

EDSON DE OLIVEIRA

INTERAÇÃO ENTOMOPATOGÊNICA DE *Cladosporium* sp. A *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) EM COUVE (*Brassica oleracea*) NA REGIÃO DE LAVRAS-MG.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, Sub-área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. HILÁRIO ANTÔNIO DE CASTRO

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1996**

EDSON DE OLIVEIRA

INTERAÇÃO ENTOMOPATOGÊNICA DE *Cladosporium* sp. A *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) EM COUVE (*Brassica oleracea*) NA REGIÃO DE LAVRAS-MG.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, Sub-área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. HILÁRIO ANTÔNIO DE CASTRO

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1996**

**FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CLASSIFICAÇÃO
E CATALOGAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA**

Oliveira, Edson de

Interação entomopatogênica de Cladosporium sp. A Brevicoryne brassicae Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) em couve (Brassica oleracea) na Região de Lavras-MG. / Edson de Oliveira. - - Lavras : UFLA, 1996.

44 p. : il.

Orientador : Hilário Antônio de Castro.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Couve - Pulgão. 2. Praga agrícola. 3. Fungo Cladosporium.
 4. Entomopatogenicidade. 5. Brevicoryne brassicae. 6. Interação.
- I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.349752

EDSON DE OLIVEIRA

INTERAÇÃO ENTOMOPATOGÊNICA DE *Cladosporium* sp. A *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) EM COUVE (*Brassica oleracea*) NA REGIÃO DE LAVRAS-MG.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, Sub-área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA: 30 de agosto de 1996


Prof. César Freire Carvalho


Prof. Mário Sobral de Abreu


Prof. Hilário Antônio de Castro
(Orientador)

Ao meu pai, Everardo de Oliveira

A minha mãe, Maria N. de Oliveira

Aos meus irmãos, Elson, Nelson, Nélia e Delcio

A Rísia P. Santos

OFEREÇO

Aos meus pais, Maria e Everardo Oliveira

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Fitossanidade, pela oportunidade concedida para a realização deste curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao professor Hilário Antonio de Castro, pela orientação, compreensão e amizade;

Aos professores José Antônio R. Cabral e Manoel Passos de Castro pela amizade e apoio;

À professora Vanda Helena Paes Bueno, pela co-orientação;

Ao professor Mário Sobral de Abreu pela amizade e colaboração;

Ao professor César Freire Carvalho pela colaboração;

À professora Antônia Filgueira dos Reis pela compreensão;

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade da UFLA, em especial a Eloisa, Psida, Ana, Cleber, Eliana, Lisiane, Carlos, Antônio Carlos, Maria de Lourdes, Augusto, Nazaré e Cleuza.

Aos colegas de pós-graduação Eduardo, Jamilson, Leonardo (Varginha), Adriane, Alex, Daniel Gamarra, Luiz e Gilma Chitarra, João, Jorge, e aos demais colegas pelo convívio e amizade;

A todos aqueles que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vi
ABSTRACT.....	viii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Fungos entomopatogênicos	3
2.2 Importância e biologia de <i>Brevicoryne brassicae</i>	7
2.3 Efeito do ambiente sobre o patógeno, o hospedeiro e a interação	8
2.4 Referências Bibliográficas	9
3 Associação de <i>Cladosporium</i> sp. a <i>Brevicoryne brassicae</i> L.1758 (Homoptera: Aphididae) em couve na região de Lavras-MG e caracterização dos isolados do fungo	12
RESUMO	12
ABSTRACT.....	13
3.1 Introdução	14
3.2 Material e Métodos	15
3.2.1 Local das observações	15
3.2.2 Avaliação da associação e obtenção dos isolados	15
3.2.3 Caracterização dos isolados	15

3.2.3.1 Caracteres culturais	15
3.2.3.2 Produção de esporos.....	16
3.3 Resultados e Discussão	16
3.3.1 Associação do <i>Cladosporium</i> sp. com o pulgão da couve	16
3.3.2 Caracterização dos isolados de <i>Cladosporium</i> sp.	17
3.3.2.1 Caracteres morfológicos	17
3.3.2.2 Crescimento micelial “in vitro”	20
3.3.2.3 Produção de esporos.....	24
3.4 Conclusões	25
3.5 Referências Bibliográficas	26
4 Patogenicidade de <i>Cladosporium</i> sp. ao pulgão da couve, <i>Brevicoryne brassicae</i> Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae), em laboratório e casa de vegetação.....	28
RESUMO	28
ABSTRACT.....	29
4.1 Introdução	30
4.2 Material e Métodos	31
4.2.1 Patogenicidade de <i>Cladosporium</i> sp. à <i>Brevicoryne brassicae</i>	32
4.2.1.1 Em condições de laboratório	32
4.2.1.2 Em condições de casa de vegetação	34
4.3 Resultados e Discussão	35
4.3.1 Patogenicidade em condições de laboratório	35
4.3.2 Patogenicidade em condições de casa de vegetação	37
4.4 Conclusões	40
4.5 Referências Bibliográficas	40
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
5.1 Referências Bibliográficas.....	43

RESUMO

OLIVEIRA, Edson de. **Interação entomopatogênica de *Cladosporium* sp. a *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) em couve (*Brassica oleracea*) na região de Lavras - MG.** Lavras, UFLA, 1996. (Dissertação - Mestrado em Fitossanidade)*.

Desde de 1986 tem sido observado alta intensidade de afídeos (*Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758) “parasitados” pelo fungo *Cladosporium* sp. na cultura da couve (*Brassica oleracea*) na região de Lavras, MG. A partir de julho de 1993, passou-se a visitar mensalmente hortas caseiras e comerciais no intuito de se verificar a associação do *Cladosporium* com os afídeos e obter isolados do fungo para estudos de patogenicidade. Os isolados foram estudados “in vitro”, a fim de verificar variação do fungo. Até julho de 1995, as visitas a campo confirmaram a ocorrência de *Cladosporium* em todos os meses do ano, com exceção de dezembro e janeiro. Os estudos “in vitro”, onde se avaliou os caracteres culturais e reprodutivos dos isolados, revelaram variação entre os isolados e no próprio isolado quando cultivado nos meios de cultura CENOURA, M3 e BDA. O crescimento micelial, considerando 10 dias após o plantio nos meios de cultura, revelou efeito significativo entre os isolados, os meios e a interação destes fatores. Entre os isolados de *Cladosporium* , o CB-05 (*Cladosporium* de *Brevicoryne*) e CB-13, foram os que apresentaram o maior e menor diâmetro médio respectivamente. Já em relação aos meios, o CENOURA, foi o que proporcionou, em média, o maior diâmetro. Quanto a esporulação, observou-se também efeito significativo entre os isolados, os meios de cultura e interação entre estes fatores. O isolado CB-13 foi o que produziu o maior número de conídios/ml.

Orientador: Hilário Antônio de Castro. Membros da banca: César Freire Carvalho e Mário Sobral de Abreu.

Este efeito inverso, quando comparado ao parâmetro diâmetro médio da colônia, foi observado também em relação ao meio CENOURA, que proporcionou a produção de um menor número de conídios. Em contrapartida o meio M3, foi onde produziu um maior número de conídios/ml. Em relação a entomopatogenicidade do fungo *Cladosporium* sp. ao pulgão da couve *Brevicoryne brassicae*, procedeu-se inoculações sucessivas com uma suspensão de esporos a uma concentração de 10^7 conídios/ml em condições de laboratório e casa de vegetação. Avaliou-se a porcentagem de mortalidade, colonização e em algumas situações a multiplicação dos pulgões, após a inoculação. Os resultados obtidos, mostraram que o fungo *Cladosporium* sp. não foi patogênico ao pulgão *Brevicoryne brassicae*, nos ensaios envolvendo a patogenicidade em condições de casa de vegetação e mesmo em laboratório, com exceção de quando se utilizou de metodologias que proporcionavam uma saturação de umidade.

Palavras chaves: *Brevicoryne brassicae*; pulgão; entomopatogenicidade; *Cladosporium* sp.

ABSTRACT

Oliveira, Edson de. **Entomopathogenic interaction of *Cladosporium* sp. a *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) on cabbage (*Brassica oleracea*) in the region of Lavras-MG.** Lavras. UFLA, 1996 (Dissertation-Master in Plant Science).

Since 1986, high intensities of aphids (*Brevicoryne brassicae*, Linnaeus, 1758) "parasited" by the fungus *Cladosporium* sp. in the cabbage crop (*Brassica oleracea*) have been found in the region of Lavras, MG. From July, 1993, home and commercial Kitchen gardens had been begun to be visited monthly with a view to assessing the association of *Cladosporium* with aphids and obtaining isolates of the fungus for pathogenicity research, the isolates were studied "in vitro" in order to establish variation of the fungus. Until July, 1995, the field visits confirmed the occurrence of *Cladosporium* in every month of the year, saving December and January. The "in vitro" studies, where both cultural and reproductive features of the isolates were evaluated, revealed variation among the isolates and with the isolate itself when grown in the culture media CENOURA, M3 and BDA. Mycelial growth, considering 10 days after planting in the culture media, showed significant effect among the isolates, the media and the interaction of these factors. Among the *Cladosporium* isolates, CB-05 (*Cladosporium* of *Brevicoryne*) and CB-13, were the ones which showed the largest and smallest average diameter, respectively. Concerning the media, CENOURA, was the one which provided, on the average, the largest diameter. As to sporulation, a significant effect was also found among the isolates, the culture media and interaction among these factors. The isolate CB-13 was that which yielded the greatest number of conidia/ml. This inverse effect, as compared with the parameter average diameter of the colony was observed also

Orientador: Hilário Antônio de Castro. Membros da banca: César Freire Carvalho e Mário Sobral de Abreu.

in relation to the medium CENOURA which provided the production of a decreased number of conidia. On the other hand, the medium M3, was where an increased number of conidia/ml was yielded. As regards the enthomopathogenicity of the fungus *Cladosporium* sp. to the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*, successive inoculations were produced with a spore suspension to a concentration of 10^7 conidia/ml under laboratory conditions and greenhouse. Were evaluated the death percentage, colonization and in some situations, the multiplication of aphids after inoculation. The results obtained showed that the fungus *Cladosporium* sp. was not pathogenic to the aphid *Brevicoryne brassicae*, in the trials involving the pathogenicity under greenhouse conditions and even in laboratory, saving when methodologies which provided a humidity saturation were used.

Key words: *Brevicoryne brassicae*; aphid; enthomopathogenicity; *Cladosporium* sp.

1 INTRODUÇÃO

As brássicas constituem o grupo mais numeroso, em termos de espécies olerícolas ocupando um lugar proeminente na produção da região Centro-Sul (São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais). Dentre as espécies da família, encontra-se a couve (*Brassica oleracea*) que se destaca por ser de fácil cultivo e apreciada por um grande segmento da população brasileira (Filgueira , 1982).

A couve, como todos os cultivos, é acometida por muitas enfermidades e pragas. Entre as pragas, destaca-se o pulgão (*Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 - Homoptera: Aphididae), sendo conhecido mundialmente como inseto praga economicamente importante em brássicas (Hugges , 1963). Este pulgão causa danos apreciáveis à cultura, constituindo grandes colônias, que pela sucção contínua da seiva, promovem o engruvinhamento das folhas prejudicando o desenvolvimento da planta, além de ser importantes vetores de viroses.

O controle tem sido feito utilizando-se de produtos químicos e práticas culturais como arranquio de folhas, esmagamento do inseto e jato de água dirigido ao inseto.

O controle químico, generalizado e utilizado de maneira inadequada, causa sérios efeitos colaterais nos agroecossistemas, traduzindo-se em ressurgência das pragas alvo, surtos de pragas secundárias e aparecimento de populações resistentes. Como consequência social há a modificação indesejada no ambiente, resíduos tóxicos nos alimentos e intoxicação acidental do homem e dos animais domésticos (Gravena , 1992).

Como alternativa, tem-se o controle microbiano que representa um ramo do controle biológico e que trata da utilização racional dos patógenos, visando a manutenção da população praga em níveis que não causem danos econômicos (Alves , 1986). Segundo este mesmo autor, o controle biológico apresenta especificidade, ou seja, quando se emprega um patógeno específico para o controle de uma determinada praga, o principal alvo atingido é o inseto - praga, não sendo

afetado o controle natural executado por parasitos, predadores e patógenos. Além da especificidade o controle biológico apresenta inúmeras outras vantagens como, capacidade de multiplicação e dispersão no ambiente através dos indivíduos da população; além da mortalidade direta os patógenos podem afetar as gerações seguintes diminuindo a oviposição, aumentando a sensibilidade da população a outros agentes biológicos e químicos etc.; após o estabelecimento do patógeno em uma determinada área, a doença assume caráter enzoótico; pode ser empregado juntamente com inseticidas seletivos em sub-dosagens visando à ação sinérgica; os patógenos não poluem o ambiente, não são tóxicos para os homens e outros animais; dificilmente poderão se tornar resistentes aos patógenos. Os patógenos de insetos existem na natureza como uma forma natural de manter o equilíbrio das pragas. Huffaker (1975) citado por Gravena (1992), mencionou que o controle biológico natural nunca é noticiado, é quase ignorado e o invisível controle que exerce sobre os insetos nocivos é mais importante do que as introduções e criações artificiais. Desta forma, pesquisas deveriam ser direcionadas para o estudo do potencial destes entomopatógenos, visando um melhor aproveitamento. Os fungos são os mais importantes no controle microbiano de insetos, correspondendo com 80% das doenças de insetos, (Alves , 1986). No caso específico de afideos , onde os fungos são os responsáveis por epizootias, foi observado por Petch (1932) citado por Hall (1973) a presença de *Cladosporium* sp. afetando-os. Em 1986, foi constatado pela primeira vez no Campus da UFLA, o fungo *Cladosporium* sp. parasitando o pulgão *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus,1758) (Homoptera: Aphididae). Em levantamentos posteriores, tem sido constatado com frequência a presença deste fungo colonizando este pulgão.

O objetivo deste trabalho foi obter e caracterizar isolados de *Cladosporium* sp. e avaliar sua entomopatogenicidade a *B. brassicae* em condições de laboratório e de casa de vegetação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fungos Entomopatogênicos

O fato de muitos insetos estarem sujeitos a enfermidades foi relatado a muitos séculos pelos Egípcios e Chineses, em abelhas. Foi registrado por Reaumur (1726) citado por Steinhaus (1951), a descoberta do primeiro patógeno de inseto, o fungo do gênero *Cordyceps* sobre um noctuídeo. Em 1834, Agostino Bassi comprovou a natureza infecciosa de *Beauveria bassiana* ao bicho da seda *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) e sugeriu pela primeira vez o uso de “micróbios” no controle de pragas, o que o levou a receber o título de pai da patologia de insetos. Em 1879 Metchnikoff realizou o primeiro trabalho de pesquisa utilizando o fungo *Metarhizium anisopliae* para o controle de larvas do besouro *Anisoplia austriaca* Herbst (Coleoptera: Scarabacidae) (Rodrigues, 1984).

Estudos mais profundos a respeito da natureza das diferentes enfermidades dos insetos e de possíveis agentes causais, assim como muitos conceitos básicos da patologia de insetos, começaram a aparecer depois da II Guerra Mundial (Alves, 1986).

No Brasil, a patologia de insetos teve início por volta da década de 20, com referência a patógenos atacando insetos. Alves (1986) referiu a Pestana (1923) como a mais antiga citação de um fungo atacando um inseto, no caso *Penicillium anisopliae*, como agente promissor no controle de *Tomaspis* sp. (Homoptera: Cercopidae).

Cerca de 80 % das doenças dos insetos, tem como agentes etiológicos os fungos pertencentes a cerca de 90 gêneros e mais de 700 espécies, destacando-se como os mais importantes os gêneros *Metarhizium*, *Beauveria*, *Nomuraea*, *Aschersonia* e *Entomophthora* (Alves, 1986).

Como exemplo de controle bem sucedido de insetos com fungos entomopatogênicos, em culturas de importância econômica no Brasil são mencionados *Anticarsia gemmnatalis* Hubner,

1818 (Homoptera: Noctuidae) e *Pseudoplusia includens* (walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja e infectados pelos fungos *Nomuraea rileyi* e *Beauveria*; este é também capaz de causar doenças em Coleoptera, Hemiptera e Homoptera. Foi também constatado por Alves (1986) na cultura da cana-de-açúcar o fungo *Metarhizium anisopliae* que atua tanto em ninfas como em adultos da cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* Stal, 1854 (Homoptera: Cercopidae) desde que seja utilizado uma cepa previamente selecionada. Carvalho (1987) citado por Reis (1991), afirmou que para a região Nordeste do Brasil a utilização do fungo *M. anisopliae*, para o controle da cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* Stal, 1855 (Homoptera: Cercopidae), quando aplicado dentro das normas técnicas, constitui a solução mais viável sob o ponto de vista técnico, econômico e ambiental.

Gustafson (1971) citado por Hall (1973) afirmou que patógenos de afideos são limitados a certos grupos de fungos entomopatogênicos e que a falta de informações da suscetibilidade dos afideos a outros tipos de patógenos que não sejam fungos, seria quando muito, de extensão limitada na supressão total da população de afideos.

Segundo Hall (1973), os mais importantes fungos causadores de doenças em afideos pertencem ao gênero *Entomophthora*. Entre as espécies mais comuns, são reconhecidas treze que ocorrem em afideos em condições naturais, salientando-se: *E. aphidis*, *E. atrosperna*, *E. coronata*, *E. exitialis*, *E. fresenii*, *E. layeniformis*, *E. obscura*, *E. occidentalis*, *E. sphaerosperma*, *E. thaxteriana*, e *E. virulenta*. Destes, *E. coronata* e *E. aphidis* foram registrados atacando *B. brassicae*.

Lázzari (1985) constatou em um levantamento de inimigos naturais dos afideos de cereais na cultura de cevada, no Município da Lapa, Paraná, nos meses de julho e outubro de 1977, que entre os inimigos naturais encontrados, o fungo *Entomophthora* sobressaiu no que diz respeito a suprimir população de afideos, infectando 21,2 % da população de *Metopolophium dirhodum* Walk, 1848 (Homoptera: Aphididae) e 18,5 % em *Sitobion avenae* Fabr., 1775 (Homoptera: Aphididae).

Silvie e Papierok (1991) observaram epizootias causadas por *Entomophthora fresenii* em populações de *Aphis gossypii* Glover, 1876 (Homoptera: Aphididae) nos anos de 1986 e 1987 em várias localidades do Sul do Chad, principalmente nos meses de Agosto - Setembro, com taxas de infecção algumas vezes excedendo a 70 %.

Lowe (1968) avaliando a incidência de parasitismo e doença em população de *B. brassicae* na Nova Zelândia nos anos de 1961 e 1962, observou uma predominância do fungo *Entomophthora aphidis* e que a maior incidência da doença coincidia com o pico populacional da praga, correspondendo com uma infecção média de 32,9 e 30,3 % aos anos de 1961 e 1962 respectivamente, provocando uma significativa redução na população da praga.

Feng e Nowiersi (1992) objetivando estabelecer padrões de amostragem de fungos sobre afideos de cereais, em trigo, no Sudoeste do estado do Idaho (EUA) nos anos de 1988-1989, observaram epizootias fúngicas sobre estes insetos. O fungo *Pandora neoaphidis* foi o mais eficiente na redução dos afideos *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) e *Metopolophium dirhodum* Walk, 1848 (Homoptera: Aphididae) com uma infecção de 85-95 %, seguido pelos fungos *Conidiobolus* sp. com 8-9 % e *Entomophthora chronaphidis* com 7 %.

Feng, Johnson e Halbert (1991) realizaram um levantamento no estado de Montana (EUA), no ano de 1990, em culturas de pequenos cereais, no intuito de relacionar os fungos entomopatogênicos envolvidos com os afideos *Diuraphis noxia*, *Metopolophium dirhodum* e *Rhopalosiphum maidis* Fitch, 1856 (Homoptera: Aphididae). Como resultado dos 292 cadáveres de afideos analisados, verificou-se que os principais fungos com as suas respectivas porcentagens de infecção foram: *Pandora neoaphidis* 45,9 %, *Conidiobolus obscurus* 31,8 % e *Entomophthora planchoniana* 21,6 %.

Segundo Hall e Burges (1979) citados por Hall (1985), investigando a suscetibilidade de vários afideos em casa de vegetação na Inglaterra, onde estes são mais problemáticos a crisântemo, concluíram que se torna aparente que *Verticillium lecanii* possui uma capacidade notável em controlar certos afideos. Em ordem decrescente de suscetibilidade foi verificado: *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Homoptera: Aphididae), *Brachycaudus helichrysi* (*Anuraphis helichrysi* Kaltenbach, 1843 (Homoptera: Aphididae) , *Aphis gossypii* e *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Homoptera: Aphididae). Entretanto, o controle do pulgão marrom do crisântemo *Macrosiphoniella samborni* tem sido variável.

De acordo com Hall e Papierok (1982) citado por Hall (1985), aplicações do produto comercial, Vertalec, a base de isolados do fungo *Verticillium lecanii* tem sido usada com grande sucesso em cultura comercial de crisântemo na Inglaterra, para o controle de várias espécies de afideos.

De acordo com Azevedo e Messias (1985), embora cada fungo e cada inseto hospedeiro possam apresentar características próprias na instalação e desenvolvimento da micose, geralmente tudo começa com o esporo do fungo entrando em contato com a cutícula do inseto. Encontrando aí condições favoráveis, o esporo germina e emite o apressório, que força a cutícula e nela penetra. Alves (1986) salientou que na penetração estão envolvidos processos físicos, devido a pressão da hifa que rompe as áreas membranosas, e químicos, resultantes da liberação de enzimas (proteases, lipases e quitinases) que facilitam a penetração mecânica.

Na colonização, as hifas sofrem um engrossamento e se ramificam inicialmente no tegumento e posteriormente na cavidade geral do corpo e nos diversos órgãos na seguinte seqüência: corpos gordurosos, sistemas digestivos, tubos de Malpighi, sistema nervoso, músculos e traquéias. O tempo para colonização do inseto pode variar de 76 a 120 horas dependendo do patógeno, hospedeiro e das condições ambientais (Alves, 1986). Roberts (1981) observou que a morte de insetos ocorre devido a produção de toxinas, bloqueio mecânico do aparelho digestivo em função do crescimento vegetativo e destruição generalizada dos tecidos devido a secreção de enzimas.

Um dos principais métodos de disseminação de patógenos é através da própria movimentação do inseto. Os hospedeiros infectados podem distribuir os patógenos mediante seus ovos, dejeção fecal, regurgitação e, depois de mortos, seus corpos desintegrados podem depositar os patógenos no habitat do inseto (Tanada, 1968).

No manejo integrado de pragas, os entomopatógenos tem sido apontados como alternativa viável para diminuir o emprego de inseticidas. Suas características vantajosas de especificidade e de segurança para o homem e outras formas de vida e sua compatibilidade com outros entomopatógenos e inseticidas em doses reduzidas, muitas vezes com efeito sinérgico, estimulam as pesquisas para utilização como inseticida microbiano, complementando a ação de parasitas e predadores (Quintela, 1986).

Nos últimos 20 anos surgiram resultados satisfatórios na patologia e no controle microbiano de insetos. Alves (1986) informou que os fungos entomopatogênicos devem fazer parte de um conjunto de medidas atuando em harmonia com um ambiente que seja capaz de reduzir a população de insetos-praga. Segundo este mesmo autor, os entomopatógenos podem ser utilizados no manejo integrado de pragas, aproveitando ao máximo as enfermidades que

ocorrem naturalmente, ou pela introdução de entomopatógenos em áreas onde existem populações de pragas, como fatores de mortalidade.

2.2 Importância e biologia de *Brevicoryne brassicae*

B. brassicae é conhecido mundialmente como praga economicamente importante em brássicas (Hugges, 1963). Esse pulgão causa danos apreciáveis às plantas, alojando-se e constituindo grandes colônias. Pela sucção contínua da seiva produzem o engruvinhamento das folhas, prejudicando o desenvolvimento da planta, além de ser importante vetor de vírus. Segundo Carvalho (1983), os vírus do mosaico do nabo e do mosaico da couve-flor são os mais difundidos nas brássicas cultivadas no Brasil. Pesquisas mostrando as interferências sobre a produção e produtividade de as viroses nas brássicas, são quase inexistentes no Brasil. Acredita-se que em regiões temperadas da Europa, na Grã-Bretanha e em outros países, a queda de produção atribuída à infecção por esses vírus possa superar a 65 %, desde que condições favoráveis contribuintes para o agravamento da virose tenham ocorrido desde cedo no ciclo da cultura suscetível. Minks e Harrewijn (1987), relatam que, além dos danos pela sucção contínua de seiva e transmissão de vírus, os afídeos podem prejudicar as culturas, pela introdução de toxinas, levando a planta a apresentar algum distúrbio fisiológico e também através de suas excreções (honeydew) favorecendo assim, o desenvolvimento de fungos saprófitas sobre a superfície da planta, tendo como consequência uma diminuição de sua taxa fotossintética.

Moreira (1925) relatou que a reprodução desses insetos é notável e se processa nas regiões tropicais unicamente por partenogênese, enquanto que nos climas temperados e frios a reprodução ocorre tanto assexuada como sexuadamente.

A capacidade de proliferação dos afídeos é grande. Em condições normais de temperatura e umidade, no período da primavera e verão, dão uma geração a cada 15 dias. Além de poderem se reproduzir rapidamente, eles são vivíparos, isto é, em vez da oviposição já dão nascimento a formas vivas. Acrescenta ainda, que eles se multiplicam sem a presença dos machos e que as formas aladas, pelo vôo, atingem grandes distâncias se levadas pelo vento (Lepage, Giannotti e Orlando, 1947).

A princípio, os pulgões se desenvolvem dando somente formas ápteros e quando a planta começa a definhar, e portanto diminuir o alimento aparecem as formas aladas capazes de voar em busca de outras plantas (Moreira, 1925).

Paula et al. (1995) estudando aspectos biológicos do pulgão da couve, *B. brassicae*, a uma temperatura de $20 \pm 1^\circ \text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, constataram que a longevidade do mesmo foi de 33 dias, a fase ninfal teve duração média de oito dias e a adulta de 24 dias, sendo que o término da reprodução se deu no 29º dia. As fêmeas que entraram na fase reprodutiva, apresentaram fertilidade líquida de 42,6 ninfas/fêmeas. O tempo médio de geração foi de 14 dias, que representa o período médio entre o nascimento das mães e o nascimento das filhas.

2.3 Efeito do ambiente sobre o patógeno, o hospedeiro e a interação

Segundo Samson e Rombach (1985), *Verticillium lecanii* cresce e multiplica-se em temperaturas entre 15 e 25 °C, porém, a umidade deve estar presente pelo menos 10-12 horas por dia. Sob estas condições a epidemia pode ocorrer nas populações de afideos e mosca branca. Os primeiros insetos infectados foram observados 6 a 12 dias depois da pulverização. Em condições favoráveis a população de afideos e de mosca branca pode ser suprimida por vários meses seguindo uma simples aplicação do fungo.

MacLeod (1955) citado por Hagen e Van Den Bosch (1968), informaram que a precipitação tem sido considerado um importante requisito para a indução de epizootias. Uma precipitação média de 11,2 mm por dia e umidade relativa de 81,2 % foi observada durante um período em que uma epizootia de *Entomophthora aphidis* surgiu em populações de *Aphis pisum* (*Acyrtosiphon pison* Harris - Homoptera: Aphididae).

Pereira e Bueno (1995) avaliando aspectos biológicos do pulgão da Alfafa, *Acyrtosiphon kondoi* Shinji (Homoptera: Aphididae), nas temperaturas de 21 e 27 °C, verificaram um significativo efeito da temperatura no desenvolvimento do inseto. A mortalidade foi maior a 27 °C sendo o primeiro ínstar o que apresentou maior percentual de mortalidade nas duas temperaturas (40 %), tendo a maior mortalidade ocorrido na fase ninfal, (50 % a 21 °C e 65 % a 27 °C).

Segundo Oliveira (1971) os fatores climáticos exercem influência marcante sobre a população dos afideos. As precipitações limitam sua multiplicação e o período seco favorecem seu crescimento. A umidade relativa parece não afetar o aumento ou redução das populações. A

temperatura, cuja faixa ótima é de 26 a 28 °C , influi diretamente na multiplicação ou diminuição de uma população.

Deback (1968) afirmou que os fatores ambientais podem incrementar ou diminuir o grau de infecção do fungo no hospedeiro. Araújo (1936) relatou que as condições climáticas podem afetar a intensidade de ataque ao pulgão do algodoeiro, concluindo que a umidade e a sombra apresentam-se favoráveis, enquanto que o sol intenso, secas prolongadas e chuvas pesadas caracterizaram-se como agentes de redução das populações desse inseto.

Bertels (1962) verificou que os fatores climáticos e de alimentação, influenciaram a dinâmica populacional de afideos, onde as chuvas, os ventos e uma alimentação insuficiente, são os fatores condicionados à migração de pulgões. Os fatores climáticos e físicos do ambiente também podem intervir em parte na distribuição dos patógenos. O vento é de importância primordial no movimento de hospedeiros infectados e de certos patógenos, segundo observações de Tanada (1968).

Azevedo e Messias (1985) concluíram que larvas, ovos, pupas e adultos podem ser atacados, mas que para isso aconteça é necessário que certas condições sejam mantidas. A mais importante delas é a alta umidade, imprescindível para germinação dos esporos. O estado geral do inseto, a luminosidade e o número de esporos que atingem a praga são também fatores que influem no sucesso ou no fracasso da instalação e desenvolvimento da doença.

Hagen e Van Den Bosch (1968) observaram que a densidade da população de pulgão também influencia grandemente no início da epizootia por *Entomophthora*. Segundo Alves (1986), existe uma certa controvérsia em relação à importância da densidade de hospedeiros. Porém, a ocorrência de *Entomophthora* sp., em populações de afideos é muito dependente da densidade populacional da praga.

2.4 Referências Bibliográficas

- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1986. 407p.
- ARAÚJO, R. L. O pulgão do algodoeiro. *O Biológico*, São Paulo, v.2, n.1, p.29-30, jan. 1936.
- AZEVEDO, J. L.; MESSIAS, C. L. Aspectos genéticos do controle biológico de insetos por fungos. In: AZEVEDO, J. L. **Genética de microorganismos em biotecnologia e engenharia genética**. Piracicaba: ESALQ, 1985. 179p.

- BERTELS, A. Insetos-hóspedes de solanáceas. *Iheringia*, Porto Alegre, v.7, n.25, p.1-11, jan. 1962.
- CARVALHO, M. G. Viroses das Brássicas. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.9, n.98, p.74, fev.1983.
- DEBACK, P. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas**. México: Continental, 1968. 947p.
- FENG, M. G.; NOWIERSKI, R. M. Spatial patterns and sampling plans for cereal aphids (Homoptera: Aphididae) killed by entomophthoralean fungi and hymenopterous parasitoids in spring wheat. *Entomophaga*, Idaho, v.37, n.2, p.265-275, jun. 1992.
- FENG, M. G.; JOHNSON, J. B. ; HALBERT, S. E. Natural control of cereal aphids (Homoptera: Aphididae) by entomopathogenic fungi (Zygomycetes: Entomophthorales) and parasitoids (Hymenoptera: Braconidae and Encyrtidae) on irrigated spring wheat in southwestern Idaho. *Environmental Entomology*, Idaho, v.6, n.20, p.1699-1710, jun. 1991.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de olericultura**. 2.ed. SãoPaulo: Agronômica Ceres, 1982. 357p.
- GRAVENA, S. Controle biológico de insetos e ácaros no manejo de pragas. In: CRUZ, B. P. B.; FILHO, A. B.; LEITE, L. G. **II Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas**. Campinas: Fundação Cargil. 1992. p.43-59.
- HAGEN, K. S.; VAN DEN BOSCH, R. Impact of pathogens, parasites, and predators on aphids. *Annual Review of Entomology*. Palo Alto, v.13, p.325-345, fev. 1968.
- HALL, I. M. Pathogens of aphids. In: LOWE, A.D. **Perspectives in Aphid Biology**. New Zeland: editora [s. n.], 1973. p.30-39.
- HALL, R. A. Aphid control by fungi. In: HUSSEY, N. W.; SCOPES, N. **Biological pest Control- the Glasshouse Experience**. Ithaca: New York, 1985. 240p.
- HUGGES, R. D. Population dynamics of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). *Journal Animal Ecology*. Oxford, v.12,n.32, p.392-424, mar. 1963.
- LÁZZARI, S. N. Inimigos naturais dos afídeos (Homoptera: Aphididae) da cevada (*Hordeum* sp.) no Paraná. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Curitiba, v.14, n.1, p.5-15, 1985.
- LEPAGE, H. S.; GIANNOTTI, G.; ORLANDO, A. Os pulgões e seu combate. *O Biológico*, Campinas, v.13, n.11, p.200-202, nov. 1947.
- LOWE, A. D. The incidence of parasitism and disease in some populations of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). New Zeland. *Journal Agriculture Research*, Wellington, v.11, p.821-828, 1968.

- MINKS, A. K.; HARREWIJN, P. **Word crop pests: aphids, their biology, natural enemies and control**. Elsevier: Volza Amsterdam, 1987. 450p.
- MOREIRA, C. **Pulgões do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura Indústria e Comércio, 1925. 34p. (Boletim, 8).
- OLIVEIRA, A. M. Observações sobre a influência de fatores climáticos em batata. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.8, n.6, p.163-172, jan. 1971.
- PAULA, S. V.; PICANÇO, M. C.; KOGA, F. H.; GUEDES, R. N. C. Tabela de vida de fertilidade e esperança de vida de *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) em couve comum (*Brassica oleracea* var. acephala). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15, Caxambú, 1995. **Resumos...** Belo Horizonte: O Lutador, 1995. p.206
- PEREIRA, V. T.; BUENO, V. H. P. Aspectos biológicos do pulgão verde-azulado da Alfafa, *Acyrtosiphon kondoi* Shinji, em duas temperaturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15, Caxambú, 1995. **Resumos...** Belo Horizonte: O Lutador, 1995. p.107.
- QUINTELA, E. D. **Estabilidade de *Beauveria bassiana* no solo e sua patogenicidade ao *Chalcodermus aeneus* (Coleoptera: Curculionidae), praga do caupi**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1986. 107p. (Tese-Mestrado em Entomologia).
- REIS, P. R. Fungos entomopatogênicos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.15, n.167, p.84-95, 1991.
- ROBERT, D. W. Toxins of entomopathogenic fungi. In: PETER, D.C. e CHLOUBER, C S. **Proceedings aphid-plant interactions**. Oklahoma: Agricultural Research Service. 1990. p.3-28.
- RODRIGUES, D. A. Fungos entomopatogênicos. In: **Seminário sobre patologia de insetos**. Medellín: Colômbia, 1984. 157p.
- SAMSON, R. A.; ROMBACH, M. C. Biologic of the fungi *Verticillium*. In: HUSSEY, N.W.; SCOPES, N. **Biological Pest control - The glasshouse experience**. New York: editora [s.n.], 1985. 240p.
- SILVIE, P.; PAPIEROK, B. Natural enemies of insect pests on cotton in Chad: preliminary data on entomophthoralean fungi. **Coton Fibres Trop**. Paris. v.46, n.4 p.305-308, jan. 1991.
- STEINHAUS, E. A. Report on diagnoses of disead insects. **Hilgardia**. Berkeley, v.20, n.22, p.629-678, may, 1951.
- TANADA, Y. Epizootiologia de las enfermedades de insetos. In: BEBACK, P. **Control biológico de las plagas de insetos y malas hierbas**. México: Continental, 1968, p.647-678.

Associação de *Cladosporium* sp. a *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) em couve na região de Lavras-MG e caracterização dos isolados do fungo.

OLIVEIRA, E. ; CASTRO, H. A. & CARVALHO, C. F.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo, verificar a associação do fungo *Cladosporium* sp. com o afídeo *Brevicoryne brassicae*, obter isolados desse fungo e estudar a variação dos aspectos culturais e reprodutivos dos mesmos sob os meios de cultura BDA, M3 e CENOURA "in vitro". As visitas a campo confirmaram a ocorrência de *Cladosporium* em todos os meses do ano com exceção de dezembro e janeiro. Os estudos "in vitro" dos isolados, revelaram variação morfológica entre os isolados e no próprio isolado de *Cladosporium*, quando cultivados em meio de cultura diferente. O crescimento micelial, 10 dias após o plantio nos meios de cultura, revelou efeito significativo entre os isolados, os meios e a interação destes fatores. Entre os isolados de *Cladosporium*, o CB-05 (*Cladosporium* de *Brevicoryne*) CB-13, foram os que apresentaram o maior e menor diâmetro médio respectivamente. Já em relação aos meios, o CENOURA, foi o que proporcionou em média o maior diâmetro. Quanto a esporulação, observou-se também efeito significativo entre os isolados, os meios de cultura e interação entre estes fatores. O isolado CB-13 foi o que produziu o maior número de conídios/ml. Este efeito inverso, quando comparado ao parâmetro diâmetro médio da colônia, foi observado também em relação ao meio CENOURA, que proporcionou um menor número de conídios. Em contrapartida o meio M3, foi onde produziu um maior número de conídios/ml.

Palavras chaves: Couve; *Brevicoryne brassicae*; pulgão; entomopatogenicidade; *cladosporium* sp.

Association of *Cladosporium* sp. with *Brevicoryne brassicae* Linnaeus 1758 (Homoptera: Aphididae) in cabbage in the region of Lavras-MG and characterization of the fungus isolates.

ABSTRACT

The present work was intended to verify the association of the fungus *Cladosporium* sp. with the aphid *Brevicoryne brassicae*, obtain isolate of this fungus, study the variation of the cultural and reproductive feature of the above -quoted ones under the culture media BDA, M3 and “in vitro” CENOURA. The field visits confirmed the occurrence of *Cladosporium* in every month of the year, excepting December and January. The “in vitro” studies of the isolates revealed morphological variation among the isolates and in the isolate itself of *Cladosporium*, when grown in a different culture medium. The mycelial growth, 10 days after planting in the culture media showed significant effects among the isolates, the media and interaction of these factors. Among the isolates of *Cladosporium*, both CB-05 (*Cladosporium* of *Brevicoryne*) and CB-13, were the ones which showed the largest and smallest average diameter, respectively. As regards the media, CENOURA was the one which showed, on the average, the largest diameter. Concerning sporulation, a significant effect was also found among the isolates, the culture media and interaction among these factors. The isolate CB-13 was that which yielded the highest conidium number/ml. This inverse effect, as compared with the parameter average diameter of colony, was also noticed in relation to the medium CENOURA, which provided an decreased number of conidia . On the other hand, the medium M3 was where an increased conidium number/ml was yielded.

Key words: Cabbage, *Brevicoryne brassicae*; aphid; entomopathogenicity; *Cladosporium* sp.

Associação de *Cladosporium* sp. a *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) em couve na região de Lavras-MG e caracterização dos isolados do fungo.

3.1 INTRODUÇÃO

As brássicas, como todos os cultivos, são atacadas por muitas enfermidades e pragas. Entre as pragas se destaca o pulgão, *Brevicoryne brassicae* Linnaeus 1758 (Homoptera: Aphididae), sendo conhecido mundialmente como praga importante (Hugges 1963). Este pulgão, além dos danos diretos pela sucção contínua de seiva, é responsável pela transmissão de vírus que podem causar dependendo das condições ambientais prejuízos superiores a 65 % (Carvalho, 1983).

Segundo Geest, Samson e Wassink(1980) o controle químico através de inseticidas, tem sido o mais utilizado no controle de afídeos. Gravena (1992) relatou que o controle químico, utilizado de maneira inadequada, traz efeitos indesejáveis aos agroecossistemas, traduzindo-se em ressurgência das pragas alvo, surtos de pragas secundárias e aparecimento de raças resistentes. Como consequência social há a modificação indesejada no ambiente, resíduos tóxicos nos alimentos e intoxicação acidental do homem e dos animais domésticos.

Os fungos entomopatógenos existem na natureza como um meio natural de regulação das populações de insetos (Alves, 1986). O fungo *Cladosporium*, de acordo com Gallo et al. (1978), já foi observado em associação com alguns insetos-praga. Petch (1932) citado por Hall (1973) observou este mesmo fungo afetando populações de afídeos. Em 1986, foi constatado pela primeira vez no Campus da UFLA, o fungo *Cladosporium* sp. parasitando o pulgão *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus,1758) (Homoptera: Aphididae). Em levantamentos de ocorrência , tem sido constatado com frequência a presença deste fungo colonizando este pulgão.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a associação de *Cladosporium* sp. com *B. brassicae*, obter e caracterizar isolados do fungo “in vitro”.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local das observações

A cidade de Lavras, está situada no Estado de Minas Gerais a 45° de longitude Oeste, 21°14' de latitude Sul e a uma altitude de 918 m (Brasil, 1969). A região apresenta clima subtropical moderado úmido. A temperatura média anual varia, de 18 a 20° C. A precipitação média anual varia entre 1400 mm e 1700 mm; seu regime de distribuição é periódico, predominando no semestre mais quente. O inverno tem de dois a quatro meses secos com déficit hídrico pequeno entre 10 e 30 mm anuais. A evapotranspiração anual varia entre 800 e 850 mm.

3.2.2 Avaliação da associação e obtenção dos Isolados

A partir de julho de 1993, passou-se a visitar mensalmente hortas caseiras e comerciais, anotando-se em ficha o local, mês/ano e outros detalhes da associação, *Cladosporium* x *Brevicoryne brassicae*, a fim de obter subsídios sobre a ocorrência do fungo.

Todo material suspeito (*Brevicoryne brassicae* “parasitado” por *Cladosporium*), foi levado para o laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde era efetuado o diagnóstico direto e o isolamento em BDA (batata-dextrose-ágar) dos fungos presentes nos pulgões, utilizando-se de uma câmara de fluxo laminar e microscópio estereoscópico. Após o isolamento e de posse de colônias puras do fungo, procedeu-se observação em microscópio ótico para confirmação do gênero do fungo. A preservação foi em tubos inclinados com BDA inclinado e óleo mineral, recebendo cada isolado a denominação de “CB” (*Cladosporium* isolado de *Brevicoryne*).

3.2.3 Caracterização dos isolados

3.2.3.1 Caracteres culturais

Os isolados de *Cladosporium* (CB-01; CB-03; CB-04; CB-05; CB-06; CB-10; CB-11; CB-13; CB-14; CB-15; CB-16; CB-18; CB-20), foram repicados para placas de Petri de 9 cm de

diâmetro contendo BDA (batata 200 g, dextrose 20 g, ágar 20 g). Após 5 dias discos de micélio com 7 mm de diâmetro foram removidos para o centro de outras placas com os meios de cultura: BDA ; CENOURA (cenoura 20 g , dextrose 20 g, ágar 20 g, água destilada q.s.p. 1000 ml); M3 (sacarose 10 g, K₂PO₄ 2 g, Panvit 2 ml, Cloronfenicol 50 ppm, Peptona 6 g, MgSO₄ x 7 H₂O 1 g, ágar 20 g água destilada q.s.p. 1000 ml), na quantidade de 20 ml de meio por placa. As avaliações do crescimento micelial, foram feitas aos dois, cinco e dez dias após o plantio dos isolados, através do diâmetro médio da colônia. Já a caracterização morfológica dos isolados (pigmentação, estrutura, borda da colônia e textura) foi realizada aos dez dias após a implantação. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado perfazendo um total de 39 tratamentos (3 meios e 13 isolados) e 4 repetições por tratamento. As médias foram comparadas pelo teste de Tuckey ao nível de 5 % de significância.

3.2.3.2 Produção de esporos

Os isolados foram repicados para os meios de cultura BDA, M3 e CENOURA, em Placas de Petri de 9 cm de diâmetro, através de discos de micélio BDA (7 mm de diâmetro) retirados das bordas de colônias de 5 dias de idade, plantado no centro das placas. Aos onze dias após o plantio, realizou-se a contagem do número médio de conídios por tratamento, através da câmara de Neubauer (Hemocitômetro).

O delineamento utilizado neste ensaio foi o inteiramente casualizado, com um total de 39 tratamentos (3 meios e 13 isolados) e 3 repetições por tratamento. As médias foram comparadas pelo teste de Tuckey ao nível de 5 % de significância.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Associação do *Cladosporium* com o pulgão da couve

As visitas a campo, até o mês de Julho de 1995, revelaram a presença do fungo sobre o afídeo em todos os meses do ano, com exceção de dezembro e janeiro, perfazendo um total de 20 ocorrências. A não observação do *Cladosporium* em dezembro e janeiro pode ser consequência da baixa população do inseto nestes meses, como verificado por Sousa (1990), estudando o efeito de

fatores climáticos sobre *Brevicoryne brassicae*, observou que os menores picos populacionais deste pulgão estava associado a precipitação e temperatura altas e que coincide com os meses de dezembro e janeiro. Como foi também sugerido por Alves (1986), suspeita-se que a ausência do fungo nestes meses se deva a uma baixa densidade de pulgões que é um dos requisitos de relevância para que ocorra epizootias. Hugges, (1963) citado por Hagen e Van Den Bosch, (1968) também observou fato semelhante além de constatar que quando se verificava elevada população de *B.brassicae* na Austrália, verificava-se também ocorrência de doenças fúngicas nos insetos

A constatação do fungo *Cladosporium* associado a outros insetos e mesmo a afídeos já foi feita por outros autores. Farias e Santos Filho (1987) verificaram *Cladosporium* infectando a mosca branca, *Aleurothrixus aepim* Goeldi, 1886 (Homoptera: Aleyrodidae) em mandioca no Estado da Bahia, com patogenicidade de até 82 % em infecção artificial. Também constatado atacando naturalmente ácaros (*Calacarus*) em seringais das regiões de Araçatuba e São José do Rio Preto, SP (Batista Filho et al., 1991). Segundo Sudo, Melo e Galina (1995), este fungo já foi relatado em associação com o pulgão vermelho do tabaco, *Myzus nicotianae* (Homoptera: Aphididae) nos estados do Paraná e Santa Catarina no ano de 1992. Estes mesmos autores atribuem a Bitancourt et al. (1935) como os primeiros a fazerem manifestos sobre ocorrência do fungo *Cladosporium* associado com afídeos no Brasil.

3.3.2 Caracterização dos isolados de *Cladosporium*

3.3.2.1 Caracteres morfológicos

Os resultados evidenciaram que existem variações dos caracteres morfológicos intra e inter isolados quando o fungo foi cultivados nos diversos meios de cultura (Tabelas 1, 2 e 3).

Analisando o comportamento dos isolados em relação ao meio BDA, observou-se que CB-10, CB-15, CB-20 e CB-13 comportaram de forma semelhante. O mesmo ocorrendo com CB-01 e CB-06, também com CB-03 e CB-11 quanto aos caracteres morfológicos. Já os isolados CB-04, CB-05, CB-14, CB-18 e CB-06 tiveram um comportamento totalmente diferenciado.

Em relação ao meio M3, os isolados CB-01, CB-14 e CB-15, comportaram de forma semelhante, assim como CB-16 e CB-18; CB-05 e CB-11; CB-13 e CB-10; CB-06 e CB-03, quando se avaliou os caracteres morfológicos. O isolado CB-20 diferiu de todos.

Quanto ao meio CENOURA, observou-se semelhança entre os isolados CB-13, CB-15 e CB-20. O mesmo ocorrendo com os isolados CB-01, CB-04, CB-16 e CB-10 e também entre os isolados CB-11 e CB-05. Entretanto os isolados CB-14, CB-18, CB-06 e CB-03 diferiram entre si e mesmo em relação aos demais isolados quanto aos caracteres morfológicos. Pode-se também observar que os isolados que se comportaram semelhantes num determinado meio, não o fizeram nos outros meios, como verificado também por Correa (1995) e Arias (1995), dificultando assim tirar conclusões sobre a taxonomia.

TABELA 1- Caracteres morfológicos dos isolados de *Cladosporium* 10 dias após a repicagem para o meio de cultura BDA.

ISOLADOS	CARACTERES MORFOLÓGICOS EM BDA				
	Crescimento	Cor da colônia	Cor da borda da colônia	Micélio	Estrias durante o crescimento
CB-01; CB-06	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 4 regiões distintas
CB-03; CB-11	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 3 regiões distintas
CB-10;CB-15; CB-20;CB-13	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 4 regiões distintas
CB-04	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 2 regiões distintas
CB-05	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 3 regiões distintas
CB-14	Simétrico	Verde Clara	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 5 regiões distintas
CB-18	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 7 regiões distintas
CB-16	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 6 regiões distintas

TABELA 2- Caracteres morfológicos dos isolados de *Cladosporium* 10 dias após a repicagem para o meio de cultura M3.

ISOLADOS	CARACTERES MORFOLOGICOS EM M3				
	Crescimento	Cor da colônia	Cor da borda da colônia	Micélio	Estrias durante o crescimento
CB-01; CB-14 CB-15	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 4 regiões distintas
CB-16; CB-18	Simétrico	Verde clara	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 3 regiões distintas
CB-05;CB-11;	Simétrico	Verde claraa	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 5 regiões distintas
CB-13;CB-10	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 3 regiões distintas
CB-04	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 2 regiões distintas
CB-06;CB-03	Simétrico	Verde Clara	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 4 regiões distintas
CB-20	Simétrico	Verde clara	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 3 regiões distintas

Necessário se faz, portanto, lançar mão de outros métodos que possam auxiliar na identificação dos fungos, como por exemplo a caracterização isoenzimática dos isolados, através de técnica de eletroforese como sugere Stipes, Emert e Brown (1983); Alfenas, Jeng e Hulbes (1984); Moreira e Alfenas (1985) e Hall (1974).

TABELA 3-Caracteres morfológicos dos isolados de *Cladosporium* 10 dias após a repicagem para o meio de cultura CENOURA.

CARACTERES MORFOLOGICOS EM CENOURA					
ISOLADOS	Crescimento	Cor da colônia	Cor da borda da colônia	Micélio	Estrias durante o crescimento
CB-01; CB-04 CB-016;CB-10	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 6 regiões distintas
CB-14	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 4 regiões distintas
CB-18	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 3 regiões distintas
CB-11;CB-05	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 4 regiões distintas
CB-13;CB-15 CB-20	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 5 regiões distintas
CB-06	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e não cotonoso	Definido com 2 regiões distintas
CB-03	Simétrico	Verde escura	Verde clara	Compacto e cotonoso	Definido com 5 regiões distintas

3.3.2.2 Crescimento micelial "in vitro"

Aos dois dias após a implantação dos isolados nos meios BDA, M3 e CENOURA, observou-se diferença significativa entre os isolados e entre os meios de cultura em termos do diâmetro médio de crescimento da colônia. Não foi observado interação entre isolados e meios de cultura (Tabela 4).

O isolado CB-15 foi o que apresentou maior crescimento. Os isolados CB-06, CB-10 e CB-13 significativamente iguais, foram os que cresceram menos. O meio M3 proporcionou maior crescimento e BDA o menor .

TABELA 4- Diâmetro médio em cm das colônias dos isolados de *Cladosporium* sp. dois dias após a colocação nos meios de cultura.

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA			MÉDIA
	BDA	CENOURA	M3	
CB-15	0,50	0,45	0,52	0,49 A
CB-05	0,38	0,51	0,47	0,45 AB
CB-18	0,46	0,36	0,52	0,44 AB
CB-01	0,38	0,40	0,40	0,39 ABC
CB-04	0,32	0,32	0,43	0,35 ABC
CB-16	0,31	0,35	0,38	0,34 ABC
CB-20	0,27	0,33	0,42	0,34 ABC
CB-13	0,20	0,48	0,30	0,32 B C
CB-03	0,23	0,30	0,38	0,30 BC
CB-11	0,22	0,41	0,27	0,30 BC
CB-14	0,20	0,28	0,40	0,29 BC
CB-06	0,21	0,27	0,32	0,26 C
CB-10	0,20	0,25	0,35	0,26 C
MEDIA	0,29 b	0,36 ab	0,39 a	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem significativamente entre si Tuckey 5 %.

Aos cinco dias após a colocação dos isolados nos meios BDA, M3 e CENOURA, observou-se variação do comportamento observado aos dois dias (Tabela 5). Neste período foi observado interação significativa entre isolados e meio, tendo os isolados CB-15, CB-05 e CB-11 apresentado um melhor crescimento em BDA. Já em relação ao meio CENOURA, observou-se que a maioria dos isolados foram favorecidos quanto ao crescimento médio da colônia, exceto os isolados CB-20 e CB-13.

Durante a última avaliação do crescimento micelial, dez dias após a implantação dos isolados de *Cladosporium* nos meios de cultura, observou-se diferença significativa do diâmetro médio entre os isolados, entre os meios e também na interação destes fatores. O isolado, CB-05 foi o que apresentou o melhor crescimento e o CB-13 que menos cresceu.

TABELA 5- Diâmetro médio em cm das colônias dos Isolados de *Cladosporium* sp. cinco dias após a implantação nos meios de cultura

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA			MÉDIA
	BDA	CENOURA	M3	
CB-15	2,37 a A	2,12 ab A	2,00 b AB	2,16 A
CB-05	2,05 a AB	1,98 a AB	2,05 a A	2,02 AB
CB-18	1,87 ab BC	1,97 a ABC	1,61 b BC	1,81 BCDE
CB-01	1,97 a BC	1,98 a AB	1,81 a AB	1,92 BCD
CB-04	1,90 a BC	1,95 a ABC	1,82 a AB	1,89 BCD
CB-16	1,96 a BC	2,03 a AB	2,05 a A	2,01 ABC
CB-20	1,95 a BC	1,58 b C	1,68 ab ABC	1,73 DE
CB-03	1,96 a BC	1,88 a ABC	1,86 a AB	1,90 BCD
CB-11	2,08 a AB	1,90 ab ABC	1,71 b ABC	1,89 BCD
CB-14	1,65 b C	1,97 a ABC	1,73 ab ABC	1,78 DE
CB-06	1,88 a BC	1,76 a ABC	1,76 a ABC	1,80 BCDE
CB-10	1,73 a BC	1,80 a ABC	1,83 a AB	1,78 CDE
CB-13	1,77 a BC	1,71 a BC	1,41 b C	1,63 E
MÉDIA	1,93 a	1,89 a	1,79 b	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem significativamente entre si Tuckey 5 %.

O meio CENOURA, foi significativamente superior aos meios BDA e M3 (Tabela 6), para estes fungos, ao contrário dos resultados de Arias (1995) e Almeida (1981), onde o meio BDA, foi o que proporcionou maior crescimento micelial dos organismos estudados pelos autores.

TABELA 6- Diâmetro médio em cm das colônias dos isolados de *Cladosporium* sp. dez dias após a colocação nos meios de cultura

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA			MÉDIA
	BDA	CENOURA	M3	
CB-05	5,41 a A	5,83 a A	5,40 a A	5,54 A
CB-16	4,66 b B	5,33 a AB	5,25 a AB	5,08 B
CB-03	4,71 b AB	5,41 a AB	4,91 ab ABC	5,01 BC
CB-15	4,91 a AB	5,01 a BC	4,80 a ABCD	4,90 BCD
CB-10	4,46 a BC	4,93 a BC	4,60 a BCDE	4,66 BCDE
CB-04	4,63 a BC	4,71 a BCD	4,23 a CDEF	4,52 DE
CB-20	4,31 a BC	4,11 a D	4,41 a CDEF	4,27 EFG
CB-18	3,46 b D	4,75 a BCD	3,75 b FG	3,98 FG
CB-14	3,91 b CD	4,86 a BC	4,05 b EF	4,27 EFG
CB-06	4,31 ab BC	4,76 a BCD	3,86 b FG	4,31 EFG
CB-01	4,66 ab B	4,98 a BC	4,28 b CDEF	4,64 CDE
CB-13	3,45 b D	5,01 a BC	3,30 b G	3,92 FG
CB-11	2,08 a AB	1,90 a ABC	1,71 a ABC	1,89 G
MÉDIA	4,22 b	4,73 a	4,19 b	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem significativamente entre si Tuckey 5 %.

A interação entre os fatores meio de cultura e isolados de *Cladosporium*, revelou que o isolado CB-05 sempre apresentou melhor crescimento, porém houve variação naqueles que cresceram menos, como por exemplo CB-13 e CB-20 em CENOURA.

Apesar dos isolados apresentarem uma certa semelhança quanto ao crescimento micelial ao longo das observações aos 2, 5 e 10 dias, tornou-se difícil tirar alguma conclusão sobre taxonomia.

3.3.2.3 Produção de esporos

Constatou-se diferenças significativas entre os isolados, meios e mesmo em relação a interação destes fatores quanto a produção de conídios. Observou-se que os isolados CB-13 e CB-10 foram os que produziram maior número de conídios/ml, e o isolado CB-05 o que menos conídios produziu. Em relação ao meio de cultura, o maior número de conídios foi conseguido com o meio M3, enquanto que o meio CENOURA foi onde se produziu o menor número de conídios/ml (Tabela 7).

Considerando a interação, onde se levou em conta cada meio separadamente em relação aos isolados de *Cladosporium* sp., observou-se diferença significativa. Para o meio BDA, os isolados CB-13 e CB-10 produziram maior número de conídios/ml. O contrário ocorreu com o isolado CB-03 que não diferenciou significativamente em média do isolado CB-04 e CB-06. Quanto ao meio CENOURA, o isolado CB-18 foi o que produziu maior número de conídios. Entretanto, os isolados CB-11, CB-03, CB-06 e CB-05 apresentaram um menor número. Já no meio M3, o isolado CB-11 e CB-05 foram os que produziram maior e menor número de conídios/ml respectivamente.

Avaliando a interação dos isolados em relação aos meios, observou-se diferenças significativas, sendo que para a maioria dos isolados, os meios M3 e CENOURA foram os que proporcionaram maior e menor números de conídios/ml respectivamente.

De um modo geral, o meio de cultura M3, favoreceu a esporulação, provavelmente devido o mesmo ser mais pobre que os outros meios testados, sendo possível que o esgotamento de seus nutrientes tenha induzido uma maior esporulação (Barnentt, Timnick e Lilly 1950). O isolado CB-13 que apresentou o menor crescimento, produziu o maior número de conídios/ml, juntamente com o isolado CB-10. Este efeito inverso foi observado também em relação ao meio CENOURA, que proporcionou um menor número médio de conídios/ml.

Quanto a caracterização dos isolados baseado na esporulação, observou-se que existe diferença entre os isolados. No entanto é difícil fazer inferência quanto à taxonomia dos isolados, como já argumentado.

TABELA 7- Número médio de conídios/ml ($\times 10^5$) produzidos pelos isolados de *Cladosporium* sp. nos meios de cultura com onze dias de incubação.

ISOLADOS	MEIOS DE CULTURA			MÉDIA
	BDA	CENOURA	M3	
CB-13	340,17 a A	81,74 c CD	301,51 b AB	241,14 A
CB-10	329,37 a A	61,21 c DEF	278,14 b BC	222,91 A
CB-20	192,70 b B	141,69 c AB	254,35 a C	196,25 B
CB-14	177,97 b BC	116,95 c BC	250,95 a C	181,96 BC
CB-18	190,65 a B	160,01 b A	130,58 c E	160,41 CD
CB-11	95,03 b EF	14,04 c G	323,04 a A	144,03 DE
CB-15	149,10 a CD	121,00 b B	125,50 ab E	131,87 EF
CB-01	142,58 b CD	77,75 c DE	172,70 a D	130,88 EF
CB-16	128,78 b DE	34,45 c FG	189,45 a D	117,56 F
CB-04	65,31 b FG	39,78 b EFG	158,13 a DE	87,74 G
CB-03	48,73 b G	12,20 c G	195,46 a D	84,46 G
CB-06	84,39 b FG	23,4083 c G	125,72 a E	77,84 GH
CB-05	69,06 a B	13,2417 b C	86,30 a F	56,20 H
MÉDIA	154,91 b	69,01 c	199,37 a	

Médias seguidas de mesma letra maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem significativamente entre si Tuckey 5 %.

3.4 Conclusões

O fungo *Cladosporium* sp. encontrou-se associado ao pulgão *Brevicoryne brassicae* L. 1758 (Homoptera: Aphididae) ao longo de todo o ano, com exceção dos meses de dezembro e janeiro.

Os isolados de *Cladosporium* sp., obtidos da associação com a afídeo *B. brassicae*, mostraram diferentes quanto ao aspecto cultural e reprodutivo.

Considerando a caracterização dos isolados quanto ao crescimento micelial e esporulação, observou-se uma relação inversa entre o diâmetro médio da colônia e o número médio de conídios.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C.; JENG, R.; HUBBES, M. Isoenzyme and protein patterns of isolates of *Cryphonectria cubensis* differing in virulence. **Canadian Journal of Botany**, Cambridge, v.62, n.6/12, p.1756-1762, June./Dec. 1984.
- ALMEIDA, A. M. R. Efeito de luz e meios de cultura, sobre crescimento micelial, formação e tamanho de picnídios e esporulação de isolados de *Phomopsis sojae* LEH. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2, Brasília, 1981. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1982. p.216-226.
- ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: Manole, 1986. 407p.
- ARIAS, S. M. S. Aspectos da detecção em sementes e controle biológico de *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis* em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Lavras: UFLA. 1995. 76p. (Tese de Mestrado em Fitossanidade).
- BARNETT, H. L.; TIMNICK, M. B.; LILLY, V. G. Method of inoculating the production of spores by *Guinardia bidwellii* and other fungi in culture. **Phytopathology**, St. Paul, v.40, n.1 p.1, jan. 1950.
- BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. G.; FURTADO, E. L.; SILVEIRA, A. P.; ORTOLANI, A. A.; ALVES, L. F. A.; LEITÃO, A. E. F. Ocorrência natural de *Cladosporium* sp. atacando *Calacarus* sp., em cultura de seringueira, In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 4, Campinas, 1991. **Resumos...** Campinas: Instituto Biológico, 1991. p.21-22.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Escritório de Meteorologia. **Normas climatológicas** (Minas Gerais - Espírito Santo - Rio de Janeiro - Guanabara). Rio de Janeiro, 1969.99p.
- CARVALHO, M. G. Viroses das Brássicas. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.9, n.98, p.74, fev. 1983.
- CORREA, R. M. S. **Caracterização de *Phomopsis* e *Phoma* obtidos de sementes de espécies florestais**. Lavras: UFLA. 1995. 72p. (Tese Mestrado em Fitossanidade).

- FARIAS, A. R. N.; SANTOS FILHO, H. P. Ocorrência de *Cladosporium* sp. infectando a mosca branca, *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Homoptera: Aleyrodidae) em mandioca no Estado da Bahia. *Revista Brasileira de Mandioca*, Cruz das Almas, v.6, n.1, p.79-80, jun.1987.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649p.
- GEEST, L. P. S.; SAMSON, R. A.; WASSINK, H. J. M. Control of aphidis with insect pathogens. In: MINKS, A. K.; GRUYS, P. **Integrated control of insect pests in the Netherlands**. Wageningen, [s.n.], 1980. p.271-273.
- GRAVENA, S. Controle Biológico de Insetos e Ácaros no Manejo de Pragas. In: CRUZ, B. P. B.; FILHO, A. B.; LEITE, L. G. **II Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas**. Fundação Cargil: Campinas, 1992. p.230-233.
- HAGEN, K. S.; VAN DEN BOSCH, R. Impact of pathogens, parasitoids, and predators on aphids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.13, p.325-384, 1968.
- HALL, I. M. Pathogens of aphids. In: LOWE, A. D. **Perspectives in aphid biology**. New Zeland: [s.n.], 1973. p.30-39.
- HALL, R. Electrophoretic protein profiles as criteria in the taxonomy of fungus and algae. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, Torrey, v.100, n.1/6, p.253-259, Jan./June 1974.
- HUGGES, R. D. Population dynamics of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). **Journal Animal Ecology**. Oxford, v. 11, n.32, p.392-424, 1963.
- MOREIRA, A. M.; ALFENAS, A. C. Diferenciação de espécies de *Cylindrocladium* por meio da análise eletroforética de proteínas e isoenzimas em géis de poliacrilamida. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.3, p.258, jul./ago. 1985.
- SOUSA, B. M. **Efeitos de fatores climáticos e de inimigos naturais sobre *Brevicoryne brassicae* (L. 1758) (Homoptera: Aphididae) em couve *Brassica oleracea* var. *acephala* (DC.) (Cáptarales: Brassicaceae)**. Lavras: UFLA. 1990. 131p. (Tese Mestrado em Fitossanidade).
- STIPES, R. J.; EMERT, G. H.; BROWN, D. Jr. Differentiation of *Endothia gyrossa* and *Endothia parasitica* by disc electroforesis of intramycelial enzymes and proteins. **Mycology**, Bronx, v.74, n.1/6, p.138-141, jan./june. 1983.
- SUDO, S.; MELO, A. B. P.; GALINA, E. **Biological control of tobacco aphids**. Oxford: CORESTA, 1995. 6p.

Patogenicidade de *Cladosporium* sp. ao pulgão da couve, *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae), em laboratório e casa de vegetação.

OLIVEIRA, E.; CASTRO, H. A. & BUENO, V. H. P.

RESUMO

Objetivando verificar a entomopatogenicidade do fungo *Cladosporium* sp. ao pulgão *Brevicoryne brassicae*, procedeu-se inoculações sucessivas com uma suspensão de esporos à uma concentração de 10^7 conídios/ml em condições de laboratório e casa de vegetação. Avaliou-se a porcentagem de mortalidade, colonização e em alguns casos a multiplicação dos insetos após a inoculação. Os resultados obtidos permitiram concluir que o fungo *Cladosporium* sp. não foi patogênico ao pulgão *Brevicoryne brassicae*, nos ensaios envolvendo a patogenicidade em condições de casa de vegetação e mesmo em laboratório, com exceção de quando se utilizou de metodologia que proporcionava uma saturação de umidade.

Palavras chaves: *Brevicoryne brassicae*; couve; *Cladosporium* sp.; entomopatogenicidade.

Pathogenicity of *Cladosporium* sp. to the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae), in laboratory and greenhouse

ABSTRACT

Aiming to verify the enthomopathogenicity of the fungus *Cladosporium* sp. to the aphid *Brevicoryne brassicae*, successive inoculations were proceeded with a spore suspension at a concentration of 10^7 conides/ml under laboratory and greenhouse conditions. The mortality percentage, colonization and in a few cases the multiplication of insects after inoculation were evaluated. The results obtained enabled to conclude that the fungus *Cladosporium* sp. was not pathogenic to the aphid *Brevicoryne brassicae* in the trials involving pathogenicity under greenhouse conditions and even in laboratory, except when the methodology providing a humidity saturation was employed.

Key words: *Brevicoryne brassicae*; cabbage; *Cladosporium* sp.; enthomopathogenicity.

Patogenicidade de *Cladosporium* sp. ao pulgão da couve, *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae), em laboratório e casa de vegetação.

4.1 INTRODUÇÃO

A cultura da couve, *Brassica oleracea* está sujeita a uma série de enfermidades e pragas. Entre as pragas se destaca o pulgão *Brevicoryne brassicae* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae), referida mundialmente como praga importante (Hugges, 1963). Este inseto, além dos danos diretos pela sucção contínua de seiva, é responsável pela transmissão de inúmeros vírus que podem causar prejuízos superiores a 65 %, dependendo das condições ambientais (Carvalho, 1983).

O controle químico através de inseticidas, segundo Geest, Samson e Wassink (1980) e Lima e Racca Filho (1987) tem sido o mais utilizado no controle de afideos. Gravena (1992) e Fernandes (1989) entretanto, afirmaram que este tipo de controle se utilizado de maneira inadequada, traz consequências aos agroecossistemas, traduzindo-se em ressurgência de insetos-pragas, surtos de pragas secundárias e aparecimento de insetos resistentes. Como consequência social há a modificação indesejada do ambiente, com acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos e intoxicação acidental do homem e dos animais.

Como alternativa, surge o controle microbiano, onde os fungos são os microorganismos mais importantes no controle de insetos, respondendo por 80 % das doenças de insetos (Alves, 1986). De acordo com Robbs, citado por Gallo et al. (1978), o fungo *Cladosporium*, foi observado em associação com algumas pragas. Petch (1932) citado por Hall (1973) observou este mesmo fungo afetando populações de afideos. Farias e Santos Filho (1987) relataram a ocorrência, infectando a mosca branca (*Aleurothrixus aepim* Goeldi, 1886 (Homoptera: Aleyrodidae) na cultura da mandioca e Batista Filho et al. (1991), o constataram em associação com ácaros eriofídeo, do gênero *Calacarus* (identificação feita pelo Dr. Gilberto de Moraes - CNPDA/EMBRAPA) em seringais das regiões de Araçatuba e São José do Rio Preto, SP. Oliveira et al. (1995), verificaram a ocorrência de *Cladosporium* sp. associado com o pulgão *B. brassicae* no período compreendido entre Julho/93 a Julho/95, em visitas aos Campus da UFLA, constatando sua presença durante todos os meses do ano com exceção de dezembro e janeiro.

Não há, contudo, informação científica da patogenicidade de *Cladosporium* sp. ao pulgão da couve, justificando a realização do presente trabalho, que teve como objetivo principal avaliar a patogenicidade deste fungo ao pulgão da couve, *B. brassicae*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em condições de casa de vegetação e de laboratório no Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Lavras(UFLA).

Os pulgões utilizados nos testes de patogenicidade foram provenientes de plantas de Couve (*Brassica oleracea*) cultivadas em “gaiolas”, mantidas para multiplicação e manutenção dos afideos. Nas “gaiolas”, além das condições favoráveis à sua multiplicação foi evitado parasitismo ou predação.

Os isolados de *Cladosporium* sp., foram provenientes de material, mantidos em condições de laboratório, em tubos com óleo mineral, identificados como “CB” (*Cladosporium* isolado de *Brevicoryne*).

Para obtenção do inóculo, os isolados de *Cladosporium* foram cultivados em placas de Petri de 9 cm de diâmetro com BDA (batata-dextrose-ágar) por 10 dias, em câmara de incubação a $25 \pm 2^\circ$ C e fotofase de 12 horas. Foram utilizadas as suspensões de esporos na concentração de 10^7 esporos /ml, ajustadas com auxílio de um hemocitômetro.

As mudas de couve utilizadas nos estudos foram produzidas em casa de vegetação, e provenientes de sementes da cultivar “acephala”, utilizando-se bandejas de isopor de 72 células com 15 cm de profundidade. O substrato utilizado para o plantio era constituído da mistura 1: 1 de casca de arroz carbonizada e plantimax. A condução das mudas foi feita de acordo com as necessidades de cada ensaio. Para o plantio das mudas em vasos ou sacos plásticos utilizou-se de uma mistura de terra, areia e esterco (3:2:1) fumigada com brometo de metila.

4.2.1 Patogenicidade de *Cladosporium* sp. à *Brevicoryne brassicae*

4.2.1.1 Em condições de laboratório

Para avaliação da patogenicidade de *Cladosporium* a *B. brassicae* a nível de laboratório, utilizou-se de três metodologias, as quais foram denominadas “Gerbox”, “Garrafa” e “Gaiola”.

Na metodologia “Gerbox”, denominação em função da utilização de um Gerbox que nada mais é que uma caixa plástica. Folhas destacadas de couve (*Brassica oleracea*) de mesma idade e tamanho (5 cm de comprimento), tiveram seus pecíolos introduzidos em frascos de vidro de 10 cm contendo ágar-água a 0,07 % e presos por algodão envolvidos externamente com parafilme. Dez adultos de *B. brassicae* foram colocados por folha com auxílio de um pincel de ponta fina. A uniformidade das colônias de pulgões foi obtida com a retirada das fêmeas adultas das folhas destacadas após 24 horas. As ninfas, em número de dez, três dias após a retiradas das fêmeas adultas, foram inoculadas com suspensão de esporos, utilizando de um pulverizador manual. Em seguida, as folhas com as ninfas foram acondicionadas em “Gerbox” (10 x 5cm) contendo papel de filtro umedecido com água destilada esterilizada, vedadas com um filme de pvc e incubados a uma temperatura de 25 ± 2 °C, 70 % de umidade relativa e uma fotofase de 12 horas até o momento da avaliação. Neste ensaio, utilizou-se de apenas o isolado CB-11 de *Cladosporium*. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos (T1-testemunha sem água, T2- testemunha com água, T3- CB-11, T4- CB-11 + sacarose 5 %, T5- CB-11 + sacarose 30 %, T6-sacarose 5 %, T7- sacarose 30 %), repetidos 6 vezes. Avaliou-se a porcentagem de mortalidade e colonização dos pulgões pelo fungo após 5 dias da inoculação, tempo este estabelecido em função da vida útil da folha.

Na metodologia denominada “Garrafa”, recipientes de pvc transparente de refrigerante e volume de 2 litros foram cortadas transversalmente próximo ao meio, utilizando-se a parte do fundo como vaso. Após o plantio de mudas de couve nestes vasos e as plantas atingirem uma altura de 10cm, procedeu-se a infestação com 10 adultos de *B. brassicae* por planta. Três dias após a infestação e com auxílio de um pincel de ponta fina, eliminou-se os adultos e o excesso de ninfas, deixando-se apenas 20 ninfas por planta. No mesmo dia foi feita a inoculação com a suspensão de esporos, utilizando-se de um pulverizador manual. Estes vasos foram fechadas com a outra parte da “garrafa” e mantidos em sala climatizada a 25 ± 2 °C, 70 % UR e fotofase de 12

horas, e após 7 dias da inoculação, tempo este maior em relação a avaliação da patogenicidade quando se utilizou da metodologia “Gerbox” já que nessa metodologia “Garrafa” não se trata de folha destacada e sim de uma planta, fez-se a primeira avaliação, levando-se em consideração a porcentagem de mortalidade e colonização dos pulgões pelo fungo. No mesmo dia da primeira avaliação, procedeu-se uma segunda inoculação sobre os pulgões remanecentes e mesmo sobre ninfas que tinham surgido dos adultos, utilizando-se também de pulverizador manual e considerando as mesmas condições de temperatura, UR e fotofase da primeira inoculação, avaliando-se neste caso a porcentagem de multiplicação dos insetos já que não se observou efeito significativo em relação a mortalidade. Para este ensaio, utilizou-se dos isolados CB-3, CB-4 e CB-11 do fungo *Cladosporium*. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 9 tratamentos (T1-testemunha sem água, T2- testemunha com água, T3- sacarose 5 %, T4- CB-3, T5- CB-4, T6 CB-11, T7- CB-3 + sacarose 5 %, T8- CB-4 + sacarose 5 % e T9- CB-11 + sacarose 5 %) com quatro repetições.

E na metodologia “Gaiola”, mudas de couve após atingirem um tamanho de 15 cm foram plantadas em vasos de plástico de 1 litro e submetidas a uma infestação com 10 pulgões adultos *B. brassicae* por planta. Três dias após a infestação e com auxílio de um pincel de ponta fina eliminou-se os adultos e o excesso de ninfas, deixando-se apenas 20 ninfas por planta. No mesmo dia fez-se a inoculação com suspensão de esporos, utilizando-se de um pulverizador manual. As plantas foram individualizadas por “gaiola” feita com garrafa plástica de refrigerante de 2 litros, cortada nas extremidade, de tal forma a ficar um tubo. Este era então cortado no sentido longitudinal e acrescentando uma tela suficientemente fina para impedir a entrada de insetos, principalmente inimigos naturais dos afideos e também permitir um ambiente com menor umidade. Após a individualização, cada recipiente foi envolvido com um saco plástico formando uma câmara úmida por 12 horas e levadas para uma sala climatizada a 25 ± 2 °C, 70 % UR e fotofase de 12 horas. Após 7 dias da inoculação, fez-se a primeira avaliação, considerando-se a porcentagem de mortalidade e colonização dos pulgões pelo fungo. No mesmo dia da primeira avaliação, procedeu-se uma segunda inoculação sobre os pulgões remanecentes e mesmo sobre ninfas que tinham surgido dos adultos, utilizando-se também de pulverizador manual e considerando as mesmas condições de temperatura, UR e fotofase da primeira inoculação, avaliando-se a multiplicação dos insetos. Para este ensaio, utilizou-se dos mesmos isolados CB-3, CB-4 e CB-11 do fungo *Cladosporium*. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado

com 9 tratamentos (T1- testemunha sem água, T2- testemunha com água, T3- sacarose 5 %, T4- CB-3, T5- CB-4, T6- CB-11, T7- CB-3 + sacarose 5 %, T8- CB-4 + sacarose 5 % e T9- CB-11 + sacarose 5 %) com quatro repetições.

4.2.1.2 Em condições de casa de vegetação

Mudas de couve livres de insetos e do próprio pulgão *B. brassicae* foram plantadas em sacolas de plástico de 3 litros. Ao atingirem 25 cm de altura, foram infestadas artificialmente com 35 pulgões em diversas fase de desenvolvimento. Para a transferência recortou-se uma parte do tecido foliar de uma planta infestada contendo os 35 pulgões desejados fixando-o nas plantas através de tachinhas metálicas. Em seguida as plantas de couve foram acondicionadas em um canteiro de cimento de 7,40 de m comprimento, 1,2 m largura e 0,80 m de altura e envolvido por uma tela fina que impossibilitava a entrada de qualquer outro inseto. A inoculação ocorreu quatro dias após a transferência dos pulgões, quando estes já se encontravam aclimatados. As plantas foram distribuídas em quatro canteiros tendo no fundo 10 cm de maravalha de madeira umedecida para saturar o ambiente. Sobre a tela fina, logo após a inoculação, colocou-se um filme plástico que permaneceu por um período de 12 horas, para propiciar a câmara úmida. Oito dias após a inoculação, fez-se a primeira avaliação, levando-se em consideração a porcentagem de multiplicação e colonização dos pulgões pelo fungo. Neste ensaio, utilizou-se dos isolados CB-1, CB-3, CB-4, CB-5, CB-6, CB-10, CB-11, CB-13, CB-14, CB-15, CB-16, CB-17, CB-18 e CB-20 do fungo *Cladosporium*. O delineamento utilizado foi bloco inteiramente casualizado (DBC), com 16 tratamentos (T1- testemunha sem água; T2- testemunha com água; T3- CB1; T4- CB-3; T5- CB-4; T6- CB-5; T7- CB-6 ; T8- CB-10; T9- CB-11; T10- CB13; T11- CB-14; T12- CB15; T13- CB-16; T14- CB-17; T15- CB-18; T16- CB-20) e 4 blocos.

No mesmo dia da primeira avaliação e no intuito de comprovar a presença do fungo, retirou-se de forma aleatória 6 pulgões vivos das 4 plantas inoculadas de cada tratamento, que foram colocados em placas de Petri com BDA, incubando-se por 5 dias a 25 ± 2 °C, 70 % UR e fotofase de 12 horas.

Três dias após a primeira avaliação houve aumento populacional dos afídeos e aparecimento de formas aladas. Foram então descartados 11 tratamentos e mantidos a testemunha e os três tratamentos em que houve colonização pelo fungo, embora não significativamente

(T9-CB-11; T5-CB-4; T4-CB-3), cada um individualizado por canteiro. Sete dias após a primeira avaliação, fez-se uma segunda avaliação não se observando progresso com relação aumento de afideos colonizados pelo fungo. Desta forma, 13 dias após a primeira avaliação, procedeu-se uma reinoculação destes tratamentos, avaliando-se aos 8 dias após, pela porcentagem de pulgões colonizados pelo fungo. Durante o período de execução do experimento (16/09/95 - 21/10/95) os valores médios máximos e mínimos de temperatura variaram de 27.5 a 16.3 °C respectivamente e uma UR média de 72.55 %

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Patogenicidade em condições de laboratório

Os resultados obtidos quando se utilizou da metodologia “Gerbox” mostraram que os tratamentos 5 e 4 foram os únicos que apresentaram uma mortalidade de pulgões em relação aos tratamentos 1 e 2, (Tabela1), demonstrando sinergismo na patogenicidade do *Cladosporium* em solução de sacarose.

TABELA 1- Porcentagem de mortalidade e colonização de *Brevicoryne brassicae* inoculado com *Cladosporium* sp. pelo método “Gerbox”, 5 dias após a inoculação.

Tratamentos	% Mortalidade	% Colonização
T5- (CB-11 + sacarose 30 %)	89,5 A	50,3 A
T4- (CB-11 + sacarose 5 %)	75,5 AB	51,1 A
T7- (sacarose 30 %)	53,5 ABC	4,0 B
T3- (CB-11)	47,6 BC	47,6 A
T6- (sacarose 5 %)	27,6 C	4,0 B
T2- (testemunha com água)	20,0 C	4,0 B
T1- (testemunha sem água)	16,6 C	4,0 B
CV.	45,6	80,1

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si - Tuckey 5 %.
 Dados transformados em Arc sen SQRT (x + 0,5)

A diferença significativa da colonização de *B. brassicae* por *Cladosporium*, nos tratamentos em que o fungo foi inoculado, não se relaciona com a mortalidade dos insetos, pois a inoculação do fungo em água não promoveu mortalidade diferenciada dos pulgões. Ressalta-se que mesmo nos tratamentos testemunha a mortalidade foi alta, possivelmente em consequência da elevada umidade relativa do ambiente, o que segundo Humber (1990) possibilita a colonização dos pulgões por qualquer fungo, como se verificou com o *Cladosporium*. Também Nordini et al. (1993), citado por Sudo, Melo e Galina (1995), relataram que o sucesso na patogenicidade ao afídeo *Myzus nicotianae* (Homoptera: Aphididae) pelo fungo *Pandora neoaphidis*, está relacionado com umidade acima de 97 %.

TABELA 2- Porcentagem de mortalidade e Colonização de *Brevicoryne brassicae* inoculados com *Cladosporium* sp. pelo método “garrafa”, 7 dias após a inoculação e multiplicação dos pulgões após a segunda inoculação.

Tratamentos	% Mortalidade	% Colonização	% Multiplicação
T3- (sacarose 5 %)	46,1 A	4,0 B	89,5 A
T5- (CB-4)	46,1 A	19,6 A	84,5 A
T7- (CB-3 + sacarose 5 %)	43,4 A	19,6 A	83,0 A
T8- (CB-4 + sacarose 5 %)	43,4 A	28,5 A	82,6 A
T1- (testemunha sem água)	43,2 A	4,0 B	82,6 A
T4- (CB-3)	42,9 A	22,9 A	78,5 A
T2- (testemunha com água)	41,4 A	4,0 B	76,2 A
T9- (CB-11 + sacarose 5 %)	40,8 A	25,7 A	75,5 A
T6- (CB-11)	39,9 A	20,5 A	68,9 A
CV.	15,9	28,6	19,8

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si - Tuckey 5 %.

Dados transformados em Arc Sen SQRT (x + 0,50)

Os resultados da metodologia “garrafa” foram similares ao da “Gerbox”, para a colonização dos pulgões pelo fungo (Tabela 2), mas não repetiram a observada diferença de patogenicidade dos isolados em sacarose 5 %, nem mesmo do CB-11, não se verificando diferença significativa na mortalidade e na multiplicação dos insetos.

A metodologia “gaiola” gerou praticamente os mesmos resultados da metodologia “garrafa”, exceto quanto ao parâmetro colonização (Tabela 3), que neste caso não apresentou diferença significativa, possivelmente em função de menor umidade da câmara-úmida, já que a tela colocada eliminou a condição de câmara-úmida após a retirada do invólucro plástico.

Ressalta-se que nas metodologias “gaiola”, certamente com menor umidade, e “garrafa”, possivelmente também com menos umidade pelo maior espaço na câmara-úmida formada pela garrafa, a mortalidade dos insetos foi menor, e, também a colonização, estando de acordo com as informações de Humber (1990).

TABELA 3 - Porcentagem de mortalidade e Colonização de *Brevicoryne brassicae* inoculados com *Cladosporium* sp. pelo método “gaiola”, 7 dias após a inoculação e multiplicação dos pulgões após a segunda inoculação.

Tratamentos	% Mortalidade	% Colonização	% Multiplicação
T9- (CB-11 + sacarose 5 %)	39,4 A	5,9 A	89,5 A
T6- (CB-11)	39,1 A	4,0 A	83,0 A
T4- (CB-3)	37,1 A	4,0 A	89,5 A
T3- (sacarose 5 %)	33,9 A	4,0 A	89,5 A
T8- (CB-4 + sacarose 5 %)	33,9 A	10,8 A	81,8 A
T2- (testemunha com água)	30,1 A	4,0 A	89,5 A
T5- (CB-4)	28,8 A	4,0 A	85,3 A
T1- (testemunha sem água)	27,6 A	4,0 A	89,5 A
T7- (CB-3 + sacarose 5 %)	25,9 A	10,6 A	79,9 A
CV.	35,5	80,2	13,4

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si - Tuckey 5 %.

Dados transformados em Arc Sen SQRT (x + 0,50)

4.3.2 Patogenicidade em condições de casa de vegetação

O número de pulgões vivos presentes nas plantas de couve, com base na primeira avaliação, não diferiu significativamente entre os tratamentos, acontecendo o mesmo quanto ao efeito da colonização do afideo pelo fungo *Cladosporium* (Tabela 4).

TABELA 4 - Variação no aumento populacional inicial dos pulgões colocados nas plantas de couve, em casa de vegetação, proporção de pulgões com manifestação fúngica oito dias após a inoculação e reisolamento dos isolados de *Cladosporium* sp. inoculados.

Tratamentos	% Variação	% Colonização	% Reisolamento
T1- (testemunha com água)	25,5 A	0,7 A	0,0
T2- (testemunha sem água)	23,8 A	0,7 A	0,0
T3- (CB-1)	23,4 A	0,7 A	100,0
T4 (CB-3)	21,8 A	2,2 A	83,3
T5- (CB-4)	27,7 A	2,0 A	83,3
T6- (CB-5)	26,9 A	1,1 A	66,6
T7- (CB-6)	22,8 A	0,7 A	83,3
T8- (CB-10)	28,4 A	0,7 A	83,3
T9- (CB-11)	22,4 A	1,5 A	88,3
T10- (CB-13)	28,1 A	0,7 A	100,0
T11- (CB-14)	28,1 A	0,7 A	100,0
T12- (CB-15)	20,7 A	0,7 A	100,0
T13- (CB-16)	34,6 A	0,9 A	100,0
T14- (CB-17)	26,3 A	1,1 A	100,0
T15- (CB-18)	20,9 A	0,7 A	66,6
T16- (CB-20)	23,6 A	0,7 A	100,0
CV.	24,6	82,07	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si - Tuckey 5 %.
 Dados transformados em $\text{SQRT}(X + ,50)$

Não houve morte dos insetos oito dias após a inoculação, tendo apenas alguns pulgões manifestados associação do fungo inoculado, com similaridade entre os tratamentos (Tabela 4). Também não houve variação significativa na população de pulgões nos tratamentos avaliados. O reisolamento do fungo nos pulgões plaqueados foi diferenciado nos tratamentos, tendo sido de zero nos tratamentos testemunhas, comprovando a ausência de contaminação.

Os resultados da colonização dos pulgões após a segunda inoculação são praticamente os mesmos observados na primeira avaliação, apenas com um leve aumento da colonização, igualmente para os três isolados (Tabela 5).

Apesar dos resultados obtidos, Sudo, Melo e Galina (1995) obtiveram resultados surpreendentes, com a espécie *Cladosporium cladosporioides*, em relação ao afídeo *Myzus nicotianae* em condições de cada de vegetação e campo. Também De Anami e Eklund (1996), em cada de vegetação, que utilizaram o produto biológico "AFIBIOL", a base de *Cladosporium* sp., obtiveram um controle significativo da população de afídeos *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Homoptera: Aphididae). É importante salientar que os referidos autores não se preocuparam em controlar o efeito dos inimigos naturais e outros insetos que comprometessem os resultados. Salienta-se que, paralelamente ao ensaio de patogenicidade do presente trabalho em casa de vegetação, observou-se grande mortalidade de afídeos onde não só o fungo *Cladosporium* estava ocorrendo, mas também outros insetos inimigos naturais dos pulgões (parasitóides, predadores) e formigas, colocando assim em dúvida a causa da sua mortalidade. Quanto as condições de umidade e temperatura da casa de vegetação, pode-se afirmar que elas foram favoráveis à patogenicidade, já que se observou colonização dos pulgões pelo fungo *Cladosporium*.

TABELA 5 - Associação de *Cladosporium* com *Brevicoryne brassicae*, 8 dias após a segunda inoculação.

Tratamentos	% Colonização
T4- (CB-3)	2,4 A
T9- (CB-11)	2,3 A
T5- (CB-4)	2,0 A
T1- (testemunha)	0,7 A
CV.	55,6

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si - Tuckey 5 %.
Dados transformados em $\text{SQRT}(X + ,50)$

As baixas colonizações observadas em condições de C.V., respaldam a colocação de que, em condições de umidade abaixo da saturação diminui a colonização e, em condições de saturação, os fungos colonizam os pulgões (Humber, 1990).

A presença constante do fungo associado aos pulgões em Lavras-MG, aliada às informações de ataque de *Cladosporium* a *Calacarus* (Bastista Filho et al., 1991) e de infecção à mosca branca (Farias e Santos filho, 1987), entusiasmou a desenvolver o presente estudo. Contudo, nas condições trabalhadas, reconhece-se a sua não patogenicidade ao pulgão da couve.

4.4 Conclusões

Nas condições em que se realizou o presente estudo, pode-se concluir que:

-Só houve patogenicidade de *Cladosporium* sp. a *Brevicoryne brassicae* com inoculação do fungo em solução de sacarose e com incubação constante em ambiente saturado de umidade;

-Nenhuma outra condição revelou patogenicidade do fungo aos insetos, tanto em mortalidade quanto em proliferação dos insetos;

-Pode haver algum sinergismo entre *Cladosporium* e outros inimigos naturais de *B. brassicae* em couve;

-A presença de honeydew, principalmente em grande quantidade, como se verifica quando se tem elevadas populações dos afídeos, pode favorecer o fungo;

-A interação *Cladosporium* sp. - *B. brassicae* justifica mais estudos.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1986. 407p.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. G.; FURTADO, E. L.; SILVEIRA, A. P.; ORTOLANI, A. A.; ALVES, L. F. A.; LEITÃO, A. E. F. Ocorrência natural de *Cladosporium* sp. atacando *Calacarus* sp., em cultura de seringueira. REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, n.4, Campinas, 1991. **Resumos ...** Campinas: Instituto Biológico, 1991. 4-5p.

CARVALHO, M. G. Viroses das Brássicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.98, p.74, fev. 1983.

- DE ANAMI, M. A. S.; EKLUND, C. R. B. Controle do pulgão *Myzus persicae* em pimentão *Capsicum annum* sob condições de casa de vegetação com AFIBIOL. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5, Foz do Iguaçu, 1996. Anais... Paraná: PJ Comunicação & Eventos, 1996 97p.
- FARIAS, A. R. N.; SANTOS FILHO, H. P. Ocorrência de *Cladosporium* sp. infectando a mosca branca, *Aleurothrixus aepim* (Goeldi,1886) (Homoptera: Aleyrodidae) em mandioca no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v.6,n.1,p.79-80, jun. 1987.
- FERNANDES, O. A. Manejo integrado de pragas de hortaliças. In: ENCONTRO DE HORTALIÇAS NA REGIÃO CENTRO - OESTE DO BRASIL, 2, Goiânia 1989. **Palestras e Resumos ...** Goiânia: [s. n.],1989, p.20-36.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. **Manual de entomologia agrícola**. 2 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649 p.
- GEEST, L. P. S.; SAMSON, R. A.; WASSINK, H. J. M. Control of aphidis with insect pathogens. In: MINKS, A. K.; GRUYS, P. **Integrated Control of Insect Pests in the Netherlands**. Wageningen: [s. n.], 1980. p.271-273.
- GRAVENA, S. Controle biológico de insetos e ácaros no manejo de pragas. In: CRUZ, B.P.B.; FILHO, A. B.; LEITE, L. G. **II Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas**. Campinas: Fundação Cargil. 1992. p. 43-59.
- HALL, I. M. Pathogens of aphids. In: LOWE, A. D. **Perspectives in Aphid Biology**. New Zeland: [s. n.], 1973. p.30-39.
- HUGGES, R. D. Population dynamics of the cabloye aphid *Brevicoryne brassicae* (L.). **Journal Animal Ecology**. Oxford, v.11, n.32, p.392-424, mar.1963.
- HUMBER, R. A. Fungal pathogens of aphids. In: PETER, D. C. ; CHLOUBER, C. S. **Biological control in a tritrophic system approach**. Okhahoma: Agricultura Research Service. 1990, p. 45 -56.
- LIMA, A. F.; RACCA FILHO, F. **Dicionário de Pragas e Praguicidas: aspectos legais, toxicologia e recomendações técnicas**. Rio de Janeiro: Edição dos Autores, 1987. 126p.
- OLIVEIRA, E.; CASTRO, H. A.; BUENO, V. H. P.; CARVALHO, C. F. FERNANDES, L. G. Ocorrência *Cladosporium* sp associado à *Brevicoryne brassicae* L. 1758 (Homoptera: Aphididae) em brássicas na região de Lavras - MG. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, n.20, p.329. 1995. (Suplemento).
- SUDO, S., MELO, A. B. P., GALINA, E. **Biological control of tobacco aphids**. Oxford: CORESTA 1995. 6p.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As visitas a partir de julho de 1993, à hortas caseiras e comerciais, confirmaram a ocorrência do fungo *Cladosporium* associado ao pulgão *Brevicoryne brassicae*, em todos os meses do ano, com exceção de dezembro e janeiro. Este fungo foi relatado também em associação com outras espécies, como exemplo, o pulgão vermelho do tabaco, *Myzus nicotianae* nos estados do Paraná e Santa Catarina no ano de 1992 (Sudo, Melo e Galina, 1995). Estes mesmos autores atribuem a Bitancourt et al. (1935), como os primeiros a fazer manifesto sobre ocorrência do fungo *Cladosporium* associado com afideos no Brasil.

Considerando os resultados de avaliação da entomopatogenicidade do fungo *Cladosporium* sp. ao pulgão *Brevicoryne brassicae*, sob condição de laboratório, só se observou mortalidade significativa na metodologia GERBOX. Contudo, Canto e Santos Filho (1996) verificaram infecção desse mesmo fungo (*Cladosporium*), com taxas de mortalidade da ordem de 89 % para mosca branca e 87 % em relação a cochonilha. Nenhuma outra metodologia utilizada para confirmação da patogenicidade do fungo ao pulgão da couve, em condições de laboratório e de Casa de Vegetação confirmou esta condição, muito embora naqueles casos onde se teve saturação de água no ambiente, a colonização dos insetos pelo fungo tenha sido significativa, demonstrando que colonização não significa patogenicidade. Humber (1990) realça que em condições de saturação, qualquer fungo pode se associar aos pulgões e Nordini et al. (1993), relatam que o sucesso na patogenicidade ao afideo *Mizus nicotianae* pelo fungo *Pandora neoaphidis* sob condições de laboratório, está relacionado com umidade acima de 97 %.

A não patogenicidade do fungo *Cladosporium* sp ao pulgão *Brevicoryne brassicae*, nas condições do presente trabalho, pode ser atribuída a fatores interativos como condições ambientais favoráveis, presença de parasitóides, predadores e outros inimigos naturais no sistema, conforme verificado em cultivo em casa de vegetação onde houve a eficiência do fungo *Cladosporium* ao pulgão verde do pimentão *Myzus persicae* (De Anami e Eklund, 1996). Uma outra suposição da não patogenicidade é a possibilidade dos isolados de *Cladosporium* não serem da espécie

Cladosporium cladosporioides, que no trabalho de Sudo, Melo e Galina (1995), possibilitou o controle do pulgão vermelho do tabaco *Myzus nicotianae*, em condições de casa de vegetação, com apenas uma única aplicação.

Apesar de não ter sido comprovado a patogenicidade do fungo ao pulgão, nas condições trabalhadas, a sua constante associação verificada em condição de campo em Lavras-MG, sugere continuidade destes trabalhos iniciais, pois no mínimo o fungo deve fazer parte de um complexo antagonista aos afídeos. É inconcebível o fungo estar colonizando os pulgões por estar! Além disto, já houve comprovação de patogenicidade de *Cladosporium* sp. a afídeos, (Farias e Santos Filho, 1987). Consequentemente, é de se suspeitar de falha de metodologia e/ou de estratégia. Os presentes estudos demonstraram variação entre os isolados “CB” estudados, tanto cultural quanto reprodutivamente. A literatura apresenta patogenicidade de *Cladosporium cladosporioides* a insetos. Será que esta espécie de fungo não é patogênica ao *Brevicoryne brassicae*? A literatura Fitopatológica mostra vários exemplos em que os isolamentos com melhor crescimento em meio artificial, são menos patogênicos. Os isolamentos de “CB”, obtidos com facilidade, não podem ser os mais saprofíticos? E o papel do Honeydew? Não é de um atrativo para os antagonistas dos pulgões, sendo o *Cladosporium* um componente destes antagonistas? Ressalta-se que, apesar da saturação da umidade, a suspensão de esporos de *Cladosporium* em solução de sacarose, resultou em entomopatogenicidade.

É, portanto, de se ver que o presente trabalho não é conclusivo. Muito pelo contrário, abre várias portas de investigações.

5.1-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CANTO, A.M.M.E. ; SANTOS FILHO, H.P. Impacto do agente biocontrolador *Cladosporium* sp. em organismos não-alvo na cultura da mandioca. In: Simpósio de Controle Biológico, 5, Foz do Iguaçu, 1996. Anais...Paraná:Eventos, 1996, p.16.
- DE ANAMI, M. A. S.; EKLUND, C. R. B. Controle do pulgão *Myzus persicae* em pimentão *Capsicum annum* sob condições de casa de vegetação com AFIBIOL. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5, Foz do Iguaçu, 1996. Anais... Paraná: PJ Comunicação & Eventos, 1996 97p.

- FARIAS, A.R.N.; SANTOS FILHO, H.P. Ocorrência de *Cladosporium* sp. infectando a mosca branca, *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Homoptera: Aleyrodidae) em mandioca no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v.6, n.1, p.79-80, jun. 1987
- HUMBER, R. A. Fungal pathogens of aphids. In: PETER, D. C.; CHLOUBER, C.S. **Biological control in a tritrophic system approach**. Okhahoma: Agricultural Research Service. 1990, p. 45-56.
- NORDINI, G.L. et al. Biology of the fungal entomopathogen, *Pandora neoaphidis*, infectious to the red morph of the tobacco aphid, *Myzus nicotianae*. Paper presented at the 35 th tobacco Workers Conference, jan. 1993.
- SUDO, S.; MELO, A. B. P.; GALINA, E. **Biological control of tabaco aphids**. Oxford: CORESTA, 1995. 6p.