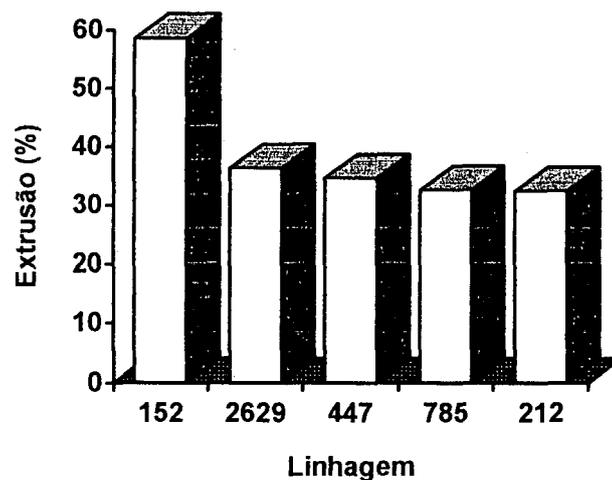


FIGURA 7- PORCENTAGEM DE EXTRUSÃO DE DIVERSAS LINHAGENS DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.

Após a morte, o inseto infectado leva alguns dias para apresentar o corpo coberto pelo inóculo. Esse período apresentou variações, de acordo com cada linhagem. A linhagem 785 foi a que apresentou menor tempo de extrusão, em relação às outras linhagens, sendo este de 4,7 dias. Conseqüentemente, esta linhagem formou conídios, para disseminação do fungo, antes que as outras linhagens. As linhagens 447

e 152 apresentaram um tempo de extrusão de 5,2 e 6,2 dias, respectivamente. As linhagens 2629 e 212 apresentaram mesmo período para a extrusão, que foi de 8 dias (Tabela 4, Figura 8).

TABELA 4- NÚMERO DE INSETOS AVALIADOS E TEMPO MÉDIO DA EXTRUSÃO DAS HIFAS (EM DIAS), DE CINCO DIFERENTES LINHAGENS DE *Beauveria bassiana*, NO CORPO DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.

LINHAGENS	INSETOS AVALIADOS (Nº)	TEMPO MÉDIO DA EXTRUSÃO (EM DIAS)
785	12	4,7
447	10	5,2
152	17	6,2
2629	05	8,0
212	01	8,0

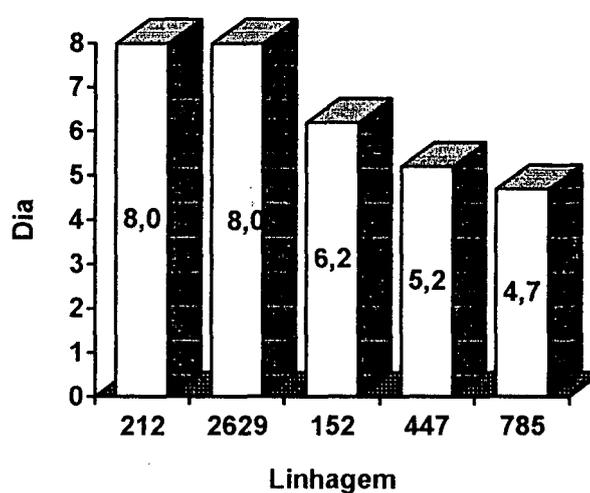


FIGURA 8- TEMPO MÉDIO (EM DIAS), PARA EXTRUSÃO DAS HIFAS DE CINCO DIFERENTES LINHAGENS DE *Beauveria bassiana* UTILIZADAS NO EXPERIMENTO COM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.

#### 4.2 SINTOMAS APRESENTADOS POR ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM DECORRÊNCIA DA AÇÃO DO FUNGO *Beauveria bassiana*.

Os adultos de *H. betulinus*, apresentaram os conídios do fungo *B. bassiana* externamente de forma compacta. Antes da morte do inseto os sintomas foram: tremores nas pernas e interrupção da alimentação. Após a morte, o inseto apresentou aspecto mumificado, sem odor desagradável, cavidade corpórea vazia, com uma camada de hifas aderida à superfície interna do corpo. Nos insetos em que houve a extrusão, muitos apresentaram primeiramente o fungo na cavidade bucal (Figura 9).

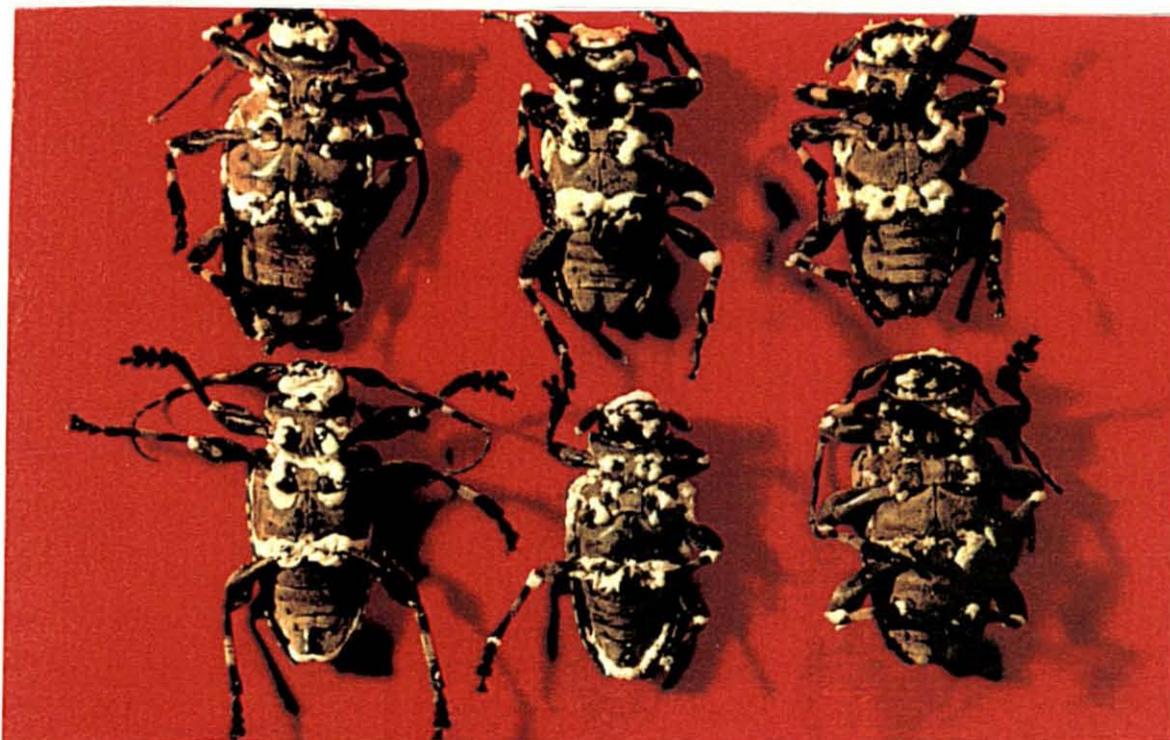


FIGURA 9- ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, INFECTADOS POR *Beauveria bassiana*, COM A MANIFESTAÇÃO EXTERNA DO FUNGO, NOS ESPAÇOS INTERSEGMENTAIS DO INSETO. CURITIBA, PR. 1993. (SANTOS, H. R.)

### 4.3 AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DA LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, EM LARVAS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO

Observou-se uma mortalidade acentuada nas larvas de 93,75% (Tabela 5, Figura 11) sendo superior à obtida para adultos tratados com a mesma linhagem, a qual foi de 73,42%(Tabela 2, Figura 6), em laboratório. Isto, provavelmente, ocorreu devido às larvas possuírem o corpo pouco esclerotinado. Segundo DIODATO (1993), as larvas de *Sirex noctilio* também são mais susceptíveis ao fungo *B. bassiana*, que os adultos, em laboratório. A TL<sub>50</sub> da linhagem 152 foi a mesma (9,39 dias), tanto em larvas (Tabela 5), quanto em adultos (Tabela 2), em laboratório. Na Figura 10 observa-se larvas de *H. betulinus* infectadas por *Beauveria bassiana*, com a manifestação externa do fungo.

TABELA 5- NÚMERO DE LARVAS DE *Hedypathes betulinus* MORTAS, MORTALIDADE E MORTALIDADE CORRIGIDA (%), NA CONCENTRAÇÃO  $2,2 \times 10^8$  CONÍDIOS/ML E TL<sub>50</sub> (DIAS), DA LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1994.

TRATAMENTO	TOTAL DE INSETOS	TOTAL MORTOS	MORTALIDADE (%)	MORTALIDADE CORRIGIDA (%)	TL <sub>50</sub> (DIAS)
152	48	45	93,75	93,02	9,39
Testemunha	48	05	10,40	-	



FIGURA 10- LARVAS DE *Hedypathes betulinus* INFECTADAS POR *Beauveria bassiana*, COM A MANIFESTAÇÃO EXTERNA DO FUNGO. CURITIBA, PR. 1994. (SANTOS, H. R.)

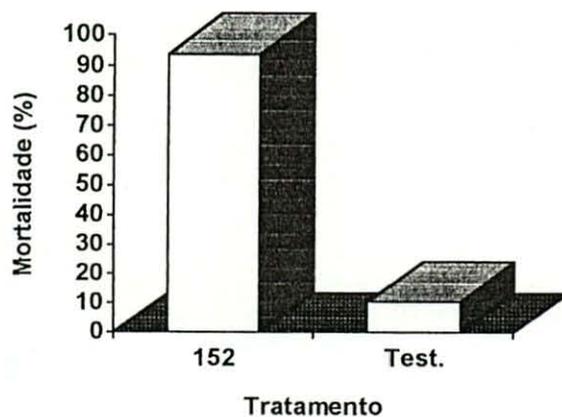


FIGURA 11- MORTALIDADE DE LARVAS DE *Hedypathes betulinus* (%), PROVOCADA PELA LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, CONCENTRAÇÃO DE  $2,2 \times 10^8$  CONÍDIOS/ML, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1994.

As temperaturas máximas e mínimas se mantiveram fora da faixa ótima - de 20° a 30°C (Anexo 12) -, sendo a TL<sub>50</sub> (9,39 dias), a mesma de adultos em laboratório na linhagem 152, cujas temperaturas máximas e mínimas mantiveram-se dentro da faixa ótima; provavelmente é uma determinação intrínseca à linhagem.

A umidade relativa, neste experimento (Anexo 13), esteve abaixo do ótimo - 90% - (ROBRITS & YENDOL, 1971), porém, segundo FERRON (1977) e MOORE (1973) a umidade não é fator limitante. Deve-se salientar no entanto que o microclima na superfície do corpo das larvas é mais úmido, sendo estas, providas de poucas cerdas e vivendo em um ambiente úmido, dentro dos ramos e troncos. ALVES *et al.* (1986), sugerem que é provável que uma quantidade maior de umidade esteja presente sobre o inseto ou sobre os locais que eles vivem, assim, a umidade ao nível desses locais é mais importante para a ocorrência das doenças quando comparadas com a umidade atmosférica a nível macroclimático.

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CAMPO.

##### 4.4.1 EXPERIMENTO COM A LINHAGEM 152 NAS CONCENTRAÇÕES 5 X 10<sup>6</sup> E 5 X 10<sup>7</sup> CONÍDIOS/ML.

Apesar das condições de temperatura e umidade relativa no campo oscilarem bastante, no experimento de patogenicidade de *B. bassiana* em adultos de *H. betulinus*, foram utilizadas duas concentrações menores do que a concentração utilizada em laboratório.

Conforme a Tabela 6 e Figura 12 a mortalidade de adultos de *Hedypathes betulinus* no campo com as concentrações 5 x 10<sup>6</sup> e 5 x 10<sup>7</sup> conídios/ml, apesar de baixa, comprovou a patogenicidade do fungo *B. bassiana*. Mesmo não tendo ocorrido

diferença significativa quanto a porcentagem de mortalidade entre as concentrações utilizadas, verifica-se que há uma tendência de aumento desta porcentagem quando utilizou-se uma concentração maior de conídios.

Os dados apresentados na Tabela 6 e Figura 12 mostram também, uma  $TL_{50}$  alta quando comparada ao período de pré postura de 16 dias referido por CASSANELO (1992). Entretanto, este valor alto de  $TL_{50}$ , não inviabiliza a utilização do fungo, visto que este teria tempo suficiente para atuar durante o período de postura do inseto, que é de 118 dias, segundo aquele autor.

TABELA 6- CONCENTRAÇÕES DA LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, NÚMERO TOTAL DE INSETOS POR TRATAMENTO, NÚMERO DE INSETOS MORTOS, MORTALIDADE (%),  $TL_{50}$  (DIAS) E TESTE DE DUNCAN, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.

TRATAMENTO (concentração)	TOTAL INSETOS	TOTAL MORTOS	MORTALIDADE (%)	DUNCAN*	$TL_{50}$ (dias)
$5 \times 10^6$	50	7	14	a	27,15
$5 \times 10^7$	50	11	22	a	25,21
Testemunha	50	5	10	a	-

\* Médias seguidas das mesmas letras não indicam diferenças estatísticas a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

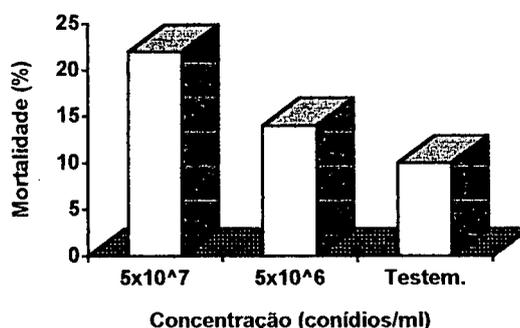


FIGURA 12- MORTALIDADE DE ADULTOS DE *Hedypathes betulinus* (%), PROVOCADA POR *Beauveria bassiana*, LINHAGEM 152, NAS CONCENTRAÇÕES  $5 \times 10^6$  E  $5 \times 10^7$  CONÍDIOS/ML, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.

As temperaturas máximas se mantiveram na faixa ótima na maior parte do tempo,  $25^{\circ}\text{C}$  segundo FERRON (1978). Porém as temperaturas mínimas estiveram fora da faixa ótima durante todo o experimento (Anexo 14). Segundo ROBERTS e CAMPBELL (1977), em alguns casos temperaturas abaixo do ótimo aumentam os tempos letais sem afetar a mortalidade total. A viabilidade dos conídios é perdida mais rapidamente em altas temperaturas que em baixas temperaturas.

A umidade máxima registrada esteve na maior parte do tempo dentro da faixa ótima, o que não ocorreu com a umidade mínima (Anexo 15). A pluviosidade neste período foi alta, não ocorrendo chuvas nos dois primeiros dias. Segundo MC LEOD *et al.* (1966), os conídios possuem uma delicada membrana externa podendo perder ou ganhar água rapidamente, de acordo com a umidade do ar, sendo que em atmosfera insaturada perdem facilmente a viabilidade.

#### 4.4.2 EXPERIMENTO COM AS LINHAGENS 152 E 447, NA CONCENTRAÇÃO $2,76 \times 10^7$ CONÍDIOS/ML.

Analisando os dados da Tabela 7 nota-se que os conídios da linhagem 447 foram mais eficientes na infecção de adultos de *H. betulinus* (34%) que a linhagem 152 (2%), havendo portanto uma diferença estatística entre ambas, a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Pode-se observar que a testemunha apresentou mortalidade superior à linhagem 152 (Figura 13).

TABELA 7- NÚMERO TOTAL DE ADULTOS DE *Hedypathis betulinus* POR TRATAMENTO, TOTAL DE INSETOS MORTOS POR *Beauveria bassiana*, NA CONCENTRAÇÃO DE  $2,76 \times 10^7$  CONÍDIOS/ML, MORTALIDADE (%),  $TL_{50}$ (DIAS) E TESTE DE DUNCAN, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.

TRATAMENTO	TOTAL ADULTOS	TOTAL MORTOS	MORTALIDADE (%)	$TL_{50}$ (Dias)	DUNCAN*
447	50	17	34	17,14	a
152	50	1	2	**	b
Testemunha	50	2	4	-	b

\* Médias seguidas das mesmas letras não indicam diferenças estatísticas.

\*\* Não é possível a obtenção de  $TL_{50}$  devido à baixa mortalidade do tratamento.

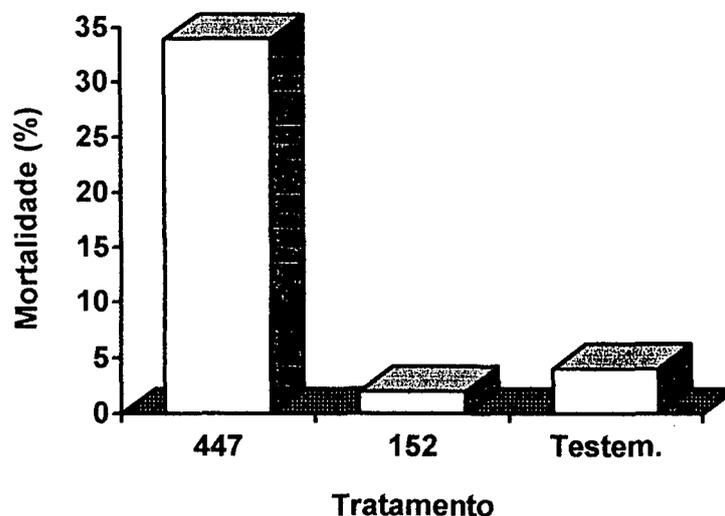


FIGURA 13- MORTALIDADE DE ADULTOS DE *Hedypathes betulinus* (%), RELATIVO AO EXPERIMENTO COM AS LINHAGENS 152 E 447 DE *Beauveria bassiana*, CONCENTRAÇÃO DE  $2,76 \times 10^7$  CONÍDIOS/ML, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.

A temperatura máxima apresentou-se dentro da faixa ótima de 25°C e foi constante durante todo o experimento (Anexo 16). As temperaturas mínimas estiveram abaixo de 20°C, podendo ter interferido na  $TL_{50}$ , que foi alta neste experimento. Neste teste as avaliações foram feitas durante o período de quatro dias, a partir do quinto dia não houve mortalidade.

A umidade relativa máxima apresentou-se dentro da faixa ótima e constante durante todo o experimento e a mínima esteve próxima de 50% no início do teste mas teve uma queda gradativa até o quarto dia chegando próximo de 30% (Anexo 17). FERRON (1977), em estudos com *Acanthocelides obtectus* Say 1831, cita que a infecção ocorreu independente da umidade relativa.

#### 4.5 IDENTIFICAÇÃO DE *Labena* sp., PARASITÓIDE DE LARVAS DE *Hedypathes betulinus*.

O parasitóide *Labena* sp. de larvas de *H. betulinus*, foi identificado como sendo da ordem Hymenoptera, família Ichneumonidae, sub-família Labeninae, gênero *Labena*. O parasitóide foi considerado como espécie nova, sendo descrita pelo professor Vinalto Graf. As larvas de *H. betulinus* apresentavam-se mortas e enegrecidas total ou parcialmente, quando encontradas dentro das galerias, nos galhos, onde se encontravam também as pupas do parasitóide.

## 5 CONCLUSÕES

Através deste trabalho, observa-se que o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. mostrou patogenicidade em *H. betulinus* (Klug, 1825), verificando-se que a linhagem 152 apresentou maior mortalidade e maior porcentagem de extrusão, em adultos da broca da erva-mate.

Deve-se visar o adulto para controle microbiano, devido ao fato das larvas se encontrarem dentro de troncos, galhos e raízes.

Todas as linhagens de *B. bassiana* apresentaram  $TL_{50}$  menor que o período de pré-oviposição da fêmea de *H. betulinus* (118 dias), permitindo que a progênie destes insetos não se instale no campo.

Os resultados de campo podem ser melhorados com aplicações de *B. bassiana* em concentrações superiores às utilizadas nos experimentos, durante o ciclo de adulto no campo.

As linhagens 152 e 447 são mais propícias para a produção em laboratório, por terem apresentado melhor desenvolvimento das colônias nas placas.

A ocorrência de *Labena* sp., citado pela primeira vez como parasitóide de *H. betulinus*, pode ser considerada como mais um fator de diminuição populacional da praga.

## 6 RECOMENDAÇÕES

1. O manejo da cultura deve ser aprimorado para ajudar na sobrevivência e dispersão do fungo, diversificando-se o meio ambiente com espécies florestais e agrícolas, fazendo-se agrossilvicultura e consorciação.
2. Testes em campo com as linhagens 447 e 2629 também devem ser efetuados.
3. A produção do fungo deve ser efetuada em laboratórios assépticos, caso os produtores se interessem na sua produção.
4. A aplicação do fungo deve ser feita de preferência ao entardecer devido a ação deletéria dos raios ultravioleta do sol.
5. Recomenda-se a catação dos galhos caídos no inverno e a abertura de valetas teladas, onde os galhos possam ser colocados e os inimigos naturais possam emergir.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALENCAR, F. R. de. Erva-mate. Rio de Janeiro : Serviço de Informação Agrícola. p. 19-23. 1960
2. ALESHINA, O. A. Composition and prospects for study of the entomopathogenic fungi of the USSR. Mikol.Fitopatol., Moscou, v.12, n.6, p. 457-460, 1978.
3. ALVES, S. B. *et al.* Controle microbiano de insetos. São Paulo : Manole, 1986. 407p.
4. ARSHAD, M.; HAFIZ, I. A. Microbial trials of a pathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the adults of *Aeolesthes sarta* Solsky (Cerambycidae: Coleoptera). Pak J. Zool., Lahore, v.15, n.2., p.213-215, 1983.
5. BANCO DO BRASIL. DECEX. Exportação: zona de produção/NBM/país; Paraná. jan/dez.1990. Curitiba, 1991. p. 1699 EE 020.01
6. BELL, J.V. Mycoses. In: CANTWELL, G. E. Insects diseases. New York: M. Dekker, p. 185-230. 1974.
7. BRANDÃO FILHO, J. S. Uma broca do mate. Sítios & Fazendas. Curitiba, v.3, n. 8/9, p. 55-58, 1945.
8. CANDIDO FILHO, J. A. A broca da herva-mate (*hedypathes betulinus*, Klug). O mate, Curitiba, v.1, p.13-14, 1929
9. CARVALHO, A. G. Bioecologia de *Sirex noctilio* Fabrícus, 1793 (Hymenoptera: Siricidae) em povoamentos de *Pinus taeda* L. Curitiba, 1992. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
10. CASSANELLO, A. M. L. Relatório de acompanhamento de experimento: Empresa Giacomet - Marodin Indústria de madeiras S/A. Quedas do Iguaçu Paraná. EMBRAPA-CNPQ, 1991. 4 p.
11. CASSANELLO, A. M. L. Ciclo de vida e aspectos morfológicos de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera : Cerambycidae : Lamiinae) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Curitiba, 1992. 611 f. Tese (Mestrado em Entomologia) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

- 12.COSTA, S. G. A erva-mate. Curitiba : Scientia et Labor, 1989. 86 p.
- 13.DAGOBERTO, E.; PARISI, R.; IANNONE, N. Dinámica poblacional de *Diatreia saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) y de sus enemigos naturales durante las campañas agrícolas 1978/79 y 1979/80. In: CONGRESO NACIONAL DE MAIZ. (2.: 1980: Pergamino). Anales, p.185-193. 1980.
- 14.DIODATO, M. A. Ocorrência natural, ensaio de laboratório e de campo de *Beauveria bassiana*(Bals.) Vuill, em *Sirex noctilio* F., praga de *Pinus taeda* L. Curitiba, 1992. 83 f. (Mestrado em Ciências Florestais) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- 15.DIODATO, M. A.; SANTOS, H. R. ; CARVALHO, A. G. Presença de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., em *Sirex noctilio*, praga de *Pinus taeda*. In: CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO (1. : 1993 : Curitiba) CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO (7. : 1993 : Curitiba). Anais. Curitiba: Sociedade Brasileira de Silvicultura, p.212-214. 1993
- 16.DOBERSKI, J. W. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus* : effect of the temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces affinosus*. J. Invertebr. Pathol., New York, v. 37, p. 195-200, 1981.
- 17.FARGUES, J. Étude des conditions d'infection des larves de doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* Say par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Fungi imperfecti) . Entomophaga, Paris, v. 17, p. 319-337, 1972.
- 18.FERNANDES, P. M. Influência da temperatura, umidade relativa do ar e dose na eficiência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Ceratoma arcuata* Oliv. (COL.: CRYDOMELIDAE). Piracicaba, 1986. 67 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo.
- 19.FERRON, P. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi imperfecti, Moniliales) in imagines of *Acanthocelides obtectus* (Col: Brochidae). Entomophaga, Paris, v. 22, n. 4, p. 393-396, 1977
- 20.FERRON, P. Biological control of insects pests by entomogenous fungi. Annu. Rev. Entomol., Palo Alto, v. 23, p. 409- 442, 1978.
- 21.FORSCHLER, B. T; NORDIN, G. L. Impact of *beauveria bassiana* on the cotton wood borer, *Plectrodera scalator* (Coleoptera, Cerambycidae) in a comercial cotton wood nursery. J. Entomol. Sci., Tifton, v. 24, n.2, p.186-190, Apr. 1989.

- 22.FRANKEL, A. M. La yerba mate: producción, industrialización, comercio. Buenos Aires: Albatroz, 1983. 175 p.
- 23.GALLO, D. *et al.* Manual de Entomologia Agrícola. 2 ed. São Paulo : Agronômica Ceres, 1988. 649 p.
- 24.HIRST, J. M.; STEDMAN, O. V.; HURST, G. W. Long distance spore transport: vertical sections of spore clouds over the sea. J. General Microbiology. n. 48, p.357-377. 1967.
- 25.HUSSEY, N. W.; TYNSLEY. Impression of insect pathology in the Peoples Republic of China. In: BURGESS, H. D. (Ed.) Microbial control of insects and mites. New York : Academic Press, 1981.
- 26.KIRCH, E. Estudos dos inimigos naturais de *Oncideres impluviata* (German, 1824) em *Mimosa scabrella* Benth. Curitiba, 1983. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná.
- 27.MADELIN, M. F. Fungal parasites of insects. Annu. Rev. Entomol., Palo Alto, v. 11, p. 423-448, 1966.
- 28.MASERA, E. *Metarrhizium anisopliae* (metsch) Sorokin, a parasita del baco da seta. Ann. Sper. Agrar., Rome, n.11, p.281-295, 1957
- 29.MAZUCHOWSKI, J. Z. Manual da erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. Curitiba : EMATER, 1989. 104 p.
- 30.MAZUCHOWSKI, J. Z. Diagnóstico e Alternativas para a erva-mate *Ilex paraguariensis*. Curitiba : EMATER, 1993. 141p.
- 31.MC LEOD, D. M.; CAMERON, J. W. M.; SOPER, R. S. The influence of environmental condicions on epizotics caused by entomogenous fungi. Rev. Roum. Biol. Ser. Bucharest., v. 11, p. 125-134, 1966.
- 32.MOORE, G. E. Pathogenicity of three entomogenous fungi to the southern pine beetle at various temperatures and humidities. Environ. Entomol., Lanham : College Park, v.2, n.1, p. 54-57, 1973.
- 33.MORGAN, D. F. Bionomics of Siricidae. Annu. Rev. Entomol., Palo Alto, v. 13, p. 239-256, 1968.
- 34.NAKANO, O. Entomologia econômica. Piracicaba : USP-ESALQ. Departamento de entomologia, 1981, 314 p.

35. OLIVEIRA, M. Y. M.; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS - SILVICULTURA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St Hil.), Anais. 10. Curitiba p.28-30, EMBRAPA-CNPQ, 1983. p. 47-52. 1985.
36. OLIVEIRA, D. P. Ocorrência de *Beauveria bassiana* parasitando a lagarta janina (*Rescynthis armida*), praga do cacauzeiro. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO) Anais. 2. Brasília CEPLAC/CEPEC, 1990. p. 117. 1990.
37. PANASENKO, V. T. Ecology of microfungi. Bot. Rev., New York, v. 33, p. 189-215, 1967.
38. RAMONSKA, W. A. The influence of relative humidity an *Beauveria bassiana* infectivity, and replication in the chinch bug *Blissus leucopterus*. J. Invertebr. Pathol., New York, v. 43, p. 309-394, 1984.
39. REDIG, A. P. L. A importância econômica atual da erva-mate. 1983: Curitiba SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, (10; 1983: Curitiba). Silvicultura de erva-mate, (Ilex paraguariensis St Hil.) Curitiba : EMBRAPA-CNPQ, p. 4. 1985.
40. ROBERTS, D. W. ; CAMPBELL, A. S. Stability of entomopathogenic fungi. In IGNOFFO, C. M. ; HOSTETTER, D. L. Environmental stability of microbial insecticides, 3. ed. New York : Entomological Society of América, 1977. 10 p.
41. ROBERTS, D. W. ; YENDOL, W. G. Use of fungi for microbial control of insects. In : BURGESS, H. D. (Ed.) Microbial control of insects and mites. New York : Academic Press, 1971. p. 125-149
42. SAMSOM, R. A. Identification of entomopathogenic Deuteromycetes. In : BURGUES, H. D. Microbial control of pests and plant diseases. New York : Academic Press, p. 93-106. 1981
43. SANTOS, A. L. L. Influência de alguns fatores no crescimento, germinação e produção de conídios de *Metharrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Piracicaba, 1978. 148 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo.
44. SHIMAZU, M. *et al.* Microbial control of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) by implanting wheat-bran pellets with *Beauveria bassiana* in infested tree trunks. Journal of the Japanese Forestry Society.v.74, n.4, p.325-330, 1992.

- 45.SOARES, C.M.S.; SANTOS, H.R.; IEDE, E.T. Avaliação do parasitismo natural de *Eurytoma* sp. (Hymenoptera: Eurytomidae) em ovos de *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera : Cerambycidae). In : CONGRESSO DE ENTOMOLOGIA (15.: 1995 : Caxambú). Anais. Caxambú: Sociedade Entomológica do Brasil, p.311. 1995
- 46.SOUZA, T. L. As Doenças da erva-mate In : Tecnologia da erva-mate. Porto Alegre: Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, p.13-18. 1932.
- 47.STEINHAUS, E. A. Enfermedades microbianas de los Insectos. In : DEBACH, P. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas, México, DF : Continental, 1968.
- 48.TONET, G. L.; REIS, E. M. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* em insetos pragas de soja. Pesqui. Agropecu. Bras., Brasília, v. 14, n. 1, p. 85-95, 1979.
- 49.ZANOTTO, C. Reflorestar com erva-mate.Brasil Madeira. Curitiba, v.3, n.30, p.10-11, 1979.

## **ANEXOS**

ANEXO 1 - DADOS DO TERMOHIGRÓGRAFO, EM LABORATÓRIO, COM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*. CURITIBA, PR. 1993.

DIA	TEMP. MÁXIMA (°C)	TEMP. MÍNIMA (°C)	U.R. MÁXIMA (%)	U. R. MÍNIMA (%)
1	30	24	62	44
2	28	23	61	51
3	28	24	54	51
4	28	25	55	53
5	28	25	60	54
6	27	25	55	54
7	26	25	59	55
8	28	25	63	60
9	27	24	64	61
10	28	24	65	64

ANEXO 2 - DADOS DO TERMOHIGRÓGRAFO, EM LABORATÓRIO, COM LARVAS DE *Hedypathes betulinus*. CURITIBA, PR. 1994.

DIA	TEMP. MÁXIMA (°C)	TEMP. MÍNIMA (°C)	U. R. MÁXIMA (%)	U.R. MÍNIMA (%)
1	24	14	55	55
2	15	13	75	74
3	15	14	75	74
4	17	15	71	69
5	18	16	74	69
6	18	17	74	72
7	18	17	76	74
8	18	16	80	76
9	18	15	89	70
10	16	14	75	70

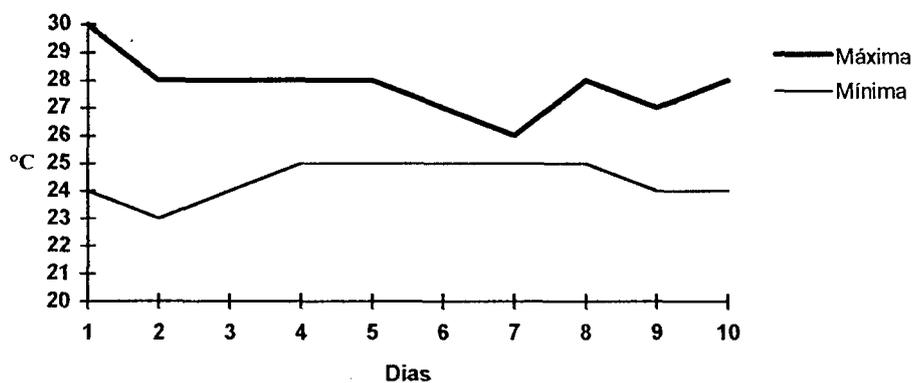




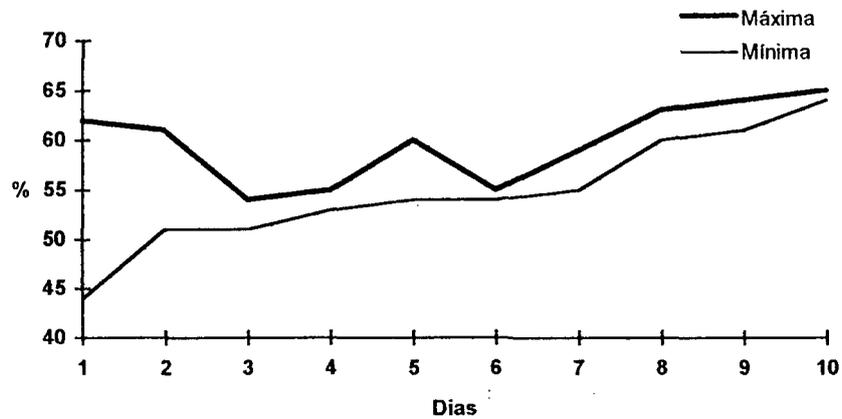
ANEXO 9 - PRECIPITAÇÃO MÉDIA MENSAL E ANUAL. TEIXEIRA SOARES,  
PR. 1994.

ANO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	MED
1991	131,5	57,8	72,6	106,1	39,0	258,3	16,3	56,7	51,6	215,6	103,9	265,0	1374,4
1992	85,2	191,7	209,5	60,1	461,1	66,0	125,4	130,2	97,1	140,0	97,4	57,6	1721,3
1993	154,6	189,5	93,0	41,7	262,4	86,8	162,0	21,1	347,2	153,3	55,7	358,7	1926,0
1994	159,7	239,6	64,0	121,9	111,6	189,4	197,8	5,3	31,9	166,2	140,7	205,3	1633,4
1995	404,9												

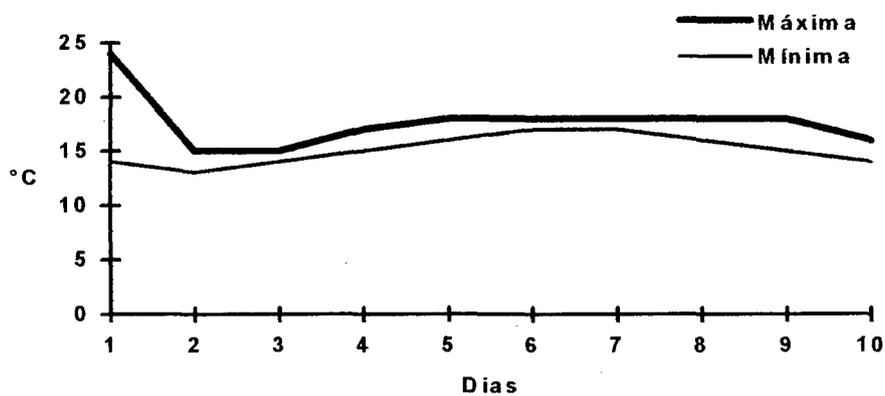
ANEXO 10 - TEMPERATURAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS  
DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS) COM  
ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO.  
CURITIBA, PR. 1993.



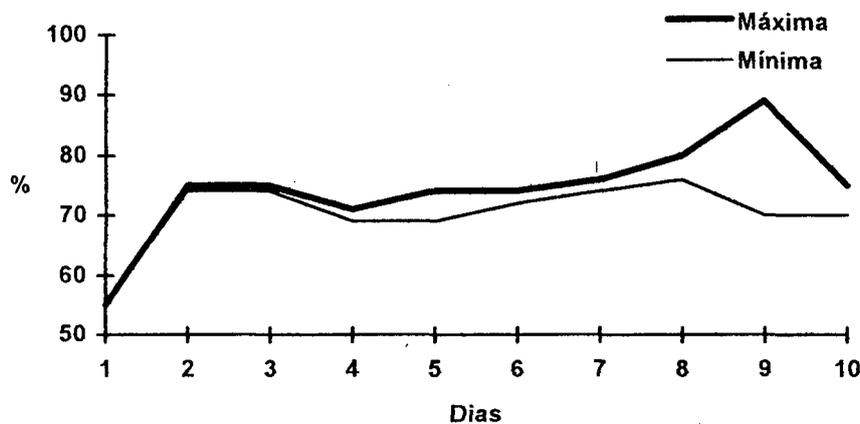
ANEXO 11 - UMIDADES RELATIVAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS) COM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.



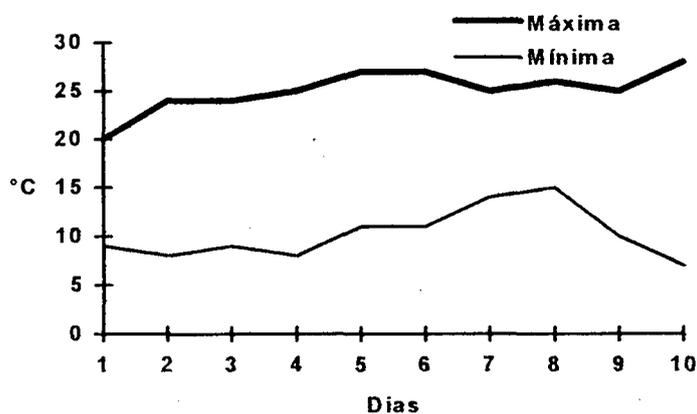
ANEXO 12 - TEMPERATURAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS) COM LARVAS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1994.



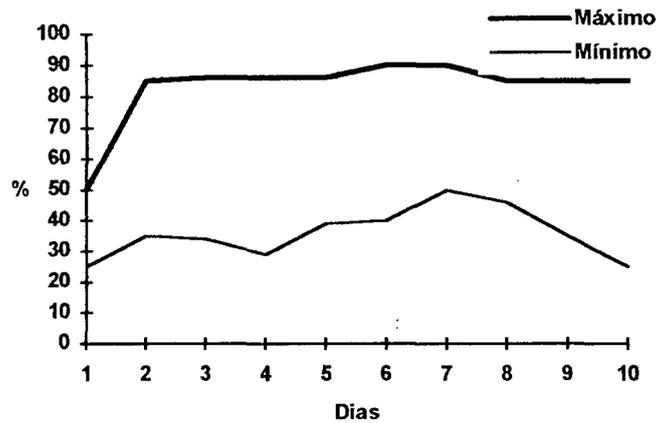
ANEXO 13 - UMIDADES RELATIVAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADA DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS) COM LARVAS DE *Hedypathes betulinus*, EM LABORATÓRIO. CURITIBA, PR. 1993.



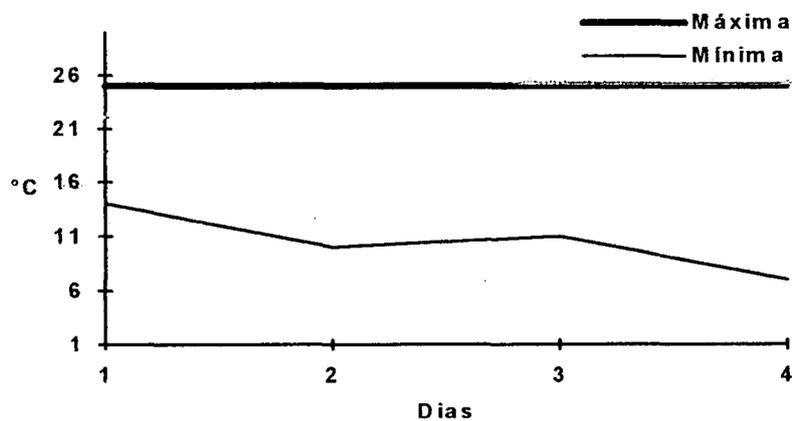
ANEXO 14 - TEMPERATURAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS) COM A LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CONCENTRAÇÕES DE  $5 \times 10^6$  E  $5 \times 10^7$  CONÍDIOS/ML, EM CAMPO. CURITIBA, PR. 1994.



ANEXO 15 - UMIDADES RELATIVAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS) COM A LINHAGEM 152 DE *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CONCENTRAÇÕES DE  $5 \times 10^6$  E  $5 \times 10^7$  CONÍDIOS/ML, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.



ANEXO 16 - TEMPERATURAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS), NO EXPERIMENTO COM AS LINHAGENS 152 E 447 de *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.



ANEXO 17 - UMIDADES RELATIVAS MÁXIMA E MÍNIMA REGISTRADAS DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO (10 DIAS), NO EXPERIMENTO COM AS LINHAGENS 152 E 447 de *Beauveria bassiana*, EM ADULTOS DE *Hedypathes betulinus*, EM CAMPO. FERNANDES PINHEIRO, PR. 1994.

