

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MIRELI TROMBIN DE SOUZA

Lobiopa insularis CASTELAU (COLEOPTERA, NITIDULIDAE): DANOS A
CAMPO E ASSOCIAÇÃO COM FUNGOS EM MORANGO

CURITIBA

2017

MIRELI TROMBIN DE SOUZA

***Lobiopa insularis* CASTELAU (COLEOPTERA, NITIDULIDAE): DANOS A
CAMPO E ASSOCIAÇÃO COM FUNGOS EM MORANGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Francine Lorena Cuquel
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Cassilha Zawadneak

CURITIBA

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, DOUGLAS ALEX JANKOSKI CRB 9/1167
COM OS DADOS FORNECIDOS PELA AUTORA

S729I Souza, Mireli Trombin de
Lobiopa insularis Castelau (Coleoptera, Nitidulidae): danos a
campo e associação com fungos em morango / Mireli Trombin de
Souza. - Curitiba, 2017.
65 f.: il., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
(Produção Vegetal).
Orientadora: Francine Lorena Cuquel
Coorientadora: Maria Aparecida Cassilha Zawadneak

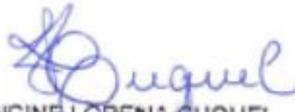
1. Morango – Doenças e pragas. 2. Broca (Inseto). 3. Coleoptero.
4. Morango - Cultivo. I. Cuquel, Francine Lorena. II. Zawadneak,
Maria Aparecida Cassilha. III. Título. IV. Universidade Federal do
Paraná.

CDU 632:634.75

TERMO DE APROVAÇÃO

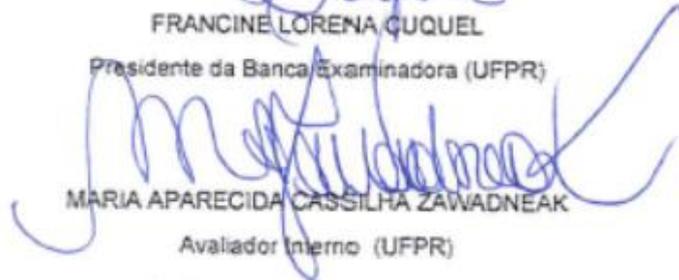
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de MIRELI TROMBIN DE SOUZA intitulada: *Lobiopa insularis* CASTELAU (COLEOPTERA, NITIDULIDAE): DANOS A CAMPO E ASSOCIAÇÃO COM FUNGOS EM MORANGO, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Curitiba, 21 de Fevereiro de 2017.



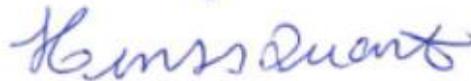
FRANCINE LORENA CUQUEL

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



MARIA APARECIDA CASSILHA ZAWADNEAK

Avaliador Interno (UFPR)



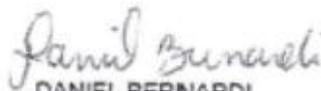
HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE

Avaliador Interno (UFPR)



MAGDA FERNANDA PAIXÃO

Avaliador Externo (SEE-PR)



DANIEL BERNARDI

Avaliador Externo (EMBRAPA)

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos”.

(Marcel Proust)

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais, José e Maria e a minha irmã Michele.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as bênçãos concedidas em minha vida.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR) e ao Programa de Pós Graduação em Agronomia-Produção Vegetal (PGAPV) pelo aprendizado adquirido e por todas as oportunidades de aprimoramentos de conhecimentos que me foram concedidas.

Aos meus pais, Maria da Conceição Trombin de Souza e José de Fátima de Souza, por todo o incentivo, apoio, atenção e amor que foram dedicados a mim e por terem acreditado nos meus estudos, independente dos esforços que teriam.

À Michele Trombin de Souza, pela alegria, amor e compreensão para comigo.

À Professora Dra. Francine Lorena Cuquel pela oportunidade de cursar o mestrado ao me aceitar como orientada, pela sua orientação e confiança depositada neste trabalho.

À Professora Dra. Maria Aparecida Cassilha Zawadneak pela co-orientação, amizade e confiança dedicada a mim.

À Professora Dra. Ida Chapaval Pimentel pela contribuição intelectual e sugestões de aprimoramento dos capítulos.

À Professora Dra. Sonia Maria Noemberg Lázari pela amizade e por tudo que me ensinou durante os anos de convívio.

Ao Professor Dr. Germano Rosado Neto pela identificação dos espécimes de *Lobiopa insularis*.

Ao Professor Dr. Átila Francisco Mógor por conceder a área experimental da Horta Orgânica do Centro de Estações Experimentais do Canguiri – CEEX – UFPR.

Aos professores da Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal, pelos ensinamentos compartilhados durante este período e que contribuíram de maneira positiva para a realização deste trabalho.

As servidoras da UFPR, Lucia Helena Lopes, Lucimara Antunes e Maria Emília Kudla, pelo auxílio durante o período de estudos.

Aos produtores rurais Jocélia Filibrante e Marcelo Lechneak pela confiança dedicada ao nosso grupo de pesquisa e por abrirem a porta de suas propriedades para que pudéssemos realizar as coletas dos insetos.

À Carolina Gracia Poitevin, Isabela Pauluk Corrêa, Mariana Vieira Porsani e Patrícia Fernanda Herkert pelos ensinamentos em microbiologia.

Aos amigos do Laboratório de Ângelo Moreira da Costa Lima da UFPR, em especial ao Rodrimar Barboza Gonçalves, Ádelia Bischoff, Aline Borba, Eneida Dolci e Estela Brenner pela amizade, companheirismo e disposição em ajudar.

Aos amigos Cristhian Hernández, Diones Krinski, Felipe Francisco, Germana Dognani, Jaqueline Fonseca, Jeidi Yasmin Galeano Cobos, Jessica Kaiser, Luis Fernando Martins do Amaral, Marcelle Michelotti Bettoni, Pamela Siqueira Hennipman, Roger Cipriano Raupp, Teomar Duarte da Silva, Thalita Mocellin, Vinicius Demetrius Tonon de Souza, Viviane Machado de Freitas e Wanderlei do Amaral pela caminhada percorrida durante esses anos e pelos momentos de alegrias.

A todos aqueles que posso ter esquecido, mas que sempre me ajudaram e torceram por mim.

Muito obrigada!

RESUMO

A broca-dos-frutos *Lobiopa insularis* é relatada como uma praga importante de morangueiro, pelos prejuízos ocasionados aos morangos e pela dificuldade de controle. As larvas e adultos desta espécie são associados a frutos danificados e a fungos fitopatogênicos, os inviabilizando para o consumo e comercialização. Todavia, as informações sobre esta praga ainda são incipientes. Assim, esse estudo teve como objetivos caracterizar e quantificar os danos ocasionados por *L. insularis* em diferentes estádios de maturação dos frutos e identificar associações deste inseto com fungos em morangueiro. Para o bioensaio de caracterização de danos foram utilizados morangos em diferentes estádios de maturação (verde, semi-maduro ou maduro) infestados com larvas ou adultos de *L. insularis*. Para o bioensaio de associações fúngicas, foram selecionados os cadáveres dos adultos que mostraram contaminação por fungos. Os isolados fúngicos foram identificados por sequenciamento molecular. Larvas e adultos de *L. insularis* ocasionaram injúrias em todos os estádios de maturação. Contudo, os diâmetros das lesões e as percentagens de injúrias foram maiores em frutos semi-maduros e maduros. Os morangos semi-maduros e maduros apresentaram incidência de *Rhizopus* sp. quando infestado com larvas ou adultos. Nos três estádios de maturação foram observadas posturas próximas às sépalas. O isolamento fúngico confirmou a presença de 320 amostras fúngicas recuperadas a partir dos cadáveres de *L. insularis*. O maior número de espécies encontradas pertence aos gêneros *Penicillium* e *Fusarium*, seguidos por *Talaromyces* e *Aspergillus*. Os gêneros *Clonostachys*, *Scedosporium*, *Purpureocillium*, *Trichoderma* e *Rhizopus* foram representados apenas por uma espécie. Esse estudo fornece informações básicas que poderão contribuir no manejo da praga em campo.

Palavras-chave: *Fragaria x ananassa*, broca-dos-frutos, Coleoptera, Nitidulidae

ABSTRACT

The sap beetle *Lobiopa insularis* is reported as an important pest of strawberry, due to damage caused to strawberries and to difficult control. Larvae and adults of this species are associated with damaged fruits and phytopathogenic fungi, making fruits unsuitable for consumption and marketing. However, information about this pest is still incipient. This study aimed to characterize and quantify damages caused by *L. insularis* at different fruit maturation stages and to identify associations of this insect with fungi in strawberry. In a bioassay designed to characterize damages we used strawberries at different maturation stages (green, semi-ripe, or ripe) infested with *L. insularis* larvae or adults. In a bioassay on fungal associations, cadavers of adults showing fungal contamination were selected. Fungal isolates were identified by molecular sequencing. *L. insularis* larvae and adults caused injuries at all maturation stages. However, lesion diameters and damage percentages were higher in semi-mature and mature fruits. Semi-ripe and ripe strawberries showed incidence of *Rhizopus* sp. when infested with adults. Eggs were observed near the sepals at the three maturation stages. Fungus isolations confirmed the presence of 320 fungal samples recovered from *L. insularis* corpses. The highest number of species found belongs to the genera *Penicillium* and *Fusarium*, followed by *Talaromyces* and *Aspergillus*. The genera *Clonostachys*, *Scedosporium*, *Purpureocillium*, *Trichoderma*, and *Rhizopus* were represented by only one species. This study provides basic information that may contribute for pest management in the field.

Key words: *Fragaria x ananassa*, sap beetles, Coleoptera, Nitidulidae

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2. 1 - ADULTO (A) E LARVA (B) DE <i>Lobiopa insularis</i> COLETADOS NA CULTURA DO MORANGUEIRO.....	21
FIGURA 2. 2 - CICLO BIOLÓGICO DE <i>Lobiopa insularis</i> CRIADA EM DIETA ARTIFICIAL, EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS.....	22
FIGURA 2. 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE <i>Lobiopa insularis</i> NO CONTINENTE AMERICANO.	23
FIGURA 3. 1 - MODELO DA GAIOLA CONFECCIONADA COM COPO PLÁSTICO (100 ML) PARA O CONFINAMENTO DE <i>Lobiopa insularis</i> EM FRUTO DE MORANGUEIRO.....	34
FIGURA 3. 2 - DANOS OCASIONADOS POR <i>Lobiopa insularis</i> EM FRUTOS DE MORANGUEIRO EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS.....	36
FIGURA 3. 3 - DIÂMETRO DA LESÃO (MM) (I) E PERCENTAGEM DE DANOS (%) (II) OCASIONADOS POR LARVAS OU ADULTOS DE <i>Lobiopa insularis</i> EM FUNÇÃO DOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS DE MORANGUEIRO.....	37
FIGURA 3. 4 - ANÁLISES QUÍMICAS DOS FRUTOS DE MORANGUEIRO, APÓS A ALIMENTAÇÃO DE <i>Lobiopa insularis</i> , NOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FUNÇÃO DE PH (I), STT (II), ATT (III) E STT/ATT (IV).....	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 2. 1 - PRINCIPAIS ESPÉCIES FITOPATOGÊNICAS ASSOCIADAS A CULTURA DO MORANGUEIRO CAUSANDO DOENÇAS EM FOLHAS, FRUTOS, COROA E RAIZ.....	26
TABELA 3. 1 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON EM MORANGOS DANIFICADO POR <i>Lobiopa insularis</i> EM FUNÇÃO DOS PARÂMETROS DE DIÂMETRO, POTENCIAL DE HIDROGÊNIO (PH), SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST), ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT) E SST/ATT.	39
TABELA 4. 1 - TAXA DE COLONIZAÇÃO (%), DIVERSIDADE E SIMILARIDADE DA COMUNIDADE FÚNGICA ISOLADA DE <i>Lobiopa insularis</i> EM SISTEMAS DE CULTIVO CONVENCIONAL E ORGÂNICO DE MORANGUEIRO. .	52
TABELA 4. 2 - ABUNDÂNCIA RELATIVA (%) DE ESPÉCIES FÚNGICAS OBTIDAS A PARTIR DE <i>Lobiopa insularis</i> EM SISTEMAS DE CULTIVO CONVENCIONAL E ORGÂNICO EM MORANGUEIRO.	53

LISTA DE ABREVIATURAS

T	–	tonelada
Mm	–	milímetro
H	–	Hora
T	–	temperatura
UR	–	umidade relativa
et al.	–	e outros; e colaboradores
S	–	Sul
O	–	oeste
mL	–	mililitro
Cm	–	centímetro
pH	–	potencial hidrogeniônico
SST	–	teor de sólidos solúveis totais
ATT	–	acidez total titulável
N	–	número de observações
DNA	–	ácido desoxirribonucleico
PCR	–	Reação em Cadeia da Polimerase
Ng	–	nanogramas
G	–	grama
Mg	–	miligrama
μM	–	micrometro
pmoles	–	picomole
dNTP	–	Deoxiribosenucleosídeo trifosfato
MgCl ₂	–	cloreto de magnésio
μL	–	microlitro
ITS	–	espaçador transcrito interno
F	–	forward (<i>anti sense</i>)
R	–	reverse (<i>sense</i>)
UV	–	radiação ultravioleta
GenBank	–	Banco de dados genéticos
H'	–	Índice Shannon-Weiner
Cs	–	Coefficiente de Similaridade de Sorensen
TC	–	taxa de colonização

LISTA DE SIGLAS

AGROFIT	–	Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários
IBGE	–	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
FAOSTAT	–	Divisão de Estatísticas da Organização das Nações Unidas para alimentação e a Agricultura
UFPR	–	Universidade Federal do Paraná
CEEX	–	Centro de Estações Experimentais do Canguiri
NCBI	–	National Center Biotechnology Information
BLAST	–	Basic Local Alignment Search Tool
PGAPV	–	Programa de Pós Graduação em Agronomia/ Produção Vegetal

LISTA DE SÍMBOLOS

%	–	porcentagem
°	–	Graus
°C	–	graus Celsius
v/v	–	volume/volume
'	–	Minutos
"	–	segundos
≥	–	maior ou igual
±	–	mais ou menos
-	–	Negativo
®	–	marca registrada
Σ	–	somatório de números
@	–	Arroba

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 NITIDULIDAE (COLEOPTERA) E SUA IMPORTÂNCIA EM MORANGUEIRO, COM DESTAQUE <i>Lobiopa insularis</i> (CASTELNAU,1840)	20
2.2 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA E BIOLÓGICA DE <i>Lobiopa insularis</i>	20
2.2.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	23
2.2.2 PLANTAS HOSPEDEIRAS E DANOS OCASIONADOS AO MORANGUEIRO	24
2.3 ASSOCIAÇÕES FÚNGICAS COM ARTRÓPODES E DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS EM PLANTAS	24
2.4 PRINCIPAIS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS AO MORANGUEIRO	25
2.5 ASSOCIAÇÕES FÚNGICAS DEPENDENTES DO SISTEMA DE CULTIVO..	26
3 DANOS CAUSADOS EM MORANGOS A CAMPO POR <i>LOBIOPA INSULARIS</i> (COLEOPTERA, NITIDULIDAE)	29
3.1 INTRODUÇÃO	31
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.2.1 PROCEDÊNCIA DOS INSETOS	32
3.2.2 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS EM MORANGOS	32
3.2.3 LOCAL DO ESTUDO E INCLUSÃO DAS GAIOLAS	33
3.2.4 ANÁLISE DOS FRUTOS	34
3.2.5 ANÁLISE DOS DADOS	35
3.3 RESULTADOS	35
3.4 DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS	43

4 DIVERSIDADE DE FUNGOS ASSOCIADOS COM <i>LOBIOPA INSULARIS</i> EM MORANGUEIRO	46
4.1 INTRODUÇÃO	48
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	49
4.2.1 LOCAIS DE AMOSTRAGENS E ISOLAMENTO FÚNGICO.....	49
4.2.2 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS ISOLADOS DE <i>L. insularis</i>	49
4.2.3 INTERPRETAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS	50
4.3 RESULTADOS	51
4.3.1 TAXA DE COLONIZAÇÃO	51
4.3.2 COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE FÚNGICA.....	51
4.4 DISCUSSÃO	54
REFERÊNCIAS	57
5 CONCLUSÕES GERAIS	60
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
REFERÊNCIAS GERAIS	62

1 INTRODUÇÃO GERAL

O morangueiro, *Fragaria x ananassa* (Duchnese), é cultivado nos cinco continentes, sendo a produção mundial concentrada na Europa (40%) e na América (35%) seguido minorativamente pela Ásia (18%), África (6%) e Oceania (1%). No contexto mundial, o Brasil ocupa 54ª posição na lista dos países produtores de morangos com a produção anual estimada de 3.200 t, concentrando principalmente nos Estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo (MADAIL, 2008; FAOSTAT, 2013). A importância nacional do cultivo se deve ao fato da elevada rentabilidade por área, constituindo como fonte socioeconômica para pequenos e médios produtores (RONQUE et al., 2013). Além disso, é um fruto amplamente aceito pelo consumidor devido às características nutricionais e pela variedade de opções de comercialização e processamento dos frutos (SPECHT; BLUME, 2009; FACHINELLO et al., 2011).

A cultura do morangueiro é suscetível à diversas doenças e artrópodes-praga que podem reduzir drasticamente a produtividade (ZAWADNEAK; SCHUBER; MÓGOR, 2014). Dentre os principais insetos-praga que atacam o morangueiro, *Lobiopa insularis* (Castelnau, 1840) (Coleoptera, Nitidulidae), é um dos insetos mais prejudiciais à cultura no Brasil (ZAWADNEAK et al., 2014). Esta espécie é conhecida como broca-dos-frutos, pois, tanto larvas quando adultos se alimentam desta parte da planta. Estima-se que as perdas ocasionadas por essa praga de aproximadamente 20% e nos casos mais severos de infestações os prejuízos podem chegar em 70% no período de colheita (FORNAZIER; TEIXEIRA; PEREIRA, 1986; SALLES; WILLIAMS, 1986).

Durante o período de frutificação, os insetos provocam a redução qualitativa dos frutos, devido à alimentação direta nessas estruturas, o que os inviabilizam para o consumo e comercialização (GUIMARÃES et al., 2009; RONDON; PRICE; CANTLIFFE, 2014; ZAWADNEAK et al., 2014). Paralelamente a isso, os besouros tornam os frutos vulneráveis ao ataque de outros insetos e fitopatógenos, como a mosca-drosófila e a podridão de *Botrytis* (mofo cinzento), uma das doenças mais importantes da cultura do morangueiro (POTTER et al., 2013; RONDON; PRICE; CANTLIFFE, 2014). A maior parte dos danos provocados por *L. insularis* podem ser observadas durante a fase de colheita dos morangos, sendo o predomínio das infestações em cultivo realizado no solo (túnel baixo) quando comparado ao cultivo

hidropônico ou semi-hidropônico (WILLIAMS; SALLES, 1986; ZAWADNEAK; SCHUBER; MÓGOR, 2014).

Apesar da importância agrícola de *L. insularis* para o morangueiro, estudos que evidenciam os danos ocasionados por essa praga são escassos (FORNARI et al., 2013). Outrossim, a atuação dos adultos como vetor de fitopatógenos não é confirmada, uma vez que, as associações dos fungos com os insetos ainda não foram elucidadas. Com base nesses estudos, informações importantes podem ser utilizadas no desenvolvimento de novas estratégias de manejo da praga. Atualmente no Brasil, o controle de *L. insularis* é realizado por meio de pulverizações com inseticidas químicos dos grupos alfa-cipermetrina (piretroide) + teflubenzurom (benzoiluréia) e clorfenapir (análogo de pirazol) (AGROFIT, 2016). Contudo, um dos principais entraves ao aplicar estes produtos deve-se ao longo período de carência, o que restringe a colheita de frutos no período.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram (i) caracterizar os danos ocasionadas por *L. insularis* em diferentes estádios de maturação dos frutos e (ii) identificar os fungos associados aos cadáveres dos adultos de *L. insularis* coletados em morangueiro, visando desse modo fornecer subsídios para o aprimoramento do manejo desta praga.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NITIDULIDAE (COLEOPTERA) E SUA IMPORTÂNCIA EM MORANGUEIRO, COM DESTAQUE *Lobiopa insularis* (CASTELNAU, 1840)

Conhecidos como “sap beetles”, a família Nitidulidae Latreille, 1802, é uma das maiores e mais diversificadas famílias pertencente à Ordem Coleoptera contendo cerca de 230 gêneros e mais de 3000 espécies com ampla distribuição geográfica (LASONÍ; GHAHARI, 2013).

Infestações de nitidulídeos em áreas de morangueiro comercial começaram a ser registradas em 1950 (CONNELL, 1980). Anteriormente, os morangos eram colhidos precocemente em maturidade, quando eles eram menos atraentes a estes besouros (CONNELL, 1980). Insetos pertencentes a essa família tornam-se abundantes em locais de produção com temperaturas elevadas, sendo atraídos por frutos danificados através de agentes, como as chuvas, sobrecargas de água para proteção contra geadas, mofo cinzento e outras doenças e a alimentação de insetos (PRICE; NAGLE, 2010).

Algumas espécies de nitidulídeos têm sido documentadas como causadoras de danos ao morangueiro, tais como, *Stelidota geminata* (Say, 1825) (CONNELL, 1980; POTTER et al., 2013); *Stelidota ferruginea* Reitter, 1873; *Haptoncus luteolus* (Erichson, 1843); *Carpophilus fumatus* Boheman, 1851; *Carpophilus freemani* Dobson, 1956; *Carpophilus humeralis* (Fabricius, 1758); *Carpophilus mutilatus* Erichson, 1843; *Colopterus truncatus* (Randall, 1838) e *L. insularis* (Castelnau, 1840) (POTTER et al., 2013). Dentre as espécies citadas a broca-dos-frutos, *L. insularis* é considerada uma das principais pragas do morangueiro no Brasil (GUIMARÃES et al., 2009; FORNARI et al., 2013) e no mundo (POTTER et al., 2013).

2.2 DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA E BIOLÓGICA DE *Lobiopa insularis*

Os adultos de *L. insularis* apresentam coloração marrom-escuro, com margens laterais amareladas (GUIMARÃES et al., 2009); corpo ovalado, achatado, medindo de 5,0 a 6,5 mm de comprimento e de 3,2 a 4,1 mm de largura (PARSONS, 1943). As antenas possuem onze segmentos, sendo os três últimos dilatados em forma de clava; élitros (primeiro par de asas modificado) cobrem quase todo o abdômen, deixando os

últimos segmentos expostos; pernas com tarsos 5-segmentado (formula tarsal 5-5-5) (FIGURA 2.1 A) (GUIMARÃES et al., 2009).

As larvas são aproximadamente do mesmo tamanho que os adultos (PRICE, 2004). Possuem cabeça marrom-clara, mandíbulas e olhos compostos bem desenvolvidos (GUIMARÃES et al., 2009), apresentando projeções laterais nos segmentos abdominais (FIGURA 2.1 B) (PRICE, 2004; GUIMARÃES et al., 2009).

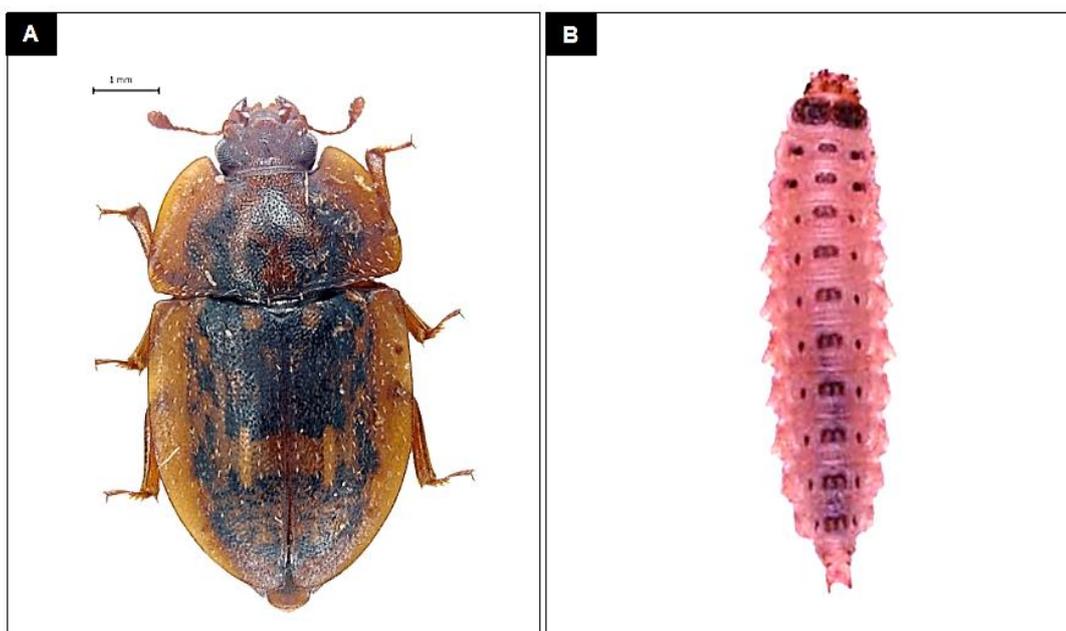


FIGURA 2. 1 - ADULTO (A) E LARVA (B) DE *Lobiopa insularis* COLETADOS NA CULTURA DO MORANGUEIRO.

Fonte: Autor (2017).

Em estudos desenvolvidos por Bortoli; Machotta-JR.; Botton (2014) observaram que o ciclo biológico de *L. insularis*, em condições laboratoriais (fotofase de 14 h, T: $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR: $70 \pm 10\%$), com duração e viabilidade média do período embrionário de ($4,1 \pm 1,5$ dias; 81%;), larval ($22,2 \pm 5,0$ dias e 60%); pupal ($10,8 \pm 2,3$ dias e 90%) e ovo-adulto ($37,1 \pm 8,8$ dias e 44%). No entanto, a metodologia de criação de *L. insularis* utilizada por estes autores, com dieta artificial a base de morangos, se mostrou inviável devido ao longo período larval obtido em experimentos laboratoriais (fotofase de 12 h, T: $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e UR: $60 \pm 10\%$) conduzidos por Souza; Zawadneak; Cuquel (2015). O ciclo biológico encontrado por esses autores apresentou duração e a viabilidade média dos estágios de ovo, larva, pupa e ovo-adulto de $5,2 \pm 1,4$ dias e

63%; $56,5 \pm 8,6$ dias e 45%; $8,4 \pm 1,9$ dias e 75%; e $68 \pm 7,4$ dias e 20%, respectivamente (FIGURA 2.2).

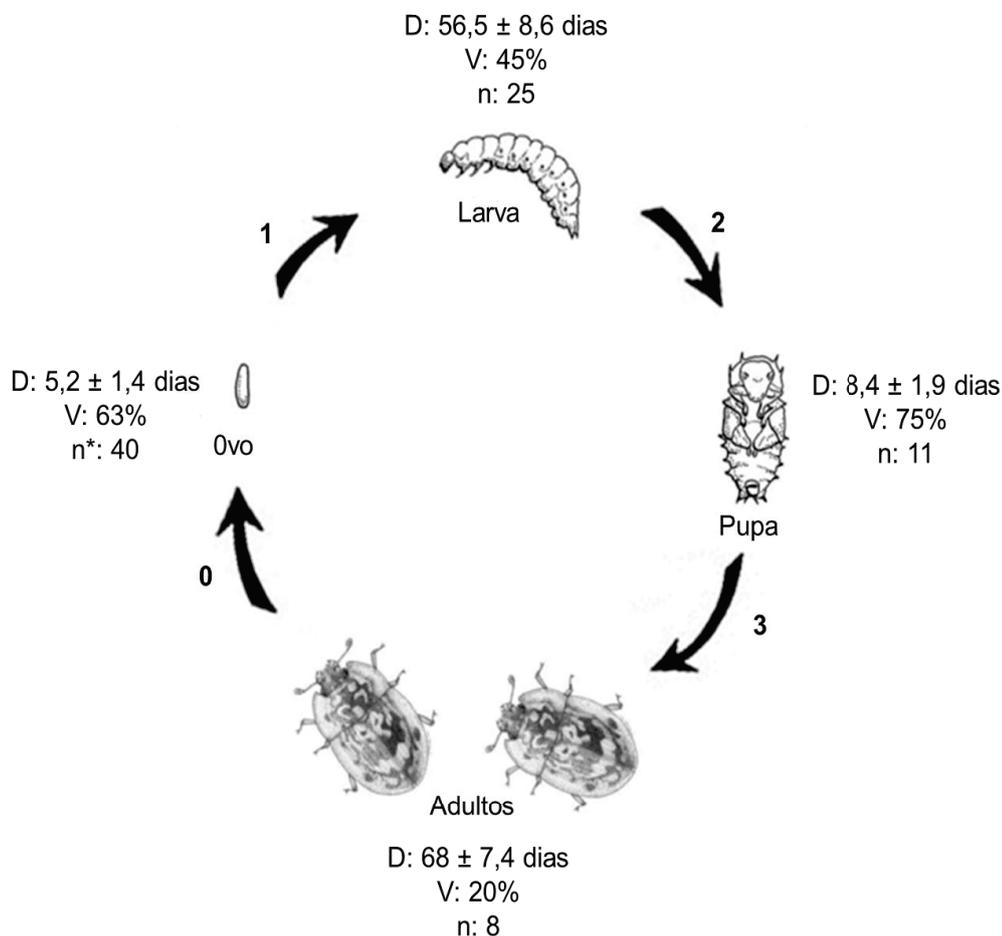


FIGURA 2. 2 - CICLO BIOLÓGICO DE *Lobiopa insularis* CRIADA EM DIETA ARTIFICIAL, EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS (fotofase de 12 h, T: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e UR: $60 \pm 10\%$).

* n: número de observações, D: duração de cada estágio (dias) e V: viabilidade (%) dos estágios.

FONTE: Adaptado por Souza; Zawadneak; Cuquel (2015) de Giblin (1985).

Comparativamente à biologia de *Lobiopa undalata* (Coleoptera, Nitidulidae) em laboratório com fonte alternativa de alimento maçã, demonstrou viabilidade média de ovo-adulto de 47,9% (PENG; WILLIAMS, 1990). Os valores encontrados para as espécies citadas de nitidulídeos refletem as dificuldades das criações em condições controladas, uma vez que a viabilidade de ovo-adulto para criação em dieta artificial

deve ser aproximadamente 75% ou mais (SINGH, 1983). Devido à dificuldade de estabelecimento de colônias em laboratório em dieta artificial, até o momento, não se encontraram criações laboratoriais desta família estabelecidas em condições controladas que tenham atingido a viabilidade mínima necessária.

2.2.1 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Encontrada em quase todas as áreas geográficas no Continente Americano, existem relatos da existência de *L. insularis* no Brasil, Argentina, Belize, Estados Unidos da América, Granada, Guiana, Guatemala, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Nicarágua, Panamá, Porto Rico (LASOÑ; PRZEWOŻNY, 2009), Dominica (PECK, 2006) e Bahamas (THURNBOW; THOMAS, 2008) (FIGURA 2.3).



FIGURA 2. 3 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *Lobiopa insularis* NO CONTINENTE AMERICANO.

FONTE: O autor (2016).

2.2.2 PLANTAS HOSPEDEIRAS E DANOS OCASIONADOS AO MORANGUEIRO

A preferência alimentar de *L. insularis* é diversificada (LASONÍ; PRZEWOŹNY, 2009), atacando na ausência do morangueiro os frutos do tomateiro, pessegueiro, goiabeira, macieira, laranjeira, meloeiro (GUIMARÃES et al., 2009), quiabeiro e melanciaira (RONQUE, 1998).

No morangueiro, os danos são provocados durante o período de frutificação tanto por larvas quanto por adultos de *L. insularis*. Podendo estes ser diretos, resultando na abertura de cavidades alimentares na polpa dos frutos, e indiretos, atuando como vetores de fitopatógenos oportunistas causadores de podridões (GUIMARÃES et al., 2009).

2.3 ASSOCIAÇÕES FÚNGICAS COM ARTRÓPODES E DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS EM PLANTAS

Os artrópodes desempenham um importante papel na disseminação de fungos, por meio da ingestão de alimentos contaminados com as estruturas fúngicas bem como, na aderência dos propágulos fúngicos em seus exoesqueletos (MOYO et al., 2014). Internamente no trato digestório dos animais, os carregamentos dos propágulos necessitam ser excretados pelas fezes de maneira viável para contribuir com o processo de dispersão na natureza, uma vez que, as estruturas fúngicas podem sofrer degradação devido à presença de enzimas digestivas (MARTIN et al., 1981). O transporte das estruturas, externamente no corpo dos artrópodes, tem evidenciado a disseminação de fitopatógenos causadores de doenças em plantas (MOYO et al., 2014).

A dispersão dos agentes fúngicos pelos artrópodes se mostra muitas vezes dependente dos inóculos a serem produzidos pela micobiota. Os fungos, de uma maneira geral, produzem três tipos de inóculos: micélios, escleródios e esporos. Os micélios e os escleródios possuem baixa capacidade de ser disseminados por artrópodes, embora os micélios quando ingeridos na alimentação pelos artrópodes podem eventualmente atuar como fonte de inóculo (LEACH, 1940). Os esporos sexuais e assexuais são, em muitas situações, adaptados para dispersão por artrópodes. Dentro deste modelo de adaptação, destacam-se os ascósporos, que em função da sua massa pegajosa úmida aderem aos exoesqueletos dos artrópodes,

tornando-os potenciais vetores fúngicos (LEACH, 1940). Possivelmente, os ascomicetos exibem um conjunto de recursos similares para a disseminação intermediada por artrópodes (ABBOTT, 2002). Isto inclui o mecanismo de ejeções forçadas dos esporos, ascos evanescentes, ascósporos pegajosos e peritécios com rostro longo (CASSAR; BLACKWELL, 1996).

A morfologia dos artrópodes tem auxiliado nas aquisições dos esporos. Assim, os processos cuticulares, como as setas e microtríquias, e, os apêndices do corpo, como as pernas, asas e antenas, servem como ganchos que contribuem para a dispersão dos esporos (LEACH, 1940). Nesse contexto, os artrópodes com tamanho reduzido e ápteros evidenciam capacidade limitada de carregamento das estruturas fúngicas (MOYO et al., 2014), enquanto que, os de dimensões maiores e alados desempenham um papel significativo no carregamento dos fungos (CEASE; JUZWIK, 2001).

Muitos artrópodes têm sido implicados na dispersão de fungos fitopatogênicos, incluindo as moscas-das-frutas (MACHOTA et al., 2013), formigas (MOYO et al., 2014), ácaros (ROETS et al., 2011) e besouros (MOYO et al., 2014). No grupo dos besouros, os nitidulídeos *Carpophilus sayi*, *Coleopterus truncatus*, *Epuraea corticina*, *Glischrochilus fasciatus*, *Glischrochilus quadrisignatus* e *Glischrochilus sanguinolentus* têm sido considerados importantes dispersores do patógeno *Ceratocystis fagacearum*, causador de murcha em carvalho (CEASE; JUZWIK, 2001).

2.4 PRINCIPAIS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS AO MORANGUEIRO

Em meio aos problemas fitossanitários que afetam a cultura do morangueiro, as doenças configuram-se conjuntamente com as pragas entre os importantes (RONQUE, 2010). Doenças abióticas (estresse de temperatura e hídrico, fotoinibição, fotoxidação, entre outros) e bióticas (vírus, bactérias, fungos e nematóides) podem afetar negativamente o morangueiro ao longo do seu ciclo vegetativo (LOPES et al., 2005). Dentre essas doenças associadas ao morangueiro, destacam-se os fungos.

Esses fitopatógenos são apresentados como grupo de micro-organismos com capacidade de infestar folhas, frutos, coroa e raízes do morangueiro. Mais de 50 gêneros são relatados como causadoras de doenças na cultura, incluindo os fungos pertencentes aos filos Ascomycota, Basidiomycota, Oomycota e Zygomycota

(GARRIDO et al., 2011). Destes, 30 espécies são consideradas doenças primárias e são comumente encontradas entre as diferentes regiões da planta, causando sérios prejuízos aos produtores (TABELA 2.1).

TABELA 2. 1 - PRINCIPAIS ESPÉCIES FITOPATOGÊNICAS ASSOCIADAS AO MORANGUEIRO CAUSADORAS DE DOENÇAS EM FOLHAS, FRUTOS, COROA E RAIZ.

ESPÉCIE	FILO	DOENÇA
FOLHAS		
<i>Alternaria alternata</i>	Ascomycota	mancha preta
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Ascomycota	antracnose
<i>Colletotrichum fragariae</i>	Ascomycota	antracnose
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Ascomycota	antracnose
<i>Mycosphaerella fragariae</i>	Ascomycota	mancha das folhas/micosferela
<i>Phoma lycopersici</i>	Ascomycota	podridão do colmo e das folhas
<i>Phomopsis obscurans</i>	Ascomycota	ferrugem da folha
<i>Rhizoctonia solani</i>	Basidiomycota	ferrugem da folha
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Basidiomycota	podridão de esclerotinia
<i>Septoria fragariaeicola</i>	Ascomycota	septoriose foliar
FRUTOS		
<i>Aspegillus niger</i>	Ascomycota	podridão dos frutos
<i>Botrytis cinerea</i>	Ascomycota	mofo cinzento
<i>Colletotrichum acutatum</i>	Ascomycota	antracnose
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Ascomycota	antracnose
<i>Colletotrichum fragariae</i>	Ascomycota	antracnose
<i>Gnomonia comari</i>	Ascomycota	caule e raiz
<i>Mucor hiemalis</i>	Zygomycota	podridão de mucor
<i>Penicillium expansum</i>	Ascomycota	podridão-de-penicillium
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Ascomycota	podridão e mancha dos frutos
<i>Phytophthora nicotianae</i>	Oomycota	Podridão-de-phytophthora
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Zygomycota	podridão-de-rhizopus
<i>Rhizoctania solani</i>	Basidiomycota	podridão parda
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Ascomycota	podridão dos frutos
COROA E RAIZ		
<i>Armillaria mellea</i>	Basidiomycota	podridão da coroa e da raiz
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ascomycota	fusariose
<i>Pythium ultimum</i>	Oomycota	podridão da raiz
<i>Rhizoctonia fragariae</i>	Basidiomycota	podridão da raiz
<i>Rhizoctonia solani</i>	Basidiomycota	podridão da raiz
<i>Verticillium albo-atrum</i>	Ascomycota	murcha de verticillium
<i>Verticillium dahliae</i>	Ascomycota	murcha de verticillium

*Adaptado de Garrido et al. (2011).

2.5 ASSOCIAÇÕES FÚNGICAS DEPENDENTES DO SISTEMA DE CULTIVO

Os ecossistemas agrícolas apresentam uma complexa interação com a fauna, flora, solo e microbiota. Esta é uma associação íntima, onde as alterações das comunidades microbianas podem ser usadas para prever os efeitos das perturbações

do ecossistema por práticas de manejo orgânico e convencional (BENDING; PUTLAND; RAYNS, 2000; VAN BRUGGEN; SEMENOV, 2000; POUDEL et al. 2002).

Estudo realizado na Noruega foi observado que os entomopatógenos *Tolypocladium cylindrosporum*, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* estiveram associados a insetos em solos cultivados no sistema de produção orgânico e convencional e nas margens destes dois sistemas (KLINGEN, EILENBERG e MEADOW, 2002). Contudo, a abundância destas espécies foi maior nos solos conduzidos no orgânico. De acordo com esses autores, a ocorrência mais acentuada de fungos entomopatogênicos em orgânicos deve-se ao fato que esses locais propiciam melhores condições de estabelecimentos devido à ausência de agroquímicos utilizados o que pode proporcionar a sobrevivência de seus hospedeiros. Também, Sun et al. (2008), demonstraram que as características ecológicas das espécies de micro-organismos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, refletem na maior abundância de *M. anisopliae* nos sistemas cultiváveis, enquanto que *B. bassiana* predomina em ambientes naturais.

Em habitats naturais de florestas na China, a ocorrência e diversidade de espécies de fungos isolados dos insetos demonstraram menor predominância dos patogênicos aos insetos, como *Paecilomyces farinosus*, *B. bassiana* e *M. anisopliae* (SUN; LIU, 2008). Enquanto que os fungos oportunistas, como *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Geomyces pannorum*, *Clonostachys rosea* f. *catenulata* tinham grandes ocorrências (SUN; LIU, 2008). Meyling; Eilenberg (2006) justificam que as taxas de crescimento das espécies oportunistas são mais elevadas dos que as das espécies entomopatogênicas, o que reflete na maior abundância dessas espécies nos ecossistemas.

A dinâmica populacional de fungos benéficos em solos de cultivo orgânico e convencional de morangueiro foi relatada no Brasil (Silva et al. 2009). Nesse estudo, o sistema de produção e o tipo de cobertura do solo (cobertura viva: amendoim forrageiro e grama esmeralda; cobertura morta: palhas secas de capim-elefante; e plástico preto “mulching”) afetaram a população das espécies benéficas no sistema. Devido à presença de cobertura plástica de coloração preta, não foi possível detectar a presença de *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Silva et al., 2009). De acordo com esses autores, a ausência desses fungos pode estar associada com elevadas temperaturas e umidades do solo. Entretanto, as espécies *Paecilomyces lilacinus* e *Trichoderma*

spp. ocorreram em níveis detectáveis em ambos os sistemas de cultivos estudados (Silva et al., 2009). Rumbos e Kiewnick (2006) destacam que o predomínio de *P. lilacinus* deve-se, em partes, à sua natureza saprofítica no ambiente. Em adição, a alternância nos níveis populacionais de *Trichoderma* spp., *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. lilacinus* ao longo do período de cultivo de morangueiro orgânico sugere a ação antagonista da primeira espécie sobre as demais.

3 DANOS CAUSADOS EM MORANGOS A CAMPO POR *Lobiopa insularis* (COLEOPTERA, NITIDULIDAE)

RESUMO

Lobiopa insularis (Coleoptera, Nitidulidae) é uma praga-chave do morangueiro na América. Larvas e adultos se alimentam de morangos inviabilizando-os para o consumo e a comercialização. As lesões causadas por esses insetos não são caracterizadas sistematicamente. Nesse sentido, larvas ou adultos foram isolados sobre plantas de morangueiro com frutos em três estágios de maturação (verdes, semi-maduros e maduros). Os insetos se alimentaram dos morangos, independente do estágio de maturação. Entretanto frutos semi-maduros e maduros sofreram as maiores lesões. A presença de *Rhizopus* sp. foi observada em morangos semi-maduros e maduros. Para todos os estágios de maturação foi constatado a oviposição próximo às sépalas, o que dificulta a detecção dos ovos no campo. Este estudo demonstra que larvas e adultos de *L. insularis* podem danificar os morangos e a extensão das lesões depende dos estágios de maturação.

Palavras-chaves: *Fragaria* x *ananassa*, broca-dos-frutos, nitidulídeos, cavidades alimentares

**DAMAGE CAUSED IN STRAWBERRY IN FIELD BY *Lobiopa insularis*
(COLEOPTERA, NITIDULIDAE)**

ABSTRACT

Lobiopa insularis (Coleoptera, Nitidulidae) is a key pest of strawberry in America. Larvae and adults feed on strawberries making them unsuitable for consumption and marketing. Lesions caused by these insects are not systematically characterized. In order to characterize lesions, larvae or adults were confined into cages on strawberry plants containing fruits at three maturation stages (green, semi-ripe and ripe). The insects fed on strawberries regardless of their maturation stages. However, semi-ripe and ripe fruits showed the largest lesions. The presence of *Rhizopus* sp. was observed in semi-ripe and ripe strawberries. In all maturation stages, eggs laid close to the sepals were observed, which makes it difficult to detect eggs in the field. This study demonstrates that *L. insularis* larvae and adults damage strawberries and lesion extents depend on strawberry maturation stage.

Keywords: *Fragaria x ananassa*, sap beetles, nitidulids, feeding cavities

3.1 INTRODUÇÃO

A broca-dos-frutos *Lobiopa insularis* (Castelnau) (Coleoptera, Nitidulidae) é uma espécie considerada polífaga (LOUGHNER et al., 2007), presente durante todo o período de frutificação do hospedeiro (FORNARI et al., 2013). *L. insularis* é uma das pragas mais destrutivas associadas ao morangueiro no continente americano (FORNARI et al., 2013; POTTER et al., 2013). O *status* como praga-chave na cultura tem sido atribuído, em parte, pelos seus parâmetros biológicos e comportamentais. Plantas hospedeiras alternativas, tais como tomateiro, pessegueiro, goiabeira, macieira, laranjeira e meloeiro, são comuns nas bordas adjacentes ao cultivo de morango, o que contribui para zonas de refúgio quando as condições não são favoráveis (RONQUE, 1998). A habilidade dos adultos infestarem o morangueiro é facilitada pela capacidade voo e pela aptidão olfativa dos insetos responderem os estímulos de morangos danificados, a uma distância aproximada de 2,5 metros (BLACKMER; PHELAN, 1991). Os adultos são atraídos por meio de compostos orgânicos voláteis liberados pelos frutos maduros e em decomposição (GUIMARÃES et al., 2009).

Os frutos localizados próximos à superfície do solo são os mais suscetíveis ao ataque da praga. Após o acasalamento, a fêmea realiza a postura nos frutos maduros e a eclosão das larvas resulta em danos de dentro para fora (BOTTON et al., 2015). As cavidades alimentares realizadas por esses insetos durante alimentação constituem em porta de entrada para micro-organismos, o que contribui para a redução do período de armazenamento pós-colheita (GUIMARÃES et al., 2009). Os frutos injuriados por *L. insularis* também se tornam vulneráveis a infestação por outros insetos, como *Drosophila* spp. (Diptera, Drosophilidae) (POTTER et al., 2013). No entanto, apesar da importância agrícola de *L. insularis*, estudos que evidenciem os danos ocasionados por essa praga em cultivo de morangueiro são escassos (FORNARI et al., 2013). Até o momento não existe a caracterização dos danos ocasionados por larvas e adultos a campo, assim como, inexistem estudos de preferência alimentar dos insetos em morangos com diferentes estádios de maturação. Esse tipo de conhecimento é relevante para a definição de metodologias de controle desta praga.

Aqui, nós caracterizamos e quantificamos os danos ocasionados por larvas e adultos de *L. insularis* em frutos verde, semi-maduro e maduro de morangueiro.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 PROCEDÊNCIA DOS INSETOS

Fêmeas e machos de *L. insularis* foram coletados em frutos de morangueiro “Albion” provenientes de um plantio comercial localizado no município de São José dos Pinhais, Paraná, Brasil (25°36'44,98” S; 49°04'59,50” O). Grupos de adultos de ambos os sexos foram formados e mantidos em gaiolas de 30,0 cm de largura e 50,0 cm de comprimento numa sala de criação (25°C, 60 ± 10 % e fotofase de 12 h). As gaiolas foram abastecidas diariamente com dieta artificial a base de morangos em um copo plástico (100 mL) (BORTOLI et al., 2014). A água foi fornecida regularmente numa placa de Petri com algodão umedecido. Os ovos resultantes dos acasalamentos foram coletados da superfície das gaiolas e na dieta artificial em intervalos de três dias e alojados em placas de Petri com algodão umedecido. As posturas foram mantidas na sala de criação. As larvas neonatas foram transferidas individualmente em gaiolas de plástico transparente (500 mL) (7,8 cm de altura e 12,0 cm de diâmetro) com dieta artificial e algodão umedecido. As larvas foram monitoradas diariamente, sendo considerada como troca de instar a presença de cápsula cefálica nas gaiolas. As larvas pertencentes ao segundo e o terceiro ínstaes dessas colônias foram utilizadas nas infestações das gaiolas a campo. Devido à dificuldade de conseguir o estágio adulto em laboratório, foram utilizados nas infestações das gaiolas, os adultos sem sexagem e de idade desconhecida obtidos da coleta inicial em plantio comercial.

3.2.2 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS EM MORANGOS

A avaliação de danos ocasionados por larvas ou adultos foi em Delineamento experimental Inteiramente Casualizado, sendo composto de seis tratamentos, com 20 repetições. A unidade experimental foi constituída por um morango dentro de um recipiente (gaiola) e insetos (cinco adultos ou dez larvas). Esse valor de infestação foi

estabelecido com base nas populações dos insetos em frutos de cultivos comerciais de morangueiro (observação pessoal).

Os tratamentos avaliados para a caracterização e quantificação dos danos ocasionados por larvas de *L. insularis* foram: gaiola sem infestação de larvas contendo fruto verde (100% de coloração verde); gaiola sem infestação de larvas contendo fruto semi-maduro (50% de coloração verde e 50% de coloração vermelho); gaiola sem infestação de larvas contendo fruto maduro (100% de coloração vermelho); gaiola infestada com larvas contendo fruto verde; gaiola infestada com larvas contendo fruto semi-maduro; e gaiola infestada com larvas contendo fruto maduro.

Os tratamentos analisados para a caracterização e quantificação dos danos ocasionados por adultos de *L. insularis* foram realizados de maneira análoga aos tratamentos utilizados para larvas, sendo efetuadas unicamente a infestações de adultos nas gaiolas com frutos em estádios de maturação verde ou semi-maduro ou maduro.

3.2.3 LOCAL DO ESTUDO E INCLUSÃO DAS GAIOLAS

Os testes foram conduzidos em canteiros de morangueiro “Albion” sob cultivo orgânico, localizados no município de Pinhais, PR (25° 25'S; 49° 06'O), no período de fevereiro a março de 2016.

A gaiola foi constituída por um copo plástico transparente de 100 mL (4,7 cm de altura e 6,7 cm de diâmetro) e fechado com tampa (3,0 cm de diâmetro), (perfurada com agulha) e tecido *voil* para impedir a fuga dos insetos. Para que o fruto continuasse o desenvolvimento dentro da gaiola, uma abertura (1,5 cm) foi feita na extremidade da tampa para acoplar o pecíolo (FIGURA 3.1).

Diariamente, foram selecionadas plantas com frutos verdes no estágio fenológico 05, caracterizado pela formação de um pequeno “fruto múltiplo” (ANTUNES et al., 2006). Posteriormente, cada fruto nesse estágio fenológico foi previamente desinfestado com hipoclorito de sódio (v/v = 2,0%) e alojado individualmente na gaiola. Os frutos alojados nas gaiolas foram monitorados até atingir o estágio de maturação verde ou semi-maduro ou maduro. Paralelamente, ao processo de maturação dos frutos, os insetos foram mantidos sem alimentação por 48 h antes do início do teste.

Para avaliar o efeito da alimentação de *L. insularis*, os insetos foram confinados nas gaiolas por 72 h. Decorrido o período de infestação, as gaiolas foram simultaneamente recolhidas do campo, cortando-se o pecíolo do fruto e transportadas até o laboratório para avaliações posteriores.

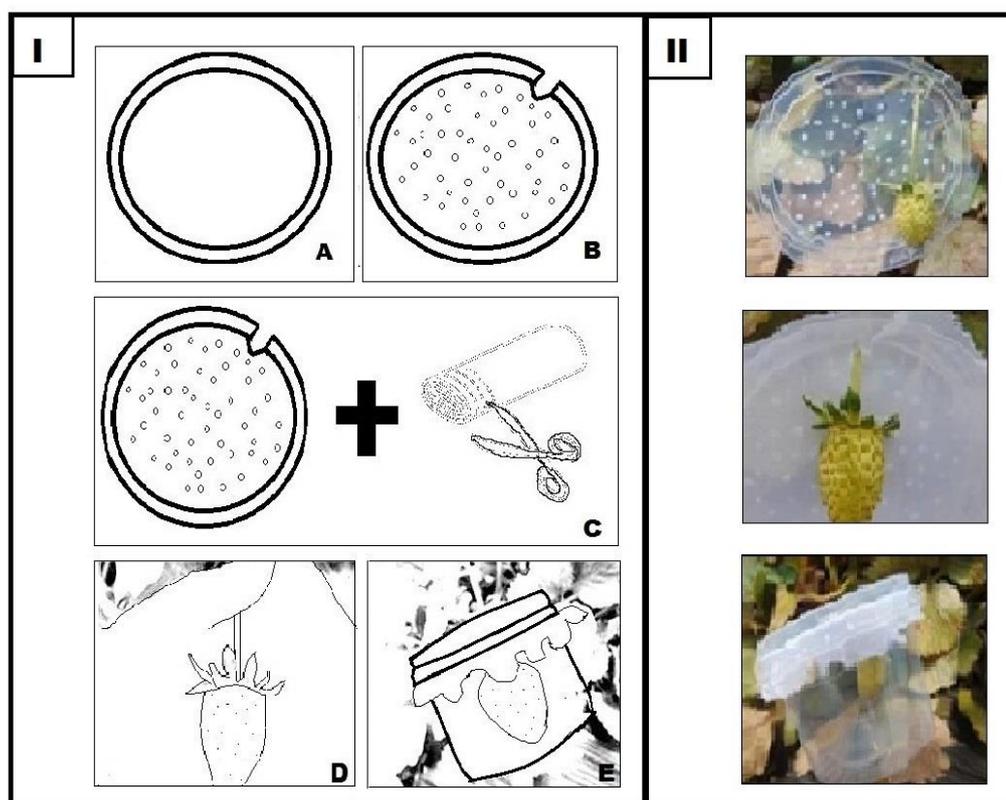


FIGURA 3. 1 - MODELO DA GAIOLA CONFECCIONADA COM COPO PLÁSTICO (100 mL) PARA O CONFINAMENTO DE *Lobiopa insularis* EM FRUTO DE MORANGUEIRO.

I: A – tampa sem perfuração; B – tampa perfurada com abertura na extremidade para o acoplamento do pecíolo; C – tampa perfurada + tecido *voil* recortado; D – tampa recoberta com tecido *voil*; E- gaiola fechada com o morango alojado no interior. II: gaiola instalada em morangueiro contendo *L. insularis*.

3.2.4 ANÁLISE DOS FRUTOS

No laboratório, foram registrados os números de frutos danificados, as regiões preferenciais de alimentação e as características das lesões em função dos diferentes estádios de maturação. Os diâmetros das lesões ocasionadas pelos insetos foram medidos com auxílio de uma régua milimétrica. Para os frutos que apresentaram mais

de uma lesão foram realizadas a média dos diâmetros para obter um valor único de diâmetro para cada repetição.

A identificação das espécies fúngicas foi realizada por meio da técnica de microcultivo utilizando as colônias fúngicas puras isoladas dos morangos (KERN; BLEVINS, 1999; DE HOOG, 2004). Os fungos foram registrados de acordo com a sua incidência nos frutos.

A presença de posturas foi registrada de acordo com o local de oviposição nos morangos e o estágio de maturação dos frutos.

3.2.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os diâmetros das lesões e as porcentagens de presença de danos causados por larvas ou adultos de *L. insularis* foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade utilizando o programa Assistat (SILVA; AZEVEDO, 2009).

A preferência alimentar dos insetos foi analisada por meio do coeficiente de correlação de Pearson com auxílio do software Excel®.

3.3 RESULTADOS

Larvas e adultos de *L. insularis* ocasionaram danos em morangos verdes, semi-maduros e maduros. Na ausência de infestação, em todos os estádios de maturação, não foram constatadas injúrias indicando que as gaiolas foram eficazes para excluir *L. insularis* e outras pragas.

Os danos decorrentes da alimentação de *L. insularis* nos morangos caracterizaram-se por aberturas de cavidades alimentares na polpa dos frutos (FIGURA 3.2 B). Esses danos foram ocasionados de forma aleatória pelas larvas, enquanto que os adultos produziram cavidades próximas às sépalas e no ápice dos frutos. A exposição de larvas ou adultos em morangos verdes ocasionaram halos amarelos escuros em torno do local de alimentação. A presença dos insetos em morangos semi-maduros provocou danos restritos às áreas com proeminente amadurecimento em detrimento da parte verde (FIGURA 3.2 C). No entanto, esses danos foram semelhantes aos provocados em morangos verdes destacando ausência

de halos amarelos nas cavidades. Em morangos maduros foram constatados amolecimentos acentuados na polpa e extravasamento do suco nas cavidades alimentares em virtude da alimentação dos insetos (FIGURA 3.2 D).

Para o estádios de maturação semi-maduros e maduros infestados com larvas ou adultos foram observadas elevadas incidências de *Rhizopus* sp. quando comparado aos morangos sem infestações (FIGURA 3.2 E).

Os ovos de *L. insularis* foram depositados sobre a superfície dos morangos, em todos os estádios de maturação, principalmente abaixo das sépalas (FIGURA 3.2 F).

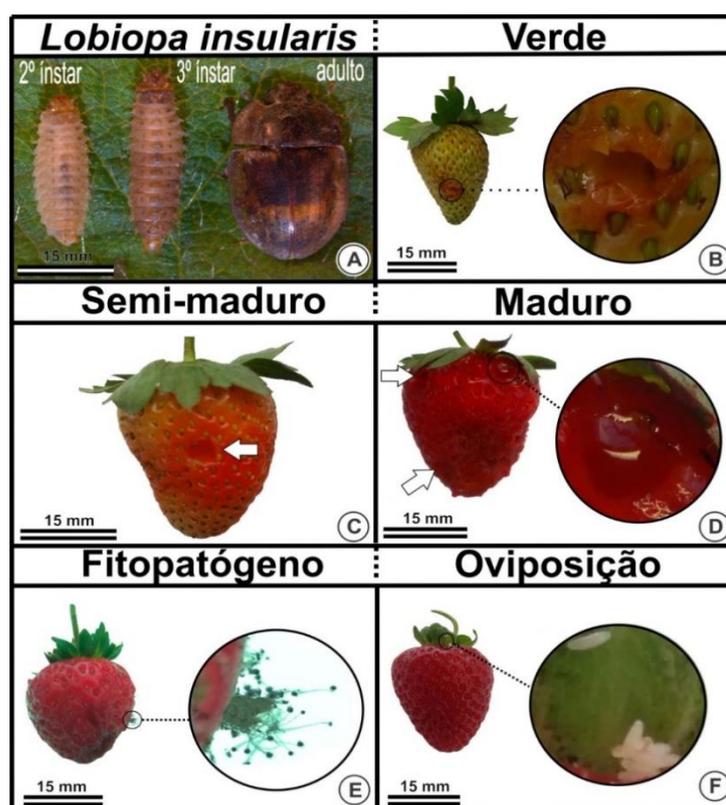


FIGURA 3. 2 - DANOS OCACIONADOS POR *Lobiopa insularis* EM FRUTOS DE MORANGUEIRO EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS.

A – larvas e adulto de *L. insularis*; B – halos amarelos em torno da cavidade alimentar; C – cavidade alimentar; D – extravasamento do suco; E – fitopatógenos; F – oviposição próximo a sépala.

O diâmetro das lesões causadas por larvas diferiu significativamente nos três estádios de maturação (FIGURA 3.3 I). A lesão foi significativamente maior nos morangos maduros (41 mm) quando expostos às larvas quando comparado aos morangos semi-maduros (18 mm) e verdes (12 mm) (FIGURA 3.3 I). As larvas causaram 90% de danos em morangos maduros que, por sua vez, foi

significativamente maior do que a porcentagem de alimentação em morangos semi-maduros (60%) e verdes (25%) (FIGURA 3.3 II).

O diâmetro das lesões causadas por adultos variou significativamente entre os estádios de verde e maduro (FIGURA 3.3 I). Os morangos maduros apresentaram maiores lesões (65 mm) em decorrência da alimentação dos adultos, seguidos por morangos semi-maduros (41 mm) e verdes (32 mm). A incidência de danos foi afetada pelo estágio de maturação em que os frutos se apresentavam nos distintos estádios de maturação (FIGURA 3.3 II). Os maiores danos ocorreram em morangos maduros (95%), seguidos pelos semi-maduros (75%) e pelos verdes (45%).

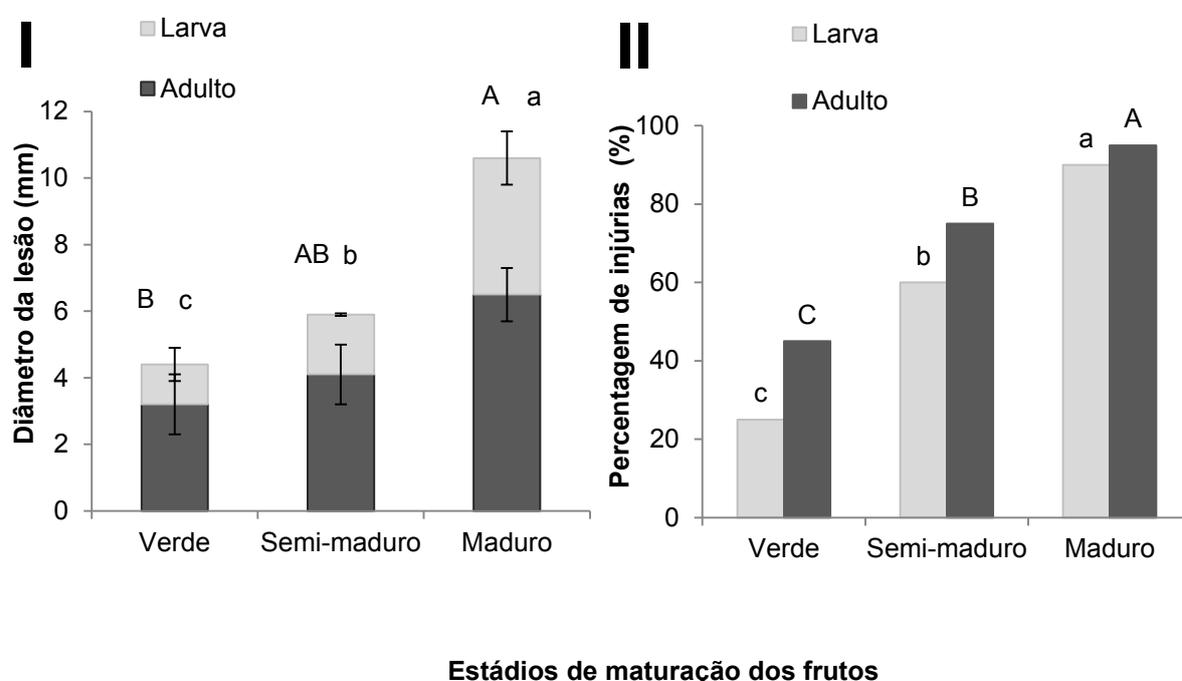
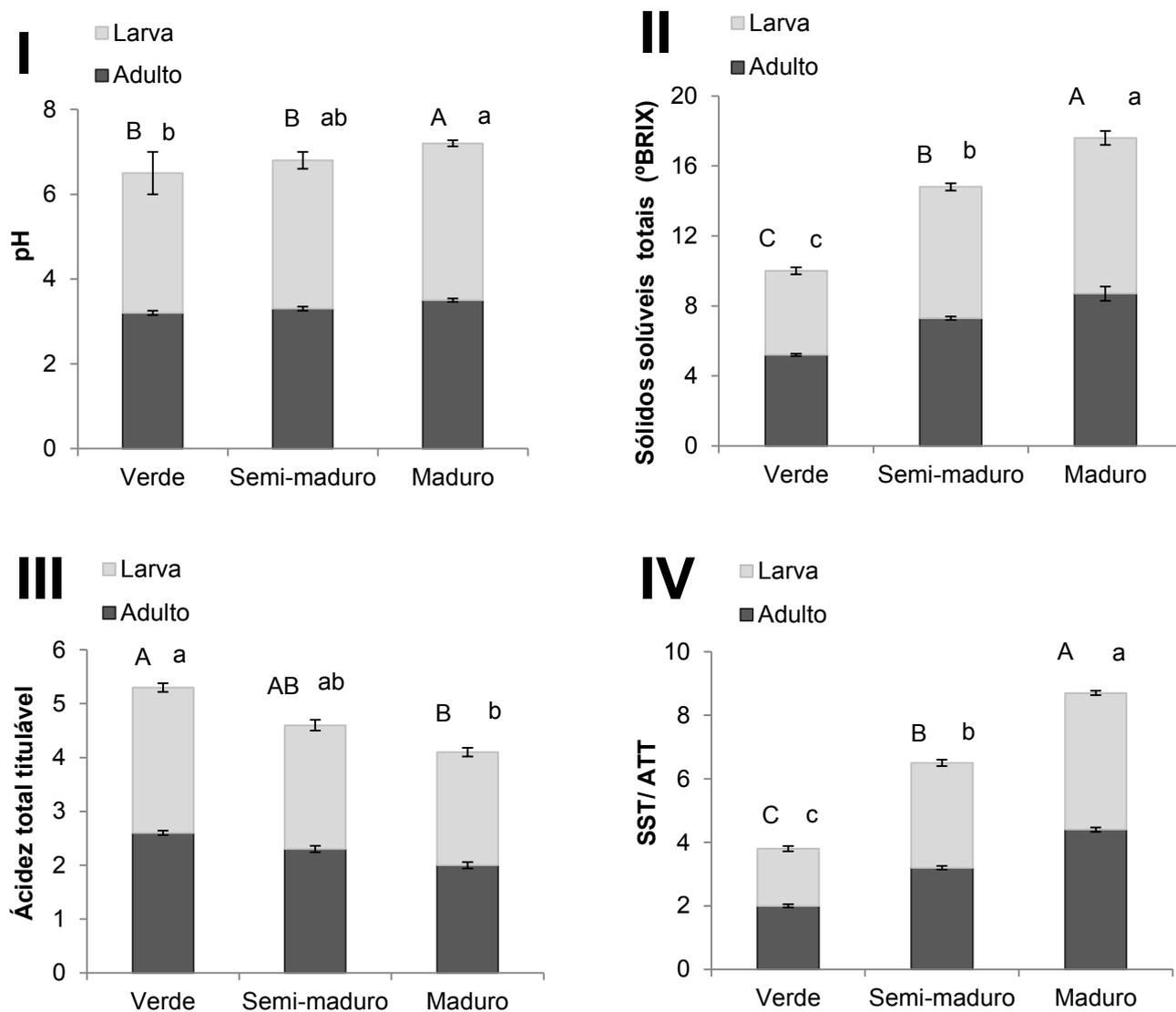


FIGURA 3.3 - DIÂMETRO DA LESÃO (MM) (I) E PERCENTAGEM DE DANOS (%) (II) OCACIONADOS POR LARVAS OU ADULTOS DE *Lobiopa insularis* EM FUNÇÃO DOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DOS FRUTOS DE MORANGUEIRO.

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, minúscula para larva e maiúscula para adulto, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

A análise química dos morangos após a exposição dos insetos mostrou que o pH, SST e SST/ATT foram maiores em frutos maduros quando comparado aos verdes (FIGURA 3.4 – I, II e IV). Para a ATT houve o decréscimo a partir do processo de amadurecimento dos frutos (FIGURA 3.4 – III).



Estádios de maturação dos frutos

FIGURA 3. 4 - ANÁLISES QUÍMICAS DOS FRUTOS DE MORANGUEIRO, APÓS A ALIMENTAÇÃO DE *Lobiopa insularis*, NOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FUNÇÃO DE PH (I), STT (II), ATT (III) E SST/ATT (IV).

Siglas: potencial hidrogeniônico (pH), teor de sólidos solúveis totais (SST) e acidez total titulável (ATT).

*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, minúscula para larva e maiúscula para adulto, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

A alimentação das larvas mostrou que o diâmetro da lesão foi correlacionado positivamente com o pH, SST, ATT e SST/ATT (TABELA 3.1). Os morangos expostos à alimentação de adultos, em função do diâmetro da lesão, apresentaram correlações negativas com a ATT e positivas com o pH, SST e SST/ATT (TABELA 3.1).

TABELA 3. 1 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON EM MORANGOS DANIFICADOS POR *Lobiopa insularis* EM FUNÇÃO DOS PARÂMETROS DE DIÂMETRO, POTENCIAL DE HIDROGÊNIO (PH), SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST), ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT) E SST/ATT.

		Diâmetro	pH	SST	ATT	SST/ATT
LARVA	Diâmetro	1,00				
	PH	0,17	1,00			
	SST	0,16	0,55	1,00		
	ATT	0,01	-0,22	-0,41	1,00	
	SST/ATT	0,25	0,57	0,82	-0,46	1,00
ADULTO	Diâmetro	1,00				
	PH	0,05	1,00			
	SST	0,25	0,49	1,00		
	ATT	0,10	-0,39	-0,54	1,00	
	SST/ATT	0,21	0,58	0,85	-0,53	1,00

3.4 DISCUSSÃO

Neste estudo, confirmamos que larvas e adultos de causaram danos aos morangos verdes, semi-maduros e maduros. Nossos resultados retratam pela primeira vez que os danos ocasionados por estes insetos ocorrem de maneira qualitativamente e quantitativamente diferente nos distintos estádios de maturação.

As lesões em morangos verdes foram expressas por meio de cavidades alimentares envoltas por halos amarelos (FIGURA 1B). Esse halo é causado pela ação das enzimas oxidativas, tais como as polifenoloxidasas e peroxidases e pela exposição destas aos tecidos lesionados com o oxigênio (CHISARI et al., 2007). Semelhante às lesões ocasionadas em morangos verdes, os frutos semi-maduros apresentaram cavidades alimentares, mas estas não são circundadas por halos escurecidos. A ausência dos halos, nesse caso, se deve à coloração avermelhada e

ao declínio das enzimas oxidativas ocasionadas pelo processo de amadurecimento dos frutos (LÓPEZ-SERRANO; ROS BARCELÓ, 2002). Observa-se que neste estágio de maturação, as lesões ocorreram preferencialmente na região amadurecida do fruto (FIGURA 1C). Sabe-se que durante o processo de amadurecimento, a alteração da cor da polpa ocorre concomitante com o aumento das concentrações de frutose, galactose, sacarose, citrato e malato, levando a uma maior relação açúcar/ácido, que é um dos principais determinantes do sabor dos frutos (ZHANG et al., 2011). Devido à escassez de literatura sobre preferência alimentar de *L. insularis*, sugere-se que as regiões em amadurecimento dos morangos semi-maduros possam ter alocados maiores teores de açúcares quando comparado às regiões verdes do fruto. Isto pode justificar a provável preferência dos insetos pelas regiões amadurecidas da polpa. Neste sentido, o estudo com os morangos maduros demonstrou que as cavidades alimentares dos insetos resultaram em amolecimento da polpa. O processo de amolecimento ocorre naturalmente devido à resposta fisiológica dos frutos durante as últimas etapas de amadurecimento. Há uma relação entre o amolecimento do morango e a degradação da lamela média e da parede celular (KNEE; SARGENT; OSBORNE, 1977). Nosso estudo mostrou que as cavidades alimentares realizadas pelos insetos apresentaram extravasamento do suco (FIGURA 1D). Esta última observação está de acordo com análise histológica apresentada em frutos maduros, uma vez que, estes apresentam parede celular mais fina e perda de material intercelular mais fácil quando comparado aos frutos não maduros (REDGWELL et al., 1997). Nesse contexto, as lesões decorrentes da alimentação de *L. insularis* podem ter resultado na ruptura da parede celular e provocado o extravasamento do suco nas cavidades alimentares. Acredita-se que isto possa resultar em danos indiretos à cultura. A composição e a quantidade voláteis orgânicos liberados durante o extravasamento podem constituir em fonte de atração a *L. insularis* e outros insetos, como as mosca-drosófila (ABRAHAM et al., 2015; KEESEY; KNADEN; HANSSON, 2015).

Nos frutos semi-maduros e maduros infestados com larvas ou adultos foram observados elevadas incidências de *Rhizopus* sp., quando comparados aos morangos sem infestação. A ausência de patógeno no controle sugere que a doença neste estudo foi um resultado direto de *L. insularis*. Nesta pesquisa, tanto as larvas quanto os adultos não foram desinfestados para evitar quaisquer alterações no comportamento alimentar dos insetos. Nesse caso, trabalhamos com a hipótese de

que os insetos coletados no campo possam ter adquirido os esporos ao entrar em contato com as estruturas fúngicas no morangueiro. Embora alguns besouros dessa família possam atuar como vetor de fitopatógenos, até o momento não foi evidenciada a atuação de *L. insularis* na dispersão de fungos (LUSSENHOP; WICKLOW, 1990). Estudos adicionais sobre a relação de *L. insularis* e dos patógenos são necessários para confirmar a dispersão destes últimos no campo.

Os adultos de *L. insularis* realizaram a postura de ovos em todos os estádios de maturação dos frutos. Foi observada a presença de ovos próximos às sépalas, o que torna difícil a sua detecção nas lavouras (FIGURA 1F). A proximidade nessa região também pode fornecer abrigo e proteção aos ovos e permitir que as larvas neonatas colonizem e se alimentem com sucesso do fruto. O resultado obtido amplia o constatado com fêmeas de *L. insularis* realizando oviposição unicamente em frutos maduros (FORNARI et al., 2013). É plausível que os insetos maternos selecionem os hospedeiros que eles reconhecem como sendo mais adequado para oviposição. Embora nossos resultados tenham mostrado que as larvas possuem maior consumo alimentar e preferência por morangos maduros (FIGURA 3I e 3II), a postura nos estádios de maturação verde e semi-maduro é aceitável, em virtude, do processo de amadurecimento dos morangos (± 5 dias) ocorrerem concomitantes com o período embrionário de *L. insularis* ($4,1 \pm 1,5$ dias) (ANTUNES et al., 2006; BORTOLI; JUNIOR; BOTTON, 2014). Embora a oviposição seja realizada nos estádios de maturação verde e semi-maduro, as larvas sobreviverão em frutos maduros.

Os diâmetros das lesões e a porcentagem de danos ocasionados pelas larvas nos frutos diferiram nos três estádios de maturação. Justifica-se que o aparelho bucal mastigador das larvas ainda é incipiente, o que conduz aos menores tamanhos de lesões em frutos verdes (12 mm) quando comparado aos frutos maduros semi-maduro (18 mm) e maduro (41 mm). À medida que os morangos amadurecem a polpa amolece facilitando dessa maneira a palatabilidade pelas larvas. A preferência larval por morangos maduros foi evidenciada com a alta porcentagem de danos nos frutos (90%). No entanto, ocorreram danos em frutos semi-maduros (60%) e verdes (25%). A ausência de teste de escolha pode ter influenciado a alimentação das larvas em estádios de maturação não preferenciais. Uma vez que, não foi demonstrado se estas relações são verdadeiras quando as larvas fossem confinadas juntamente com morangos nos três estádios de maturação.

Os diâmetros das lesões ocasionados pelos adultos nos frutos diferiram nos estádios de maturação verde e maduro. Ao contrário das larvas, o aparelho bucal mastigador dos adultos apresenta-se bem desenvolvido, desse modo, o menor tamanho da lesão em fruto verde (32 mm) pode ser atribuído à elevada ATT nesse estádio de maturação (TABELA 1). Por conseguinte, o maior diâmetro da lesão em fruto maduro (89 mm) é correlacionada pelos maiores teores pH, SST e SST/ATT (TABELA 1). A porcentagem de danos em morangos (95%) é explicada pela preferência alimentar desse inseto a este de maturação (SALLES e WILLIAMS, 1986). Resultados semelhantes foram observados nos Estados Unidos para *Stelidota geminata* (Coleoptera, Nitidulidae), que também ataca frutos maduros ou em decomposição no campo (LOUGHNER et al., 2007).

A alimentação das larvas de *L. insularis* mostrou correlacionada positivamente com o pH, SST, ATT e SST/ATT (TABELA 1). As exposições de adultos aos frutos apresentaram correlações negativas com a ATT e positivas com o pH, SST e SST/ATT em todos os estádios de maturação (TABELA 1). Esses resultados levam a questões interessantes sobre a alimentação dos insetos. Esperávamos que *L. insularis* alimentasse apenas de morangos semi-maduros e maduros devido o morango verde ser um hospedeiro mais pobre em pH, STT e SST/ATT, contudo, isto não foi sustentado neste estudo. O comportamento alimentar e o significado adaptativo dessa praga não são elucidados. No entanto, acreditamos que a ausência de alimentos por 48 h antes do início dos testes pode ter influenciado na alimentação dos insetos. Além disso, o hábito polifágico da espécie pode tornar *L. insularis* incapaz de adquirir a aversão aos alimentos. Nesse sentido, os alimentos considerados como subótimos não são necessariamente alimentos prejudiciais, e os insetos podem e vão consumir o que for necessário para sobreviver (COYLE et al., 2011). Não há informação sobre o desenvolvimento desses insetos com alimentos subótimos. Contudo, para a espécie *Aethina tumida* (Coleoptera, Nitidulidae) a complexa interação de carboidratos (especialmente açúcares) é muito importante na longevidade dos insetos (ARBOGAST; TORTO; TEAL, 2010). Neste contexto, pesquisas adicionais tais como o estudo do comportamento alimentar e teste de escolha, são necessárias para elucidar os fatores que interferem na preferência alimentar de *L. insularis*. Assim como, as implicações da espécie em ingerir alimentos subótimos quando as condições em morangueiro não forem favoráveis.

Em conclusão, as larvas e os adultos de *L. insularis* causam danos em frutos verdes, semi-maduros e maduros e a extensão em que as lesões foram expressas variam significativamente dependendo do estágio de maturação.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, J.; ZHANG, A.; ANGELI, S.; ABUBEKER, S.; MICHEL, C.; FENG, Y.; RODRIGUEZ-SAONA, C. Behavioral and antennal responses of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to volatiles from fruit extracts. **Environmental entomology**, v. 44, n. 2, p. 356-367, 2015.

ANTUNES, O.T.; CALVETE, E.O.; ROCHA, H.C.; NIENOW, A.A.; MARIANI, F.; WESP, C.L. Blooming, fruit set, and fruit maturation of strawberry growing in protected environment. **Horticultura Brasileira**, v.24, p. 426-430, 2006.

ARBOGAST, R. T.; TORTO, B.; TEAL, P. E. Potential for population growth of the small hive beetle *Aethina tumida* (Coleoptera, Nitidulidae) on diets of pollen dough and oranges. **Florida entomologist**, v. 93, n. 2, p. 224-230, 2010.

BLACKMER, J. L.; PHELAN, P. L. Behavior of *Carpophilus hemipterus* in a vertical flight chamber: transition from phototactic to vegetative orientation. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 58, n. 2, p. 137-148, 1991.

BORTOLI, L. C.; JUNIOR, R. M.; BOTTON, M. Biologia e tabela de vida de fertilidade da broca-do-morangueiro criada em dieta artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 2, p. 144-147, 2014.

BOTTON, M.; BERNARDI, D.; FORNARI, R.; MACHOTA JUNIOR, R.; BORTOLI, L. Biologia, monitoramento e controle de *Lobiopa insularis* (Castelnau, 1840) (Coleoptera, Nitidulidae) na cultura do morangueiro no Rio Grande do Sul. **Embrapa Uva e Vinho-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2015.

CHISARI, M.; BARBAGALLO, R. N.; SPAGNA, G. Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 3469-3476, 2007.

COYLE, D. R.; CLARK, K. E.; RAFFA, K. F.; JOHNSON, S. N. Prior host feeding experience influences ovipositional but not feeding preference in a polyphagous insect herbivore. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 138, n. 2, p. 137-145, 2011.

DE HOOG, G. S.; GUARRO, J. **Atlas of Clinical Fungi**. Centraalbureau voor Schimmelcultures/ Universitat Rovira i Virgili, ed. 2004.

FORNARI, R.A.; MACHOTA JUNIOR, R.; BERNARDI, D.; BOTTON, M.; PASTORI PL. 2013. Evaluation of damage, food attractants and population dynamics of strawberry sap beetle. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, p.380-385, 2013.

GUIMARÃES, J. A.; MICHEREFF FILHO, M.; RIBEIRO, M. G. P. M; LIZ, R. S.; GUEDES, Í. M. R. 2009. Ocorrência e manejo da broca-do-morangueiro no Distrito Federal. **Brasília: Embrapa Hortaliças**, (Comunicado Técnico 74).

KEESEY, I. W.; KNADEN, M.; HANSSON, B. S. Olfactory specialization in *Drosophila suzukii* supports an ecological shift in host preference from rotten to fresh fruit. **Journal of chemical ecology**, v. 41, n. 2, p. 121-128, 2015.

KERN, M. E.; BLEVIS, K. S. **Microbiologia Médica**. São Paulo: Premier, 256 p. 1999.

KNEE, M.; SARGENT, J. A.; OSBORNE, D. J. Cell wall metabolism in developing strawberry fruits. **Journal of Experimental Botany**, v. 28, n. 2, p. 377-396, 1977.

LÓPEZ-SERRANO, M.; ROS BARCELÓ, A. Comparative study of the products of the peroxidase-catalyzed and the polyphenoloxidase-catalyzed (+)-catechin oxidation. Their possible implications in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) browning reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 5, p. 1218-1224, 2002.

LOUGHNER, R. L.; LOEB, G. M.; DEMCHAK, K.; SCHLOEMANN, S. Evaluation of strawberry sap beetle (Coleoptera, Nitidulidae) use of habitats surrounding strawberry plantings as food resources and overwintering sites. **Environmental Entomology**, v.36, n. 5, p.1059-1065, 2007.

LUSSENHOP, J.; WICKLOW, D. T. Nitidulid Beetles (Nitidulidae: Coleoptera) as vectors of *Aspergillus flavus* in pre-harvest maize. **Transactions Mycological Society**, v. 31, p. 63-74, 1990.

POTTER, M. A.; PRICE, J. F.; HABECK, D. H.; SCHUSTER, D. J.; McCORD Jr, E. A survey of sap beetles (Coleoptera, Nitidulidae) in strawberry fields in West Central Florida. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1188-1189, 2013.

PREGNOLATTO, W. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químico-físicos para análise de alimentos**. 4th ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. v. 4. 2005.

REDGWELL, R. J.; MACRAE, E.; HALLETT, I.; FISCHER, M.; PERRY, J.; HARKER, R. In vivo and in vitro swelling of cell walls during fruit ripening. **Planta**, v. 203, n. 2, p. 162-173, 1997.

RONQUE, E. R. V. **A cultura do morangueiro: Revisão e Prática**. Curitiba: Ed. EMATER-Paraná.1988.

SALLES, L. A. B.; WILLIAMS, R. N. Broca-do-morango (*Lobiopa insularis*). Pelotas: Embrapa-UEPAE de Cascata, (Documentos 17), p. 10, 1986.

SILVA, F. de. A.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: **World congress on computers in agriculture**. p. 22-24. 2009.

ZHANG, J.; WANG, X.; YU, O.; TANG, J.; GU, X.; WAN, X.; FANG, C. Metabolic profiling of strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch.) during fruit development and maturation. **Journal of Experimental Botany**, p. erq343, 2011.

4 DIVERSIDADE DE FUNGOS ASSOCIADOS COM *Lobiopa insularis* EM MORANGUEIRO

RESUMO

Sap beetles são conhecidos pelas associações com fungos e leveduras que comprometem as plantas atacadas ao incrementarem por meio destas interações a fermentação dos tecidos vegetais. Pertencente a este grupo, *Lobiopa insularis* tem sido descrito como uma das principais pragas do morangueiro. Este é o primeiro relato das comunidades fúngicas associadas aos cadáveres de *L. insularis*. Adultos vivos foram coletados em sistemas de cultivos convencionais e orgânicos de morangueiro no Sul do Brasil e mortos por congelamento. Foram selecionados os cadáveres de insetos que mostraram sinais de contaminação por fungos. Os isolados fúngicos proveniente dessa associação foram identificados por meio de sequenciamento molecular de DNA. As taxas de colonização de fungos isolados dos cadáveres apresentaram intervalos variados (42,7- 64,7%) nas diferentes áreas de estudo. Um total de 320 fungos pertencente a 17 espécies e nove gêneros foram isolados e identificados. Os gêneros predominantes foram: *Penicillium* (5 espécies) e *Fusarium* (3 espécies), seguidos por *Talaromyces* (2 espécies) e *Aspergillus* (2 espécies). *Clonostachys*, *Scedosporium*, *Purpureocillium*, *Trichoderma* e *Rhizopus* foram representados apenas por uma espécie. Observamos elevadas abundâncias relativas das espécies em sistemas de cultivos convencionais (20,0 - 22,8%) e orgânicos (26,9 - 30,3%). Cinco espécies (*Aspergillus nomius*, *Penicillium janthinellum*, *Talaromyces amestolkiae*, *Penicillium commune* e *Talaromyces verruculosus*.) apresentaram as maiores abundâncias relativas (15,6%, 10,9%, 8,8%, 7,8% e 7,8%, respectivamente). Para as espécies *Clonostachys rosea*, *Purpureocillium lilacinus* e *Trichoderma harzianum* houve decréscimo na abundância relativa nos sistemas, indicando que as espécies patogênicas crescem lentamente em sistemas cultiváveis. Altos índices de diversidade de Shannon-Weiner foram encontrados no sistema convencional e orgânico (1,9 - 2,4). As composições das comunidades fúngicas, estimadas por meio do Coeficiente de Similaridade de Sorensen (Cs), apresentaram diferenças entre as localidades (Cs: 0,38 - 0,46) e em alguns casos observou-se elevados níveis de acolhimento (Cs: 0,63 -0,74). Estes resultados são importantes para futuramente elucidar as principais associações envolvidas no ciclo de vida de *L. insularis*.

Palavras-chaves: Broca-dos-frutos; interação inseto-fungo; diversidade; comunidade

DIVERSITY OF FUNGI ASSOCIATED WITH *Lobiopa insularis* IN STRAWBERRY

ABSTRACT

Sap beetles are known for their associations with fungi and yeasts that compromise the attacked plants by increasing the fermentation of plant tissues through those interactions. *Lobiopa insularis*, which belongs to the sap beetle group, is described as one of the main strawberry pests. Living adults were collected from conventional and organic strawberry systems in southern Brazil and killed by freezing. Insect corpses that showed signs of fungal contamination were selected. The fungal isolates from such association were identified by molecular DNA sequencing. Colonization rates of fungi isolated from the cadavers showed a wide range (42.7 – 64.7%) for the different study areas. A total of 320 fungi belonging to 17 species and nine genera were isolated and identified. The predominant genera were: *Penicillium* (5 species) and *Fusarium* (3 species), followed by *Talaromyces* (2 species) and *Aspergillus* (2 species). *Clonostachys*, *Scedosporium*, *Purpureocillium*, *Trichoderma*, and *Rhizopus* were represented by only one species. We observed high relative species abundances in the conventional (20.0 – 22.8%) and organic (26.9 – 30.3%) systems. Five species (*Aspergillus nomius*, *Penicillium janthinellum*, *Talaromyces amestolkiae*, *Penicillium commune*, and *Talaromyces verruculosus*) showed the highest relative abundances (15.6%, 10.9%, 8.8%, 7.8%, and 7.8%, respectively). For the species *Clonostachys rosea*, *Purpureocillium lilacinus*, and *Trichoderma harzianum* there was a decrease in relative abundance in both systems, indicating that pathogenic species grow slowly in cultivation systems. High Shannon-Wiener diversity indices were found for the conventional and organic systems (1.9 - 2.4). Fungal community compositions, estimated via Sorensen's Similarity Coefficient (Cs), showed differences between localities (Cs: 0.38-0.46) and in some cases high hosting levels were observed (Cs: 0.63 – 0.74). These results are important for future elucidation of the main associations involved in the life cycle of *L. insularis*.

Keywords: *Sap beetles*; insect-fungus interaction; diversity; community

4.1 INTRODUÇÃO

Sap beetles (Coleoptera, Nitidulidae) estão distribuídos amplamente em todas as regiões zoogeográficas. Com 3000 espécies compreendidas em mais de 160 gêneros (LASONÍ; GHAHARI, 2013), a família ocupa diversos nichos ecológicos podendo atuar como polinizadores, micrófagos, saprófagos, frutívoros, antófagos, predadores, herbívoros e necrófagos. Conhecidos pelas associações com fungos e leveduras, estes besouros comprometem as plantas atacadas ao incrementarem por meio destas interações a fermentação dos tecidos vegetais (RONDON; PRICE; CANTLIFFE, 2014).

Propágulos fúngicos são carregados pelos exoesqueletos e tratos digestórios dos insetos e são dispersos ao migrarem de um local para outro e/ou ao serem expelidos pelas fezes. Desde a descoberta de *sap beetles* atuando no carregamento de fungos durante o voo por Yount; Jeffery; Thompson (1955), outros pesquisadores dedicaram-se à compreensão das interações com este grupo de insetos (CLINE et al., 2014). Espécies de *Ceratocystis*, *Aspergillus* e *Fusarium* foram relatadas em associações com *sap beetles* (JUZWIK; FRENCH, 1983; DOWD, 1995). No entanto, o conhecimento de muitas dessas associações com os fungos ainda é fragmentado, com poucas informações disponíveis em relação à diversidade de fungos associados aos *sap beetles* em diversas culturas, inclusive em morangueiro.

Infestações de *sap beetles* em morangueiro passaram a ser registradas a partir de 1950. Anteriormente a esta data, os morangos eram colhidos antes da maturação, sendo assim menos atraente aos insetos (CONNEL, 1980). Entre os inúmeros *sap beetles*, uma importante espécie, a broca-dos-frutos, *Lobiopa insularis* configura-se entre as principais pragas da cultura (GUIMARÃES et al., 2009; BOTTON et al., 2015; RONDON; PRICE; CANTLIFFE, 2014). Frequentemente observada em frutos maduros esta espécie ocasiona danos diretos pela alimentação (BOTTON et al., 2015) e indiretamente pela disseminação de fitopatógenos oportunistas (GUIMARÃES et al., 2009). Embora exista a hipótese de que insetos como *L. insularis* possam atuar no carregamento de fitopatógenos relatos das comunidades fúngicas isoladas desses besouros são desconhecidos.

A fim de compreender essa associação, a ocorrência de fungos em *L. insularis* foi investigada pela primeira vez. Neste trabalho, nós fornecemos detalhes sobre as comunidades fúngicas isoladas dos cadáveres desses insetos na cultura do

morangueiro. Além disso, nós avaliamos (i) taxa de colonização, (ii) abundância relativa, (iii) diversidade e (iiii) similaridade fúngica. Finalmente, discutimos nossos resultados em comparação com as comunidades encontradas em sistemas de cultivos convencionais e orgânico.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 LOCAIS DE AMOSTRAGENS E ISOLAMENTO FÚNGICO

Espécimes de *L. insularis* foram coletados em sistema de produção de morangueiro convencional (Araucária: 25° 30' 21"S e 49° 34' 06"O; São José dos Pinhais: 25° 36' 44"S e 49° 04' 59"O) e orgânico (Curitiba: 25° 28' 45"S e 49° 21' 37"O; Lapa: 25° 50' 45"S e 49° 45' 17"O) entre janeiro a março de 2015. Para cada área de coleta foram amostrados aleatoriamente 150 insetos, totalizando 600 indivíduos analisados.

Adultos vivos foram individualizados em microtubos de 1,5 mL, previamente autoclavados com algodão umedecido com água destilada. Posteriormente, foram mortos por congelamento (- 20 °C) e incubados em câmara climatizada (28 °C ± 2; 70 ± 10%; fotofase: 12 h). Após a extrusão dos fungos, os insetos foram transferidos para o meio de cultura Ágar Saubourad Dextrose (40 g de glicose, 15 g de ágar e 10 g de peptona) usando pinças estéreis e incubadas nas mesmas condições citadas. As colônias fúngicas crescidas no meio foram repicadas e purificadas. As purificações das colônias consistiram nas transferências das pontas das hifas localizadas nas bordas das colônias individuais, ou nos esporos emergidos dos esporângios, às novas placas de Petri contendo o meio Ágar Saubourad Dextrose.

4.2.2 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DOS FUNGOS ISOLADOS DE *L. insularis*

Extração de DNA foi realizada de acordo com o método descrito por Badali et al. (2008). As condições de PCR consistiram em 50 ng de DNA, tampão PCR 1x, 0,5 U de Taq polimerase, 0,14 µM de oligonucleotídeos iniciadores (3,5 pmoles), 0,2 mM de cada dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, e volume final de 25 µL. Oligonucleotídeos

iniciadores ITS 4/ITS 5 foram utilizados para a amplificação da região espaçador transcrito interno (ITS) (WHITE et al., 1990). As condições das amplificações incluíram uma desnaturação inicial a 95°C por 2 minutos, 35 ciclos de 1 minuto a 92°C, 1 minuto a 50°C, 1 minuto a 72°C, e extensão final de 3 minutos a 72°C. Para a espécie *Rhizopus* foi utilizado o oligonucleotídeo iniciador 18S (F-566 e R-1200) (HADZIAVDIC et al., 2014). As condições das amplificações incluíram uma desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, 30 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 60°C, 1 minuto a 72°C, e extensão final de 10 minutos a 72°C. Um controle negativo, com o uso de água sem DNA, foi incluído em cada PCR. Produtos de PCR foram visualizados sob iluminação UV sobre um gel de agarose a 1,5% corado com de brometo de etídio (10 mg mL⁻¹). Produtos amplificados foram purificados utilizando o Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega). As reações de sequenciamentos dos fragmentos de PCR foram realizadas pela empresa Genotyping (Botucatu, Brasil).

As sequências obtidas foram alinhadas e editadas com o auxílio do pacote do programa Staden versão 1.6 (BONFIELD et al., 2006). Os alinhamentos das sequências obtidas foram realizados pelo programa MEGA versão 4.0 (TAMURA et al., 2006). Todas as sequências foram comparadas com as depositadas no National Center for Biotechnology Information's (NCBI) GenBank nucleotide BLAST search. As sequências homólogas para determinar as espécies e gêneros foram estabelecidas em 98 - 100% e 95 - 97%, respectivamente.

4.2.3 INTERPRETAÇÃO E ANÁLISE DE DADOS

A taxa de colonização foi calculada de acordo com a presença de isolados fúngicos no corpo do inseto dividido pelo número total de insetos e expressa em percentagem para cada área.

A abundância relativa de cada espécie identificada foi expressa em percentagem de sequências encontradas para cada área de coleta sobre o número total de sequências.

A diversidade foi avaliada pelo Índice Shannon-Weiner (H') conforme a fórmula $H' = -\sum_{i=1}^k p_i \times p_i \ln p_i$, onde k é o número total de espécies, e p_i é a proporção de indivíduos de que a espécie i contribui para espécies total (PIELOU, 1975).

O grau de semelhança das comunidades fúngicas de diferentes locais foi estimado por meio do Coeficiente de Similaridade de Sorensen (Cs), $Cs = 2j / (a + b)$, onde j é o número de espécies comuns entre as duas comunidades, “a” é o número de espécies numa amostragem e “b” é o número de espécies numa segunda amostragem (MAGURRAN, 2013).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 TAXA DE COLONIZAÇÃO

Intervalos com variações entre 42,7 - 64,7% foram observados na taxa de colonização de *L. insularis* por fungos (Tabela 4.1).

4.3.2 COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE FÚNGICA

Um total de 320 fungos foi isolado a partir de 600 insetos. Os maiores números de espécies identificadas pertencem aos gêneros *Penicillium* (5 espécies) e *Fusarium* (3 espécies), seguidos por *Talaromyces* (2 espécies) e *Aspergillus* (2 espécies). Os gêneros *Clonostachys*, *Scedosporium*, *Purpureocillium*, *Trichoderma* e *Rhizopus* foram representados apenas por uma espécie (Tabela 4.2).

Variações compreendendo a abundância relativa (20,0 - 30,3%) refletiram por meio de elevadas percentagens em sistema de cultivo convencional (20,0-22,8%) e orgânico (26,9 - 30,3%). Equivalendo as maiores proporções às espécies *Aspergillus nomius* (15,6%), *Penicillium janthinellum* (10,9%), *Talaromyces amestolkiae* (8,8%), *Penicillium commune* (7,8%) e *Talaromyces verruculosus* (7,8%). Sendo as menores dominâncias nas abundâncias relativas encontradas em *Clonostachys rosea* (2,2%), *Purpureocillium lilacinus* (2,2%) e *Trichoderma harzianum* (1,6%) (Tabela 4.2).

Um número maior de espécies foi isolado a partir do sistema orgânico, (12 espécies em Curitiba e na Lapa) do que em convencional (10 espécies em Araucária e 09 em São José dos Pinhais). Os isolados dos dois sistemas, no entanto, apresentaram diversidades elevadas conforme o indicado pelo Índice de Shannon-Weiner (H') calculados para as quatro áreas de coletas (Tabela 4.1).

Foram constatadas nos diferentes locais, por meio do Coeficiente de Similaridade de Sorensen, baixas e altas similaridades entre as comunidades fúngicas. A maior semelhança (0,74) foi encontrada em Araucária/São José dos Pinhais e a menor (0,38) foi em Curitiba/São José dos Pinhais. Somente as espécies *Aspergillus nomius* e *Penicillium janthinellum* foram encontradas em todas as áreas de coleta. As demais espécies apresentaram dissimilaridades variáveis em sua presença de acordo com as localidades (Tabela 4.1).

TABELA 4. 1 - TAXA DE COLONIZAÇÃO (%), DIVERSIDADE E SIMILARIDADE DA COMUNIDADE FÚNGICA ISOLADA DE *Lobiopa insularis* EM SISTEMAS DE CULTIVO CONVENCIONAL E ORGÂNICO DE MORANGUEIRO.

Localidade	TC (%)	(H')	Coeficiente de Similaridade de Sorensen			
			1	2	3	4
1	57,3	2,4		0,67	0,46	0,38
2	64,7	2,3			0,73	0,63
3	42,7	2,2				0,74
4	48,7	1,9				

Taxa de colonização (TC) expressa em percentagem.

Índice de Shannon-Weiner (H').

1: Curitiba; 2: Lapa; 3: Araucária; 4: São José dos Pinhais. 1-2 (cultivo orgânico) e 3-4 (cultivo convencional).

TABELA 4. 2 - ABUNDÂNCIA RELATIVA (%) DE ESPÉCIES FÚNGICAS OBTIDAS A PARTIR DE *Lobiopa insularis* EM SISTEMAS DE CULTIVO CONVENCIONAL E ORGÂNICO EM MORANGUEIRO.

Espécie	Abundância relativa (%)				Relatos de insetos associados com fungos por outros autores
	1	2	3	4	
<i>Aspergillus nomius</i>	2,8	4,7	2,5	5,6	POULSEN et al., 2006
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	3,1	2,5	0,0	0,0	BAGGIO et al., 2016
<i>Clonostachys rosea</i>	1,9	0,0	0,0	0,3	TOLEDO et al., 2006; SUN et al., 2008
<i>Fusarium equiseti</i>	0,0	3,1	0,9	0,0	Primeiro registro
<i>Fusarium oxysporum</i>	2,5	2,5	0,0	0,0	TOLEDO et al., 2006; RODRIGUES et al., 2010
<i>Fusarium solani</i>	0,0	0,0	3,1	2,8	DORNELAS et al., 2016
<i>Penicillium brasilianum</i>	2,5	0,0	2,2	0,0	Primeiro registro
<i>Penicillium citrinum</i>	2,5	0,9	1,9	0,0	PEREIRA et al., 2009
<i>Penicillium commune</i>	0,0	2,5	1,9	3,4	Primeiro estudo
<i>Penicillium janthinellum</i>	0,9	3,8	1,6	4,7	ZETTLER et al., 2002
<i>Penicillium paxilli</i>	0,6	3,1	0,0	0,0	Primeiro registro
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	0,0	0,9	0,9	0,3	Muitos estudos
<i>Rhizopus stolonifer</i>	2,5	0,0	0,0	0,0	ZETTLER et al., 2002; ASSAF et al., 2011
<i>Scedosporium aurantiacum</i>	3,1	0,9	0,0	2,2	Primeiro registro
<i>Talaromyces amestolkiae</i>	3,8	5,0	0,0	0,0	Primeiro registro
<i>Talaromyces verruculosus</i>	0,6	0,0	4,4	2,8	Primeiro registro
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,0	0,3	0,6	0,6	SUN et al., 2008
TOTAL	26,9	30,3	20,0	22,8	

1: Curitiba; 2: Lapa; 3: Araucária; 4: São José dos Pinhais. 1-2(cultivo orgânico) e 3-4 (cultivo convencional).

4.4 DISCUSSÃO

Esta é a primeira investigação da comunidade fúngica colonizando *L. insularis*. No seu conjunto, altas taxas de colonização (42,7-64,7%) foram consistentes com os resultados obtidos com espécies fisicamente semelhantes a este inseto. Cease e Juzwik (2001) destacaram a importância do tamanho dos coleópteros na taxa de colonização. Isto evidencia que para espécies menores de *sap beetles* como *Colopterus truncatus* e *Epuraea corticina* são encontrados baixos números de propágulos em seus exoesqueletos, enquanto que a maior incidência e propágulos viáveis foram reportados às espécies maiores como *Glischrochilus sanguinolentus*, *Glischrochilus quadrisignatus* e *Glischrochilus fasciatus*.

Confirmações das estruturas carregadas nos cadáveres demonstram o transporte de diversas espécies fúngicas associadas a *L. insularis*. Estes achados mostram as variações dos micro-organismos, ou seja, com o desenvolvimento da microbiota ocorrendo concomitantemente na natureza é possível encontrar fungos generalistas colonizadores de solos, entomopatógenos e fitopatógenos. Como observado na cultura da videira por Moyo et al. (2014) e corroborado neste estudo, as espécies de fungos não são restritas apenas a um único indivíduo sendo, em alguns casos, encontrado duas ou mais espécies no mesmo indivíduo. Essas inespecificidades são compreensíveis, uma vez que o contato dos insetos com elevadas taxas de esporos pode ocorrer facilmente se estes esporulam simultaneamente.

A relação *L. insularis*/ morangueiro/ sistema de cultivo demonstrou pela primeira vez a presença de seis espécies na cultura: *Aspergillus westerdijkiae*, *Aspergillus nomius*, *Penicillium brasilianum*, *Penicillium paxilli*, *Scedosporium aurantiacum* e *Talaromyces amestolkiae*. Sugere-se que algumas dessas novas espécies associadas à cultura e isoladas dos cadáveres dos insetos podem ter sido trazidas por *L. insularis* de áreas adjacentes ao morangueiro (por exemplo, plantações de hortaliças, frutíferas e plantas silvestres próximas às áreas analisadas). Outros trabalhos evidenciaram a presença de esporos nos exoesqueletos durante o voo livre dos *sap beetles* (YOUNT; JEFFERY; THOMPSON, 1955; JUZWIK; FRENCH, 1983). Identificações dos esporos nos excrementos dos insetos também puderam ser

visualizadas em menos de uma hora de alimentação, sendo que a passagem pelo trato intestinal não reduziu a viabilidade dessas estruturas (MOLLER; DEVAY, 1968).

Associações de *L. insularis* com fungos foram mais abundantes em áreas com sistema orgânico (26,9 - 30,3%) quando comparado ao sistema convencional (20,0 - 22,8%). Este fato pode estar associado à ausência de pesticidas em sistemas orgânicos, em especial, os fungicidas inorgânicos. A ausência de aplicações de agrotóxicos favorece o aumento da densidade populacional dos fungos (KLINGEN; EILENBERG; MEADOW, 2002). Além disso, os fungos parecem responder beneficemente ao manejo orgânico, demonstrando uma relação positiva sobre a atividade microbiana ou biomassa (BENGTSSON; AHNSTRÖM; WEIBULL, 2005). Entretanto, espécies amplamente pesquisadas em controle biológico como *Clonostachys rosea*, *Trichoderma harzianum* e *Purpureocillium lilacinus* foram encontradas em menor proporção nos dois sistemas. Alterações da comunidade fúngica acarretadas por perturbações devido o preparo do solo (roto-encanteirador) em ambos os sistemas podem impedir altas densidades populacionais dessas espécies, expondo-as condições adversas sobre a superfície do solo e/ou enterrando-as longe dos seus hospedeiros (CHANDLER; HAY; REID, 1997). Dessa maneira, devido à menor capacidade de concorrência nos sistemas, as espécies patogênicas aumentam lentamente suas populações em detrimento das espécies de rápido crescimento, em especial as espécies ditas oportunistas e colonizadoras secundárias (MEYLING; EILENBERG, 2006).

Uma grande diversidade das composições fúngicas foi encontrada (1,9-2,4). Presume-se que a diversificação da disponibilidade de nichos originados pelos habitats perturbados com adição de fertilizantes inorgânicos e orgânicos, semeaduras, rotação de culturas e pousio contribuem para a diferenciação da composição das espécies isoladas dos insetos em um agroecossistema. Estes fatores referentes ao manejo agrícola são apoiados por pesquisas anteriores (DOUDS; MILLNER, 1999; MÄDER et al., 2000; GOSLING et al., 2006) mostrando que acréscimos ou decréscimos na diversidade fúngica são muitas vezes gerados pelas práticas agrícolas. Por outro lado, as diferenças encontradas entre a agricultura orgânica e convencional são mais acentuadas em estudos que não levam em conta as paisagens circundantes, como é o nosso caso, o que faz com que as práticas agrícolas expliquem em parte a variação nas riquezas (BENGTSSON; AHNSTRÖM; WEIBULL, 2005).

Comparações das similaridades fúngicas indicaram que as distribuições das espécies apresentaram baixas similaridades (0,38-0,46), em diferentes sistemas de cultivos. Estes resultados também demonstram que as distribuições das espécies eram semelhantes nos mesmos sistemas (0,67-0,74) e apenas em dois casos mostraram certo nível de acolhimento em diferentes sistemas de cultivos (0,63-0,73). Baixas similaridades encontradas podem ter sido provocadas devido às segregações espaciais envolvendo os locais avaliados. Alternativamente, as diferenças encontradas na composição também podem ser resultado das variações edafoclimáticas, tais como, nutrientes, pH, umidade e temperatura (dados não mostrados). Contudo, não se tem conhecimento sobre como as diferentes condições edafoclimáticas podem afetar esta composição.

O papel dos fungos no ciclo de vida de *L. insularis* ainda não foi esclarecido. No entanto, para a espécie de *sap beetle* *Carpophilus lugubris*, foi sugerido que essa espécie localiza suas fontes de alimentos por respostas às misturas variáveis de constituintes voláteis comuns de fungos e plantas (LIN; PHELAN, 1991). Há também algumas evidências de que os insetos possam desempenhar um papel na dormência dos fungos que não persistem por muito tempo em tecidos vegetais lesionados (MOLLER; DEVAY, 1968). Os resultados obtidos podem ser precursores de uma posterior triagem detalhada das interações entre espécies. Estudos futuros poderão considerar os aspectos funcionais dessas associações e incluir teste de patogenicidade e de dispersão para avaliar a relação e a importância de fungos associados com *L. insularis* no Brasil.

Em conclusão, *Penicillium*, *Fusarium*, *Talaromyces* e *Aspergillus* são os principais gêneros associados a adultos de *L. insularis*.

REFERÊNCIAS

ASSAF, L. H.; HALEEM, R. A.; ABDULLAH, S. K. Association of entomopathogenic and other opportunistic fungi with insects in dormant locations. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 2, p. 87-92, 2011.

BADALI, H.; CARVALHO, V. O.; VICENTE, V.; ATTILI-ANGELIS, D.; KWIATKOWSKI, I. B.; VAN DEN ENDE, A. G.; HOOG, G. D. *Cladophialophora saturnica* sp. nov., a new opportunistic species of Chaetothyriales revealed using molecular data. **Medical Mycology**, v. 47, n. 1, p. 51-62, 2009.

BAGGIO, M. V.; FERREIRA, M. D. C.; MONTEIRO, A. C.; MALDONADO JUNIOR, W.; LEMOS, M. V. F. Pathogenicity of *Aspergillus westerdijkiae* to females and oothecae of *Periplaneta Americana*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 1, p. 20-25, 2016.
BENGTSSON, J.; AHNSTRÖM, J.; WEIBULL, A. C. The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. **Journal of applied ecology**, v. 42, n. 2, p. 261-269, 2005.

BONFIELD, J; BEAL, K; JORDAN, M; CHEN, Y; STADEN, R. **The Staden Package Manual**, Cambridge, UK, 2006.

BOTTON, M.; BERNARDI, D.; FORNARI, R.; MACHOTA JUNIOR, R.; BORTOLI, L. Biologia, monitoramento e controle de *Lobiopa insularis* (Castelnau, 1840) (Coleoptera, Nitidulidae) na cultura do morangueiro no Rio Grande do Sul. **Embrapa Uva e Vinho-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2015.

CEASE, K. R.; JUZWIK, J. Predominant nitidulid species (Coleoptera, Nitidulidae) associated with spring oak wilt mats in Minnesota. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 31, n. 4, p. 635-643, 2001.

CHANDLER, D.; HAY, D.; REID, A. P. Sampling and occurrence of entomopathogenic fungi and nematodes in UK soils. **Applied Soil Ecology**, v. 5, n. 2, p. 133-141, 1997.

CLINE, A. R.; SKELLEY, P. E.; KINNEE, S. A.; ROONEY-LATHAM, S.; WINTERTON, S. L.; BORKENT, C. J.; Audisio, P. Interactions between a Sap Beetle, Sabal Palm, Scale Insect, Filamentous Fungi and Yeast, with Discovery of Potential Antifungal Compounds. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e89295, 2014.

CONNELL, W. A. *Stelidota geminate* (Say) infestations in strawberries (Coleoptera, Nitidulidae). **Entomological News**, v. 91, p. 55-56, 1980.

DORNELAS, A. S. P.; DE ALMEIDA SARMENTO, R.; DOS SANTOS, G. R.; NASCIMENTO, M. O.; DE SOUZA, D. J. Fungos Filamentosos Associados às Espécies *Atta sexdens* (Linnaeus) e *Atta laevigata* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **EntomoBrasilis**, v. 9, n. 1, p. 26-30, 2016.

DOUDS, D. D.; MILLNER, P. D. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 74, n. 1, p. 77-93, 1999.

DOWD, P. F. Sap beetles and mycotoxins in maize. **Food Additives & Contaminants**, v. 12, n. 3, p. 497-508, 1995.

GOSLING, P.; HODGE, A.; GOODLASS, G.; BENDING, G. D. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 113, n. 1, p. 17-35, 2006.

GUIMARÃES, J. A.; FILHO, M.M; RIBEIRO, M. G. P. M.; LIZ, R. S.; GUEDES, I. M. R. Ocorrência e Manejo da Broca-do-Morangueiro No Distrito Federal. **Comunicado Técnico**, nº 74, Brasília, DF, 2009.

HADZIAVDIC, K.; LEKANG, K.; LANZEN, A.; JONASSEN, I.; THOMPSON, E. M.; TROEDSSON, C. Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e87624, 2014.

JUZWIK, J.; FRENCH, D. W. *Ceratocystis fagacearum* and *C. piceae* on the surfaces of free-flying and fungus-mat-inhabiting nitidulids. **Phytopathology**, v. 73, n. 8, p. 1164-1168, 1983.

KLINGEN, I.; EILENBERG, J.; MEADOW, R. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 91, n. 1, p. 191-198, 2002.

LASONÍ, A.; GHAHARI, H. A checklist of the Kateretidae and Nitidulidae of Iran (Coleoptera, Cucujoidea). **Zootaxa**, v. 3746, n. 1, p. 101-122, 2013.

LIN, H.; PHELAN, P. L. Identification of food volatiles attractive to dusky sap beetle, *Carpophilus lugubris* (Coleoptera, Nitidulidae). **Journal of chemical ecology**, v. 17, n. 6, p. 1273-1286, 1991.

MÄDER, P.; EDENHOFER, S.; BOLLER, T.; WIEMKEN, A.; NIGGLI, U. Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. **Biology and fertility of Soils**, v. 31, n. 2, p. 150-156, 2000.

MAGURRAN, A. E. **Measuring biological diversity**. John Wiley & Sons, 2013.

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 113, n. 1, p. 336-341, 2006.

MOLLER, W. J.; DEVAY, J. E. Insect transmission of *Ceratocystis fimbriata* in deciduous fruit orchards. **Phytopathology**, v. 58, n. 11, p. 1499-1508., 1968.

MOYO, P.; ALLSOPP, E.; ROETS, F.; MOSTERT, L.; HALLEEN, F. Arthropods vector grapevine trunk disease pathogens. **Phytopathology**, v. 104, n. 10, p. 1063-1069, 2014.

PEREIRA, E. D. S.; SARQUIS, M. I. D. M.; FERREIRA-KEPPLER, R. L.; HAMADA, N.; ALENCAR, Y. B. Filamentous fungi associated with mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in municipalities of the Brazilian Amazon. **Neotropical entomology**, v. 38, n. 3, p. 352-359, 2009.

PIELOU, E.C. **Ecological diversity**. John Wiley & Sons, New York, 1975.

POULSEN, M.; HUGHES, W. O. H.; BOOMSMA, J. J. Differential resistance and the importance of antibiotic production in *Acromyrmex echinator* leaf-cutting ant castes towards the entomopathogenic fungus *Aspergillus nomius*. **Insectes Sociaux**, v. 53, n. 3, p. 349-355, 2006.

RODRIGUES, A.; SILVA, A.; BACCI JR, M.; FORTI, L. C.; PAGNOCCA, F. C. Filamentous fungi found on foundress queens of leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 134, n. 4, p. 342-345, 2010.

RONDON, S. I.; PRICE, J. F.; CANTLIFFE, D. J. Sap beetle (Coleoptera, Nitidulidae) management in strawberries. **Gainesville: University of Florida**, 2014.

SUN, B. D.; LIU, X. Z. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. **Applied soil ecology**, v. 39, n. 1, p. 100-108, 2008.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. Mega 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**. v. 24, p. 1596-1599, 2006.

TOLEDO, A. V.; VIRLA, E.; HUMBER, R. A.; PARADELL, S. L.; LASTRA, C. L. First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopia tucumana* and *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. **Journal of invertebrate pathology**, v. 92, n. 1, p. 7-10, 2006.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S. J. W. T.; TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

YOUNT, W. L.; JEFFERY, A. R.; THOMPSON, H. E. Spores of *Endoconidiophora fagacearum* on the external surface of the body of nitidulids. **Plant Disease**, v. 39, p. 54-57, 1955.

ZETTLER, J. A.; MCINNIS JR, T. M., ALLEN, C. R.; SPIRA, T. P. Biodiversity of fungi in red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) mounds. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 95, n. 4, p. 487-491, 2002.

5 CONCLUSÕES GERAIS

1. Larvas e adultos de *Lobiopa insularis* apresentam capacidade de ocasionar danos em frutos de morango em diferentes estádios de maturação.
2. As maiores porcentagem de danos por larvas e adultos de *L. insularis* são ocasionados em frutos semi-maduros e morango maduros.
3. Larvas e adultos de *L. insularis* possuem preferência alimentar por fruto de morango maduro.
4. O *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* e *Talaromyces* são principais gêneros de fungos associados a cadáveres de adultos de *L. insularis*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pretende-se dar continuidade aos estudos com *Lobiopa insularis*. Neste sentido, faz-se necessário o desenvolvimento de uma dieta artificial mais adequada para a criação desta espécie em condições laboratoriais. Dessa forma, o fornecimento de uma alimentação uniforme e adequada nutricionalmente visa-se produzir insetos em grande quantidade e o ano inteiro, sem dependência sazonal de frutos no campo com infestação. Assim, a produção massal dos insetos, terá em vista à resolução de problemas relacionadas à entomologia básica e aplicada.

REFERÊNCIAS GERAIS

ABBOTT, S.P. **Insects and other arthropods as agents of vector-dispersal of fungi**. Disponível em: < [http:// www. thermapure. com/ pdf/ AbbottInsectdisp ersal. pdf](http://www.thermapure.com/pdf/AbbottInsectdispersal.pdf) > . 2002. Acesso: 10 de outubro de 2016.

AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários) - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <[http:// www.agricultura.gov.br/](http://www.agricultura.gov.br/)> Acesso: 10 de outubro de 2016.

BENDING, G. D.; PUTLAND, C.; RAYNS, F. Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. **Biology and Fertility of Soils**, v. 31, n. 1, p. 78-84, 2000.

BORTOLI, L. C.; JUNIOR, R. M.; BOTTON, M. Biologia e tabela de vida de fertilidade da broca-do-morangueiro criada em dieta artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 2, p. 144-147, 2014.

Cassar, S.; Blackwell, M. Convergent origins of ambrosia fungi. **Mycologia**, , p. 596-601. 1996.

CEASE, K. R.; JUZWIK, J. Predominant nitidulid species (Coleoptera, Nitidulidae) associated with spring oak wilt mats in Minnesota. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 31, n. 4, p. 635-643, 2001.

CONNELL, W. A. *Stelidota geminata* (Say) infestations of strawberries (Coleoptera, Nitidulidae). **Entomological News**, v. 91, n. 2, p. 55-56, 1980.

FACHINELLO, J.C.; PASA, M. da S.; SCHMTIZ, J.D.; BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.109-120, 2011.

FAOSTAT: **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>. Acesso: 10 de outubro de 2016.

FORNARI, R. A; MACHOTA JUNIOR, R.; BERNARDI, D.; BOTTON, M.; PASTORI, P.L. Evaluation of damage, food attractants and population dynamics of strawberry sap beetle. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 380-385, 2013.

FORNAZIER, M. J.; CARMO, C. A. S. DO; TEIXEIRA, C. P.; PEREIRA, E. B. Finding of the strawberry borer *Lobiopa insularis* in the State of Espírito Santo. **Comunicado Técnico ENCAPA**, v 44, n. 3. 1986.

GARRIDO, C.; CARBÚ, M.; FERNÁNDEZ-ACERO, F. J.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, V. E.; CANTORAL, J. M. New insights in the study of strawberry fungal pathogens. **Genes Genomes Genomics**, v. 5, n. 1, p. 24-39, 2011.

GIBLIN, R. M. Association of *Bursaphelenchus* sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) with nitidulid beetles (Coleoptera, Nitidulidae). **Revue de nématologie**, v. 8, n. 4, p. 369-375, 1985.

GUIMARÃES, J. A.; FILHO, M.M; RIBEIRO, M. G. P. M.; LIZ, R. S.; GUEDES, I. M. R. Ocorrência e Manejo da Broca-do-Morangueiro No Distrito Federal. **Comunicado Técnico**, nº 74, Brasília, DF, 2009.

KLINGEN, I.; EILENBERG, J.; MEADOW, R. Effects of farming system, field margins and bait insect on the occurrence of insect pathogenic fungi in soils. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 91, n. 1, p. 191-198, 2002.

LASOÑ, A.; GHAHARI, H. A checklist of the Kateretidae and Nitidulidae of Iran (Coleoptera, Cucujoidea). **Zootaxa**, v. 1, p. 101-122, 2013.

LASOÑ, A.; PRZEWOŻNY, M. *Lobiopa insularis* (CASTELNAU, 1840) (Coleoptera, Nitidulidae: Nitidulinae)-an introduced beetle species new for the Palaearctic fauna. **Polish journal of entomology**. Bydgoszcz, v. 78, n. 4, p. 347-350, 2009.

Leach, J. G. **Insect Transmission of Plant Diseases**. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York and London. 1940.

LOPES, M. C; ANDRADE, C. S; NUNES, A. P.; PALHA, M. G. **Manual do morangueiro**. In: PALHA, M. G. (Ed.) Colheita, pós-coheita, conservação e qualidade. Projecto PO AGRO DE&D, p. 63, 2005.

MACHOTA JUNIOR, R.; BORTOLI, L. C.; BOTTON, M.; GRUTZMACHER, A. D. Fungi that cause rot in bunches of grape identified in adult fruit flies (*Anastrepha fraterculus*) (Diptera: Tephritidae). **Chilean journal of agricultural research**, v. 73, n. 2, p. 196-201, 2013.

MADAIL, J. C. M. A. Economia do morango. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 4.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 3., Pelotas, RS. **Palestras e Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.15-20, 2008.

MARTIN, M. M.; KUKOR, J. J.; MARTIN, J. S.; O'TOOLE, T. E.; JOHNSON, M. W. Digestive enzymes of fungus-feeding beetles. **Physiological zoology**, p. 137-145, 1981.

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 113, n. 1, p. 336-341, 2006.

MOYO, P.; ALLSOPP, E.; ROETS, F.; MOSTERT, L.; HALLEEN, F. Arthropods vector grapevine trunk disease pathogens. **Phytopathology**, v. 104, n. 10, p. 1063-1069, 2014.

MYERS, L. Sap beetles (of Florida), Nitidulidae (Insecta: Coleoptera, Nitidulidae). University of Florida-IFAS, Cooperative Extension Service, EENY-256. 2013. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN525>. Acesso: 10 de outubro de 2014.

PARSONS, C. T. A revision of Nearctic Nitidulidae (Coleoptera). Bull. Mus. Comp. Zool. 92: 119-278, 1943.

PECK, S. B. The beetle fauna of Dominica, Lesser Antilles (Insecta: Coleoptera): diversity and distribution. **Insecta mundi**, v. 20, n. 3-4, p. 165-210, 2006.

PENG, C.; WILLIAMS, R. N. Laboratory rearing of *Lobiopa undulata* (Coleoptera, Nitidulidae). **Florida Entomologist**. v.73, p.515-517, 1990.

POTTER, M. A.; PRICE, J. F.; HABECK, D. H.; SCHUSTER, D. J.; McCORD Jr, E. A Survey of Sap Beetles (Coleoptera, Nitidulidae) in Strawberry Fields in West Central Florida. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 3, p. 1188-1189, 2013.

POUDEL, D. D.; HORWATH, W. R.; LANINI, W. T.; TEMPLE, S. R.; VAN BRUGGEN, A. H. C. Comparison of soil N availability and leaching potential, crop yields and weeds in organic, low-input and conventional farming systems in northern California. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 90, n. 2, p. 125-137, 2002.

PRICE, J. F. Adult and larval large sap beetle (picnic beetle, nitidulid), *Lobiopa insularis*. 2004. Disponível em: <http://strawberry.ifas.ufl.edu/entomology/damaging1full.htm>. Acesso: 10 de outubro de 2016.

PRICE, J. F.; NAGLE, C. A. Novaluron for Control of Larval Sap Beetles in Strawberries. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 123, p. 179–182, 2010.

ROETS, F.; WINGFIELD, M. J.; WINGFIELD, B. D.; DREYER, L. L. Mites are the most common vectors of the fungus *Gondwanamyces proteae* in *Protea* infructescences. **Fungal biology**, v. 115, n. 4, p. 343-350, 2011.

RONDON, S. I.; PRICE, J. F.; CANTLIFFE D. J. Sap Beetle (Coleoptera, Nitidulidae) Management in Strawberries. **Gainesville: University of Florida**, 2014.

RONQUE, E. R. V. **A cultura do morangueiro**. Curitiba: Ed. Instituto Emater. 2010.

RONQUE, E. R. V. **A cultura do morangueiro: Revisão e Prática**. Curitiba: Ed. EMATER-Paraná. 1988.

RONQUE, E. R. V.; VENTURA, M. U.; SOARES JÚNIOR, D.; MACEDO, R. B.; CAMPOS, B. R. S. Viabilidade da exploração da cultura do morango no Paraná - BR. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 35, n. 4, p. 1032-1041, 2013.

RUMBOS, C. I.; KIEWNICK, S. Effect of plant species on persistence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 in soil and on root colonization by the fungus. *Plant and Soil*, The Hague, v. 283, p. 25-31, 2006.

SALLES, L. A. B.; WILLIAMS, R. N. Broca-do-morango (*Lobiopa insularis*). Pelotas: Embrapa-UEPAE de Cascata, (Documentos 17), p. 10, 1986.

SILVA, K. D. S.; MICHEREFF FILHO, M.; DA SILVA, J. B. T.; MARTINS, I., ISAIAS, C. O.; RESENDE, F. V.; DE MELLO, S. C. M. Dinâmica populacional de fungos benéficos em solos nos sistemas de cultivo convencional e orgânico de morangueiro. **Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2009.

SINGH, P. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. **Insect Science and its Application**. v.4, p.357-362, 1983.

SOUZA, M. T.; ZAWADNEAK, M. A. C. ; CUQUEL, F. L. . Parâmetros biológicos da broca-dos-frutos em dieta artificial. In: Encontro Nacional de Fruticultura de Clima Temperado - ENFRUTE, 2015, Fraiburgo. Anais do Enfrute, 2015.

SPECHT, S.; BLUME, R. Competitividade e segmento de mercado à cadeia do morango: algumas evidências sobre o panorama mundial e brasileiro. In: SOBER – SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 47., 2009, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre: SOBER. p.1-17, 2009.

SUN, B. D.; LIU, X. Z. Occurrence and diversity of insect-associated fungi in natural soils in China. **Applied soil ecology**, v. 39, n. 1, p. 100-108, 2008.

SUN, B. D.; YU, H. Y.; CHEN, A. J.; LIU, X. Z. Insect-associated fungi in soils of field crops and orchards. **Crop Protection**, v. 27, n. 11, p. 1421-1426, 2008.

TURNBOW Jr, R. H.; THOMAS, M. C. An annotated checklist of the Coleoptera (Insecta) of the Bahamas. **Insect mundi**, v. 34, p. 1-64, 2008.

VAN BRUGGEN, A. H. C.; SEMENOV, A. M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. **Applied Soil Ecology**, v. 15, n. 1, p. 13-24, 2000.

ZAWADNEAK, M. A. C.; SCHUBER, J. M; MÓGOR, Á, F. (Orgs.). **Como produzir morangos**. Curitiba: Ed. UFPR, 280p. 2014.

ZAWADNEAK, M.A.C.; SCHUBER BOTTON VIDAL. SANTOS Pragas do morangueiro. IN: ZAWADNEAK, M. A. C.; SCHUBER, J. M; MÓGOR, Á, F. (Orgs.). **Como produzir morangos**. Curitiba: Ed. UFPR, 280p. 2014.