

## Compatibilidade *in vitro* entre *Beauveria bassiana* e o óleo de mamona

Flávio Neves Celestino<sup>1</sup>, Dirceu Pratissoli<sup>2</sup>, Hugo José Gonçalves dos Santos Junior<sup>2</sup>, Adilson Vidal Costa<sup>2</sup>, Luziani Rezende Bestete<sup>3</sup>, Raul da Cunha Borges Filho<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal Sudeste de Minas Gerais, Campus Manhuaçu, Manhuaçu, MG, Brasil. E-mail: fncelestino@yahoo.com.br (ORCID: 0000-0002-8288-7412)

<sup>2</sup> Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alegre, ES, Brasil. E-mail: dirceu.pratissoli@gmail.com (ORCID: 0000-0003-4485-1491); hugo.goncalvesjr@gmail.com (ORCID: 0000-0002-6780-6610); avcosta@hotmail.com (ORCID: 0000-0002-7968-8586)

<sup>3</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Recife, PE, Brasil. E-mail: luziani004@hotmail.com (ORCID: 0000-0002-9676-3939)

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Pelotas, RS, Brasil. E-mail: raulborgesfilho@yahoo.com.br (ORCID: 0000-0003-3923-5328)

**RESUMO:** *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e o óleo de mamona são ferramentas promissoras no manejo integrado de pragas. Assim sendo, este trabalho determinou concentrações de óleo de mamona que sejam biologicamente compatível com isolados de *B. bassiana*. No teste de compatibilidade, foram utilizados cinco isolados de *B. bassiana* e sete concentrações do óleo de mamona. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial 5 x 7 (isolados de *B. bassiana* x concentração de óleo de mamona), totalizando 35 tratamentos. Os parâmetros biológicos de germinação, crescimento vegetativo e esporulação foram avaliados e usados para calcular o índice biológico (IB). O isolado CCA-UFES/Bb-4 apresentou a germinação de conídios e esporulação sempre igual ou superior aos demais isolados, em todas as concentrações de óleo de mamona. O isolado CCA-UFES/Bb-11 apresentou crescimento vegetativo igual ou maior que os demais isolados, exceto à 0,5% (v/v) de óleo de mamona. O grau de fungitoxicidade do óleo de mamona é variável em função do isolado de *B. bassiana*.

**Palavras-chave:** controle biológico; fungos entomopatogênicos; inseticidas botânicos

## *In vitro* compatibility between *Beauveria bassiana* and castor oil

**ABSTRACT:** *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin and castor oil are promising tools for integrated pest management. This work determined concentrations of castor oil that are biologically compatible with *B. bassiana* isolates. In the compatibility test, five isolates of *B. bassiana* and seven concentrations of castor oil were used. The experimental design was completely randomized in the factorial scheme 5 x 7 (isolates of *B. bassiana* x concentration of castor oil), totaling 35 treatments. The biological parameters germination, vegetative growth and sporulation were evaluated and used to calculate the biological index (BI). The CCA-UFES/Bb-4 isolate showed the conidia germination and sporulation always equal to or greater than the other isolates, in all concentrations of castor oil. The CCA-UFES/Bb-11 isolate showed vegetative growth equal to or greater than the other isolates, except at 0.5% (v/v) of castor oil. The degree of fungitoxicity of castor oil varies according to *B. bassiana* isolate.

**Key words:** biological control; entomopathogenic fungus; botanical insecticides

## Introdução

Desde o início do século XXI, com o aumento da preocupação em relação à sustentabilidade agrícola, intensificaram-se significativamente as buscas por plantas cujos derivados apresentem alguma atividade inseticida (Isman & Grieneisen, 2014). Entre essas plantas, a mamona (*Ricinus communis* L., Euphorbiaceae) tem demonstrado toxicidade para muitas pragas, seja pelo uso de óleo e/ou extratos ou compostos isolados como ricinina, ácido ricinoléico e as albuminas 2S, Ric c 1 e Ric c 3 (Ramos-López et al., 2010; Arnosti et al., 2011; Nascimento et al., 2011; Tounou et al., 2011). Para *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) o óleo de mamona a 3% (v/v) provocou uma mortalidade de 44,0% das lagartas (Bestete et al., 2011). Para *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) o óleo de mamona a 2% (v/v) causou uma mortalidade de 44,4% das lagartas (Rondelli et al., 2011). Já para a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), o óleo de mamona (3% v/v) causou 57,3% de mortalidade (Celestino et al., 2015).

Além do uso de inseticidas botânicos, o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin destaca-se como um dos mais importantes agentes de controle biológico de pragas (Vega et al., 2009). Alguns fatores que justificam o interesse neste fungo incluem sua produção massal “in vitro”, sua ampla variabilidade genética, possibilidade de utilização em cultivos orgânicos, bem como, redução no uso de inseticidas químicos sintéticos (Dalvi et al., 2011; Islam & Omar, 2012). Cabe ainda, ressaltar que *B. bassiana* é um biopesticida registrado para uma ampla gama de hospedeiros, aproximadamente, 700 espécies de inseto-pragas (Swathi et al., 2018).

Apesar dos fungos entomopatogênicos permitirem a associação com outros métodos de manejo, é necessário investigar o grau de compatibilidade entre eles, uma vez que, a interação pode resultar em efeitos deletérios, nulos ou mesmo sinérgicos sobre agentes de controle biológico (Islam & Omar, 2012). O efeito deletério pode ser por inibição da germinação, crescimento vegetativo, esporulação, redução da virulência e mutação do fungo entomopatogênico (Rossi-Zalaf et al., 2008). Já o efeito nulo é quando não há alteração dos parâmetros citados anteriormente. Entretanto, o sinergismo é observado quando a interação entre os métodos promove um incremento no controle da praga, em função da maior eficiência do fungo entomopatogênico, ou de ambos os métodos empregados, como por exemplo, melhor adesão dos conídios a cutícula do inseto, quando se utiliza óleos, ou alteração da imunidade do inseto o que facilitaria a penetração do fungo entomopatogênico (Alves, 1998; Rossi-Zalaf et al., 2008).

Isolados de *B. bassiana* apresentaram diferentes respostas a compatibilidade ao óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss), indicando que a variabilidade genética deste fungo é um fator que pode contribuir para o sucesso da interação com inseticidas botânicos (Mohan et al., 2007;

Islam et al., 2010). Desta forma, a compatibilidade biológica de *B. bassiana* e o óleo de mamona pode facilitar o uso desses no controle de pragas. Além disso, ajudará a preservar este entomopatógeno e, conseqüentemente, manter as condições de equilíbrio dentro dos sistemas agrícolas. Este fato justifica os estudos nessa área, permitindo que os agricultores possam selecionar os compostos apropriados e definir as aplicações microbianas compatíveis com outros métodos de controle, apresentando-se como uma proposta mais sustentável para o manejo integrado de pragas (Islam et al., 2011; Islam & Omar, 2012). Portanto, este trabalho determinou as concentrações de óleo de mamona que são biologicamente compatível com isolados de *B. bassiana*, a fim de utilizar esses métodos no manejo integrado de pragas.

## Material e Métodos

Baseado em pesquisa realizada anteriormente no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI), do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), como teste de patogenicidade e virulência de *B. bassiana* realizado por Dalvi et al. (2011) e atividade inseticida do óleo de mamona sobre broca-do-café por Celestino et al. (2015, 2016), foi conduzido este estudo.

Sementes da variedade IAC 80 da mamona foram coletadas no município de Muqui (20° 57' 06" S, 41° 20' 45" W), Espírito Santo, Brasil. As sementes coletadas foram levadas para o setor de entomologia do NUDEMAFI. As sementes foram identificadas, lavadas com água corrente e secas em estufa a 70 °C por 24 h. O óleo foi extraído utilizando-se uma prensa hidráulica manual (método de prensagem a frio) onde, a partir de 1 kg de semente de mamona, foram obtidos 480 g de óleo viscoso, com coloração amarelo-palha. O óleo foi armazenado em um recipiente coberto com papel alumínio e hermeticamente fechado.

### Aquisição, produção e revigoramento de isolados de *B. bassiana*

Isolados de *B. bassiana* (CCA-UFES/Bb-4, CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15 e CCA-UFES/Bb-18) foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do CCAE-UFES. Tais isolados foram coletados em broca-de-café e foram testados e selecionados quanto à patogenicidade e virulência sobre a broca-do-café (Dalvi et al., 2011). O isolado ESALQ-447 foi obtido do Banco de Entomopatógenos da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Este isolado foi utilizado por ser considerado um isolado padrão (isolado comercial) (Alves, 1998). A produção e revigoramento do fungo entomopatogênico foi realizada conforme descrito por Alves (1998).

### Bioensaio

Os experimentos foram realizados no setor de Entomologia do NUDEMAFI, em Alegre, Espírito Santo, Brasil. Os experimentos foram conduzidos em câmaras

climatizadas a  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR e fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro.

A avaliação da germinação foi realizada segundo Silva & Neves (2005). As soluções de óleo de mamona foram preparadas nas seguintes concentrações: 0,0 (Controle); 0,55; 1,11; 1,67; 2,22; 2,78 e 3,33% (v/v). Em todas as soluções foi adicionado Tween® 80 PS (Dinâmica Química Contemporânea LTDA, Diadema, SP, Brasil) à 0,05% (v/v), usando água como solvente. A partir desta solução inicial, 9 mL foram removidos e adicionados a 1 mL de uma suspensão fúngica ( $1 \times 10^7$  conídios/mL) dos isolados de *B. bassiana* e mantidos em repouso por 1 h. Após esse período, foram obtidas suspensões contendo óleo de mamona nas concentrações de 0,0 (Controle); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v) e *B. bassiana* à  $1 \times 10^6$  conídios/mL. Posteriormente, 0,1 mL de cada emulsão foi plaqueada com uma alça de Drigalski em meio de cultura (BDA). Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas por 28 h em câmara climatizada nas condições descritas anteriormente. Para a contagem dos conídios as placas foram divididas em quatro quadrantes. Foram contados 100 conídios por quadrante entre aqueles que haviam germinado ou não, usando um microscópio óptico com aumento de 400x. Três placas de Petri (9 cm de diâmetro) foram utilizadas para cada tratamento.

As avaliações de crescimento vegetativo e da esporulação foram realizadas de acordo com Alves (1998). As concentrações de óleo de mamona utilizadas foram 0,0 (Controle); 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0% (v/v). Estas foram adicionadas a 100 mL de meio de cultura (BDA) antes de se solidificarem, a uma temperatura de aproximadamente 40 °C, e colocados em placas de Petri (9 cm de diâmetro). Depois que o meio de cultura se solidificou, o fungo foi inoculado em três pontos equidistantes na placa de Petri usando uma alça de platina. As placas de Petri foram incubadas em câmara climatizadas nas mesmas condições do experimento anterior. Após dez dias, seis colônias foram selecionadas aleatoriamente por tratamento. As colônias foram medidas em duas direções transversais com uma régua para determinar o diâmetro médio da colônia. As colônias foram cortadas com um bisturi para quantificação dos conídios. Cada colônia foi colocada em um tubo de falcão com 10 mL de água destilada esterelizada + Tween® 80 PS a 0,05% (v/v) e agitada durante, aproximadamente, 2 minutos, em um agitador magnético (Vortex®), até que os conídios fossem removidos da superfície do meio de cultura. Após as diluições necessárias, os conídios foram quantificados na câmara de Neubauer®.

### Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial 5 x 7 (isolados de *B. bassiana* x concentração de óleo de mamona). A partir das interações foram obtidos 35 tratamentos. Os dados de germinação foram transformados em arco seno de  $\sqrt{x/100}$  e crescimento vegetativo e esporulação em  $\sqrt{x + 0,5}$ . Estes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias

comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para verificar o efeito das concentrações de óleo de mamona sobre a germinação, crescimento vegetativo e esporulação de *B. bassiana* os dados foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade.

### Índice biológico

O Índice Biológico (BI), desenvolvido por Rossi-Zalaf et al. (2008), foi utilizado para classificar a compatibilidade entre isolados de *B. bassiana* e as concentrações de óleo de mamona. Os valores médios percentuais de esporulação e crescimento vegetativo das colônias fúngicas foram calculados em relação ao padrão. A seguinte fórmula foi aplicada a cada concentração de óleo de mamona:

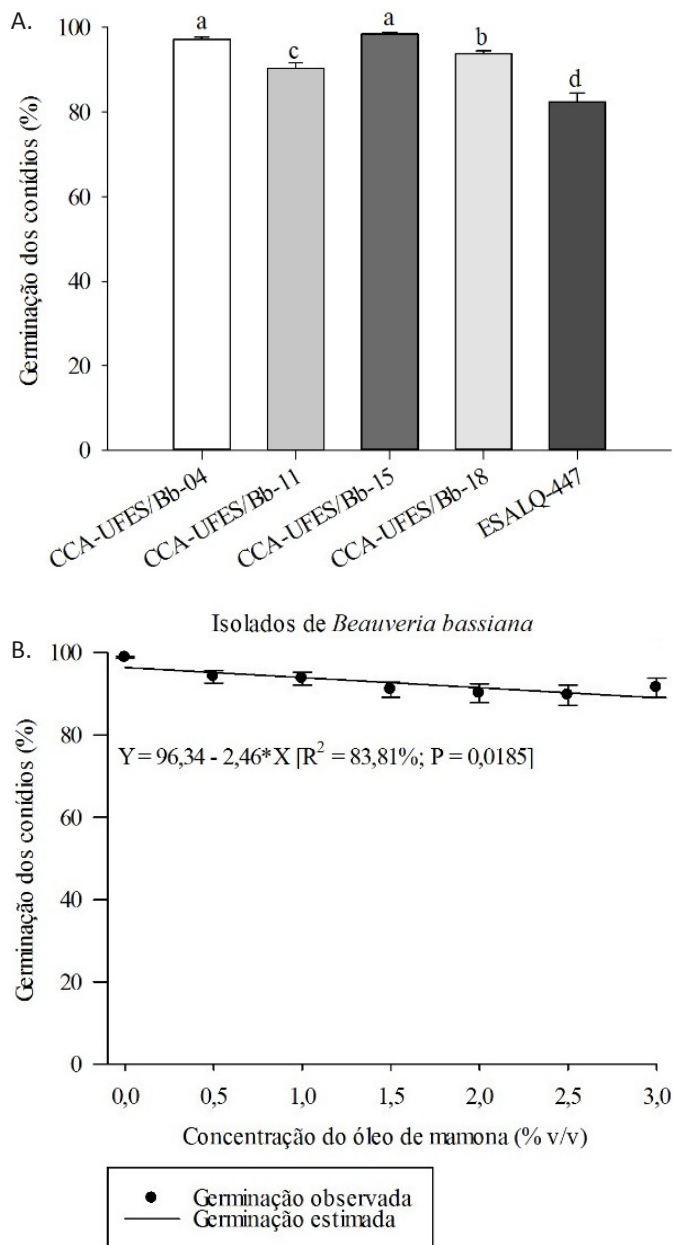
$$BI = \frac{[47(CV) + 43(ESP) + 10(GERM)]}{100} \quad (1)$$

onde: BI - Índice biológico; CV - Percentual de crescimento vegetativo em relação ao padrão; ESP - Percentual de colônias em relação ao padrão; GER - Percentagem de germinação de conídios. Os valores de BI para classificação do produto são: 0-41, tóxico; 42-66, moderadamente tóxico; e > 66, compatível (Alves, 1998).

## Resultados e Discussão

A germinação dos conídios de *B. bassiana*, que é a porcentagem de conídios viáveis, não apresentou interação dos fatores (concentração dos isolados de *B. bassiana* x concentração do óleo de mamona), sendo estes analisados de forma independente ( $F_{24,70} = 1,42$ ;  $P = 0,12$ ) (Figuras 1A e 1B). O fungo entomopatogênico, *B. bassiana*, apresentou germinação dos conídios em todas as concentrações do óleo de mamona estudadas. No entanto, houve diferenças significativas entre os isolados (Figura 1A). Os isolados CCA-UFES/Bb-4 e CCA-UFES/Bb-15 apresentaram os maiores valores de germinação (Figura 1A). O isolado ESALQ-447 apresentou o menor valor de germinação em relação aos demais isolados, ainda assim, o valor foi elevado (82,43%) (Figura 1A). A germinação de *B. bassiana* em função da concentração do óleo de mamona ajustou-se ao modelo linear ( $r^2 = 83,81\%$ ;  $P = 0,0185$ ), verificando-se redução deste parâmetro em função do aumento da concentração (Figura 1B). Os resultados mostram que embora foi detectado efeito significativamente negativo sobre a germinação dos conídios em razão do aumento da concentração do óleo de mamona, o valor inicial (coeficiente linear) foi alto (96,34%) e com baixa redução, em função das concentrações testadas (Figura 1B).

A grande diversidade genética é uma das características de destaque dos fungos entomopatogênicos (Rossi-Zalaf et al., 2008). Desta forma, mesmo sob a influência do óleo de mamona, variações na germinação dos conídios de *B. bassiana*, provavelmente, estão relacionadas com esta característica. A ação dos produtos fitossanitários na



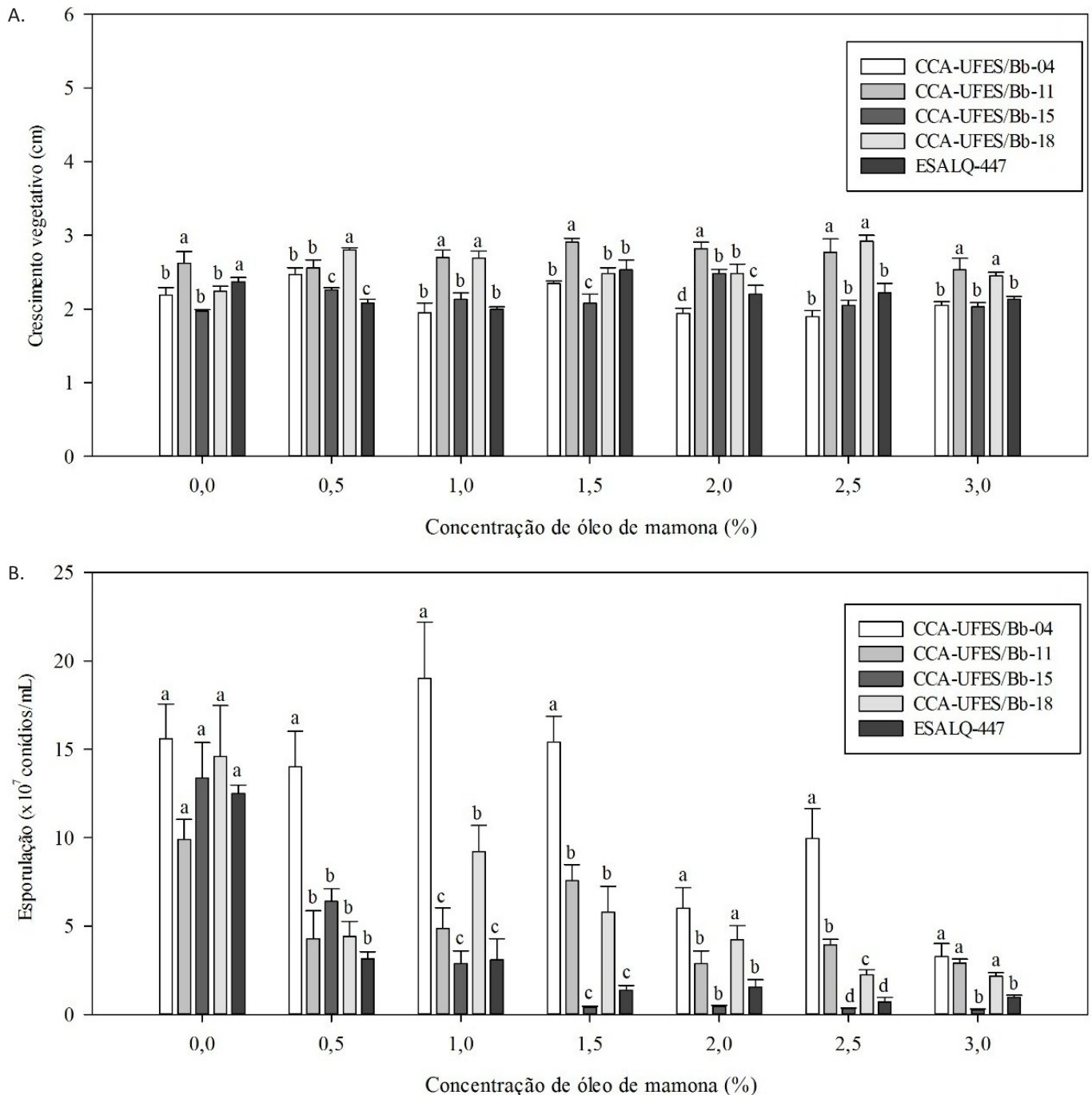
**Figura 1.** Germinação de conídios de *Beauveria bassiana* em meio de cultura com diferentes concentrações de óleo de mamona, à 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12:12 h luz:escuro. <sup>A</sup>Barra (± EP) sob diferentes letras diferem pelo teste de Scott-Knott (p ≤ 0,05). <sup>A,B</sup>Dados transformados por arcoseno  $\sqrt{x/100}$ .

germinação de *B. bassiana* é o principal fator a ser considerado nos testes de compatibilidade, uma vez que, a germinação dos conídios é responsável pela invasão inicial através da cutícula dos insetos (Silva & Neves, 2005). Embora não haja relatos sobre a ação do óleo de mamona na germinação *in vitro* de conídios de *B. bassiana*, há inúmeras pesquisas que relataram a formulação de fungos entomopatogênicos em óleos ou a aplicação conjunta destes métodos de controle de pragas, onde foram verificadas variações em função do tipo de óleo, do isolado, da idade dos conídios e da concentração (Moslim et al., 2004; Mohan et al., 2007; Islam et al., 2010).

O crescimento vegetativo, que é o diâmetro médio da colônia, variou em função dos isolados de *B. bassiana* e da concentração de óleo de mamona ( $F_{24,175} = 4,20$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 2A). Nenhum dos isolados de *B. bassiana* apresentou inibição no crescimento vegetativo nas concentrações de óleo de mamona estudadas. No entanto, houve diferença significativa entre os isolados dentro de cada concentração. Na ausência do óleo de mamona (0,0%) os isolados CCA-UFES/Bb-11 e ESALQ-447 foram os que apresentaram maior crescimento vegetativo (Figura 2A). O isolado CCA-UFES/Bb-18 apresentou o maior crescimento vegetativo, com diâmetro médio da colônia de 2,80 cm a 0,5% (v/v) de óleo de mamona (Figura 2A). Contudo, nas concentrações de 1,0; 2,5 e 3,0% (v/v), os isolados CCA-UFES/Bb-11 e CCA-UFES/Bb-18 apresentaram maior crescimento vegetativo (Figura 2A). O isolado CCA-UFES/Bb-11 foi superior aos demais isolados nas concentrações de 1,5 e 2,0% (v/v) de óleo de mamona, apresentando diâmetros médios da colônia de 2,91 e 2,82 cm, respectivamente (Figura 2A). O aumento na concentração de óleo de mamona não causou redução do crescimento vegetativo em nenhum dos isolados de *B. bassiana* (CCA-UFES/Bb-4, CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15, CCA-UFES/Bb-18 e ESALQ-447).

Assim, como na germinação de conídios, a variação no crescimento vegetativo de *B. bassiana* pode ser influenciada pela diversidade genética dos isolados. Fato relatado também com o óleo de nim a 0,3% (v/v) (Margoside<sup>®</sup> CK 20 EC; M/s Monofix Agroproducts Ltd, Hubli, Índia), onde de 30 isolados, apenas sete mostraram redução no crescimento vegetativo (Mohan et al., 2007). A atividade fungitóxica do óleo de mamona a 2% (v/v) sobre *B. bassiana* também foi observada para isolados originários da China, causando uma redução de 8,54% no crescimento vegetativo (Ummidi & Vadlamani, 2014). Em contraste, ao resultado obtido neste estudo, o aumento na concentração de óleo de nim causou redução do crescimento vegetativo de *B. bassiana* (Islam et al., 2010). Diferenças dessa natureza podem ocorrer, pois a ação dos produtos fitossanitários sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química e da concentração do produto utilizado (Rossi-Zalaf et al., 2008).

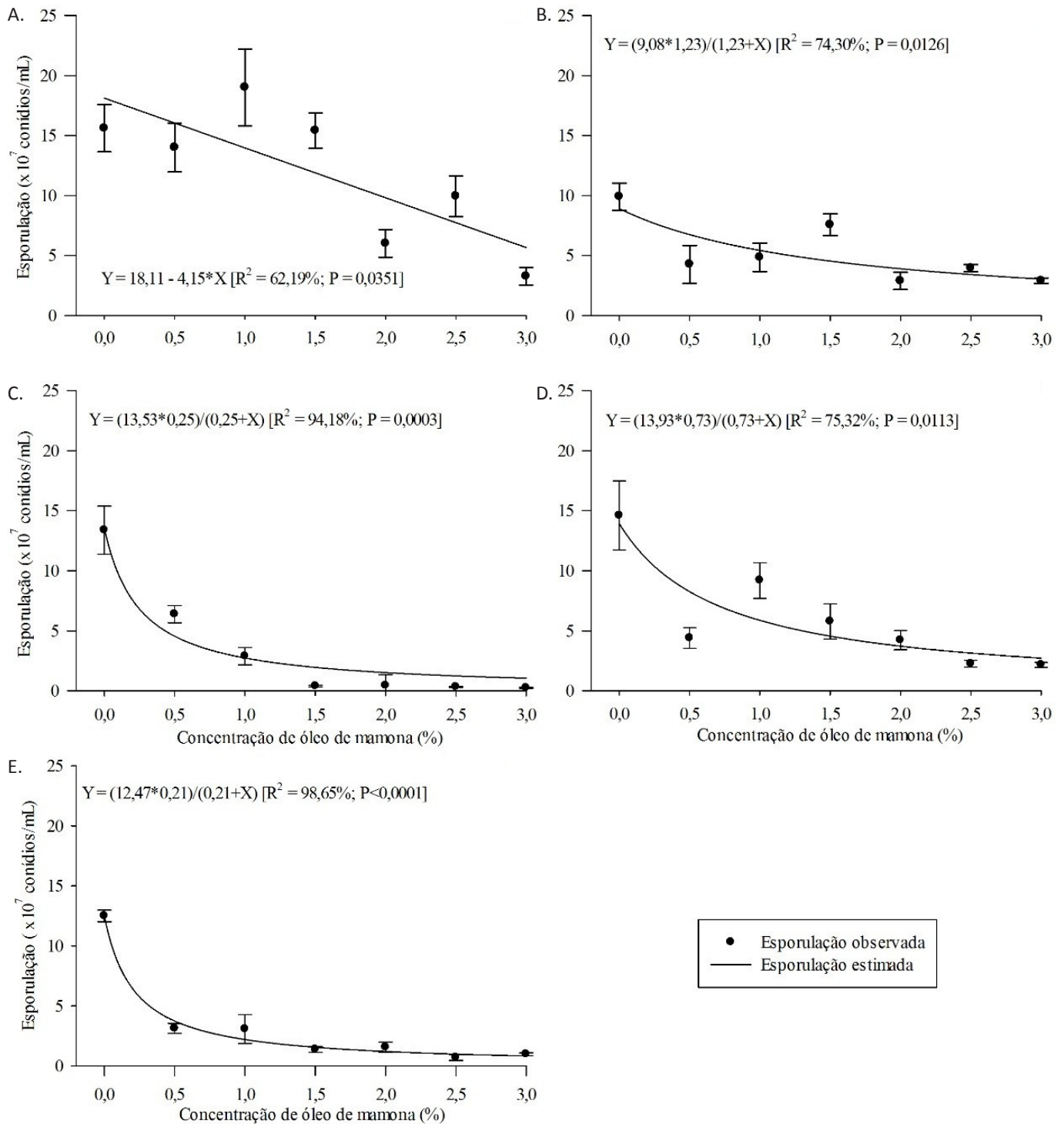
A esporulação, ou seja, a produção de conídios de *B. bassiana*, também apresentou interação dos fatores analisados ( $F_{24,175} = 6,00$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figuras 2B e 3). Todos os isolados de *B. bassiana* apresentaram esporulação nas concentrações de óleo de mamona estudadas. No entanto, estes diferiram entre si, sendo o isolado CCA-UFES/Bb-4 o que apresentou maior esporulação nas concentrações de 0,5 a 2,5% (v/v) (Figura 2B). Entretanto, na concentração de 2,0% (v/v) de óleo de mamona, o isolado CCA-UFES/Bb-4 não diferiu significativamente do isolado CCA-UFES/Bb-18, apresentando valores de esporulação de 6,01 e 4,22 x 10<sup>7</sup> conídios/mL, respectivamente (Figura 2B). Já na concentração de 3,0% (v/v) de óleo de mamona, o isolado CCA-UFES/Bb-4 não diferiu significativamente dos isolados CCA-UFES/Bb-11 e CCA-UFES/Bb-18, embora diferindo



**Figura 2.** Crescimento vegetativo (A) e esporulação (B) de isolados de *Beauveria bassiana* em meios de cultura com diferentes concentrações de óleo de mamona, à  $25 \pm 1$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR e fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro. <sup>A,B</sup>Barra ( $\pm$  EP) sob diferentes letras diferem pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). <sup>A,B</sup>Dados transformados por  $\sqrt{x + 0,5}$ .

dos demais (Figura 2B). Cabe ressaltar que na ausência do óleo de mamona não houve diferença significativa entre os isolados quanto à esporulação (Figura 2B). Entretanto, quando submetidos à interação com o óleo de mamona estes apresentaram respostas divergentes. Esta inferência terá influência direta na escolha do isolado a ser utilizado em campo, quando se objetiva a utilização conjunta de *B. bassiana* e óleo de mamona, uma vez que, a produção de conídios (esporulação) é fator preponderante para permanência deste entomopatógeno.

A correlação da esporulação e as concentrações estudadas de óleo de mamona apresentaram-se inversamente proporcional aos isolados de *B. bassiana* testados. A esporulação do isolado CCA-UFES/Bb-04 ajustou-se ao modelo linear e para os demais isolados os dados foram ajustados ao modelo hiperbólico (Figura 3). A concentração do óleo de mamona foi um fator que apresentou interferência significativa na conidiogênese de *B. bassiana*. Na concentração de 3,0% (v/v) foram observadas reduções aproximadas de 79; 71; 98; 85 e 92% na produção

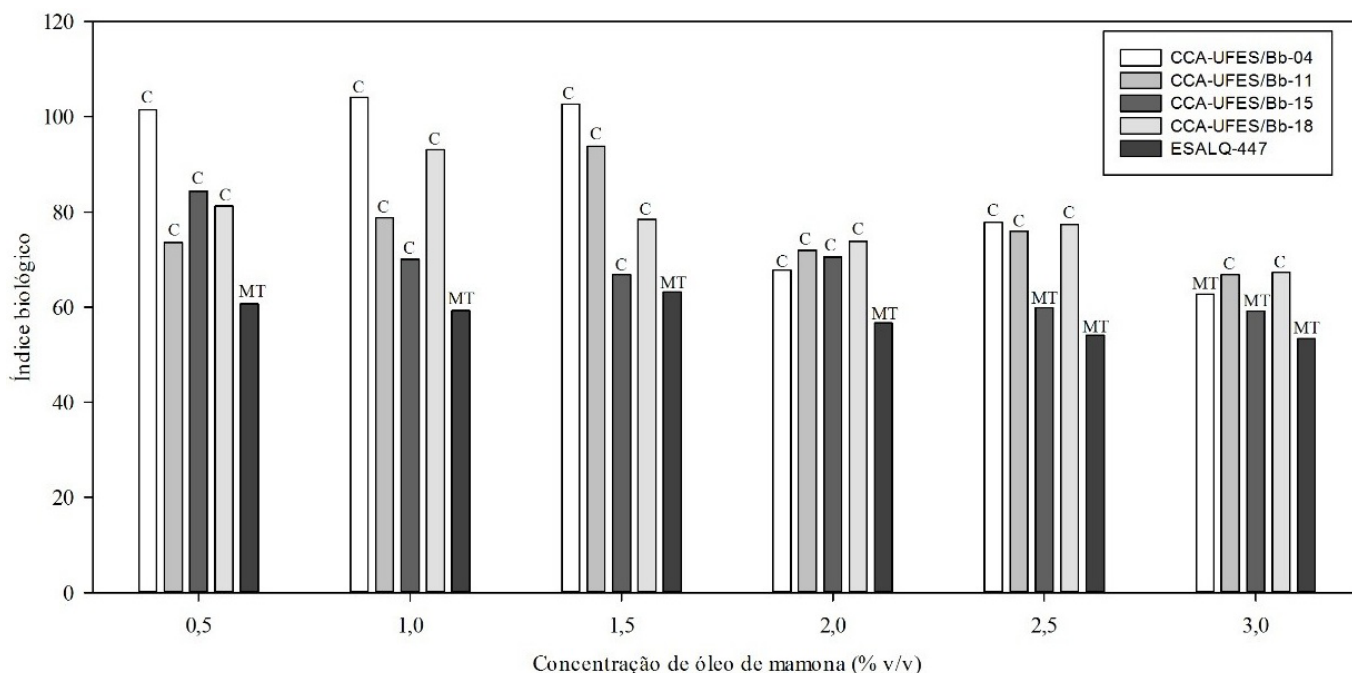


**Figura 3.** Esporulação de isolados de *Beauveria bassiana*, (A) CCA-UFES/Bb-4, (B) CCA-UFES/Bb-11, (C) CCA-UFES/Bb-15, (D) CCA-UFES/Bb-18 e (E) ESALQ-447, em meio de cultura em diferentes concentrações de óleo de mamona, à 25 ± 1 °C, UR 70 ± 10 % e fotoperíodo de 12:12 h luz:escuro.

de conídios dos isolados CCA-UFES/Bb-4, CCA-UFES/Bb-11, CCA-UFES/Bb-15, CCA-UFES/Bb-18 e ESALQ-447, respectivamente (Figuras 2B e 3).

A esporulação é considerada um dos parâmetros mais importantes, uma vez que, os conídios são estruturas fúngicas que se disseminam no ambiente e são responsáveis pelo início da infecção no campo (Sanjaya et al., 2013). Apesar do óleo de mamona ter causado redução na conidiogênese

de *B. bassiana*, mesmo na maior concentração de óleo de mamona a menor produção de conídios foi de 2,5 x 10<sup>6</sup> conídios/mL. A boa capacidade reprodutiva apresentada pelos isolados de *B. bassiana* utilizados neste estudo aliados aos demais parâmetros estudados nesta pesquisa, aumenta a perspectiva de sucesso destes no campo. Assim como o óleo de mamona, o óleo de nim causou reduções na produção de conídios de *B. bassiana* (Islam et al., 2010; Ummidi &



**Figura 4.** Classificação do óleo de mamona quanto a compatibilidade *in vitro* com isolados *Beauveria bassiana*, baseado no valor do índice biológico (BI). BI: 0 a 41, Tóxico (T); 42 a 66, Moderadamente Tóxico (MT); > 66, Compatível (C).

Vadlamani, 2014). As variações neste parâmetro, também, foram devidas ao isolado e à concentração, chegando até a redução de 78,7% quando utilizado óleo de nim a 1,5% (v/v) (Islam et al., 2010; Ummidi & Vadlamani, 2014). Além disso, a relação inversamente proporcional entre a concentração de óleo de mamona e a esporulação de *B. bassiana* também foi encontrada para o óleo de nim (Islam et al., 2010).

Baseado no índice biológico proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008), todas as concentrações estudadas do óleo de mamona foram compatíveis com os isolados CCA-UFES/Bb-11 e CCA-UFES/Bb-18 (Figura 4). Para o isolado CCA-UFES/Bb-4, todas as concentrações foram classificadas como compatíveis, exceto em 3,0% (v/v), que foi classificado como moderadamente tóxico (Figura 4). Para o isolado CCA-UFES/Bb-15, as concentrações de 2,5 e 3,0% (v/v) de óleo de mamona foram classificadas como moderadamente tóxicas, enquanto as demais concentrações foram compatíveis (Figura 4). Todas as concentrações foram classificadas como moderadamente tóxicas ao isolado ESALQ-447, evidenciando que os novos isolados apresentaram menor sensibilidade ao óleo de mamona em comparação ao isolado padrão (Figura 4).

Com base nos resultados, espera-se que as concentrações do óleo de mamona consideradas compatíveis com os isolados testados neste trabalho também sejam compatíveis quando aplicadas em condições de campo, uma vez que, os óleos podem conferir proteção do fungo contra fatores adversos, especialmente radiação ultravioleta (Jaronski, 2010; Lopes et al., 2011). Além disso, a compatibilidade de *B. bassiana* com óleo de mamona permite a possibilidade de produzir uma formulação baseada neste óleo, a fim de preservar a viabilidade dos conídios por um longo período de tempo. Este tem sido um dos maiores problemas com formulações baseadas em fungos entomopatogênicos, que

são armazenados apenas por curtos períodos (Michereff Filho et al., 2009; Jackson et al., 2010).

## Conclusão

O aumento na concentração de óleo de mamona interfere no desenvolvimento de *B. bassiana*. O grau de fungitoxicidade deste óleo é variável em função da diversidade genética do fungo entomopatogênico, *B. bassiana*. De acordo com o teste de compatibilidade “*in vitro*”, os isolados de *B. bassiana* apresentam potencial de associação com o óleo de mamona, exigindo futuros experimentos de campo para o manejo integrado de pragas.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI), pelo apoio financeiro concedido para realização desta pesquisa.

## Literatura Citada

- Alves, S.B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- Arnosti, A.; Brienza, P. D.; Furquim, K.C.S.; Chierice, G.O.; Bechara, G.H.; Calligaris, I.B.; Camargo-Mathias, M.I. Effects of ricinoleic acid esters from castor oil of *Ricinus communis* on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. *Experimental Parasitology*, v.127, n.2, p.575-580, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.10.006>.

- Bestete, L.R.; Pratisoli, D.; Queiroz, V.T.; Celestino, de F.N.; Machado, L.C. Toxicidade de óleo de mamona a *Helicoverpa zea* e a *Trichogramma pretiosum*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, n.8, p.791-797, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000800002>.
- Celestino, F.N.; Pratisoli, D.; Machado, L.C.; Costa, A.V.; Santos Junior, H.J.G. Dos; Zinger, F.D. Toxicidade do óleo de mamona à broca-do-café [*Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)]. Coffee Science, v.10, n.3, p.329-336, 2015. <https://doi.org/10.25186/cs.v10i3.870>.
- Celestino, F.N.; Pratisoli, D.; Machado, L.C.; Santos Junior, H.J.G. Dos; Queiroz, V.T. De; Mardgan, L. Control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) with botanical insecticides and mineral oils. Acta Scientiarum. Agronomy, v.38, n.1, p.1-8, 2016. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i1.27430>.
- Dalvi, L.P.; Pratisoli, D.; Polanczyk, R.A.; Andrade, G.S. Selection of native isolates of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) for the control of the coffee borer beetle *Hypothenemus hampei* (Scolytinae) in Brazil. Biological Letters, v.48, n.1, p.39-46, 2011. <https://doi.org/10.2478/v10120-011-0006-8>.
- Islam, M.T.; Islam, M.T.; Omar, D.; Latif, M.A.; Morshed, M. The integrated use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with botanical insecticide, neem against *Bemisia tabaci* on eggplant. African Journal of Microbiology Research, v.5, n.21, p.3409-3413, 2011. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.478>.
- Islam, M.T.; Olleka, A.; Ren, S. Influence of neem on susceptibility of *Beauveria bassiana* and investigation of their combined efficacy against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* on eggplant. Pesticide Biochemistry and Physiology, v.98, n.1, p.45-49, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.04.010>.
- Islam, M.T.; Omar, D.B. Combined effect of *Beauveria bassiana* with neem on virulence of insect in case of two application approaches. The Journal of Animal & Plant Sciences, v.22, n.1, p.77-82, 2012. <http://thejaps.org.pk/docs/v-22-1/29.pdf>. 29 Mar. 2018.
- Isman, M.B.; Grieneisen, M.L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. Trends Plant Science, v.19, n.3, p.140-145, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.11.005>.
- Jackson, M.A.; Dunlap, C.A.; Jaronski, S.T. Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. BioControl, v.55, n.1, p.129-145, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9240-y>.
- Jaronski, S.T. Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. BioControl, v.55, n.1, p.159-185, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9248-3>.
- Lopes, R.B.; Pauli, G.; Mascarini, G.M.; Faria, M. Protection of entomopathogenic conidia against chemical fungicides afforded by an oil based formulation. Biocontrol Science and Technology, v.21, n.2, p.25-137, 2011. <https://doi.org/10.1080/09583157.2010.534548>.
- Michereff Filho, M.; Faria, M.; Wraight, S.P.; Silva, K.F.A.S. Micoiseticidas e micoacaricidas no Brasil: Como estamos após quatro décadas? Arquivos do Instituto Biológico, v.76, n.4, p.769-779, 2009. [http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v76\\_4/michereff.pdf](http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v76_4/michereff.pdf). 29 Mar. 2018.
- Mohan, M.C.; Reddy, N.P.; Devi, U.K.; Kongara, R.; Sharma, H.C. Growth and insect assays of *Beauveria bassiana* with neem to test their compatibility and synergism. Biocontrol Science and Technology, v.17, n.10, p.1059-1069, 2007. <https://doi.org/10.1080/09583150701714551>.
- Moslim, R.; Wahid, M. B.; Ali, S. R. A.; Kamarudin, N. The effects of oils on germination of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and its infection against the oil palm bagworm, *Metisa plana* (Walker). Journal of Oil Palm Research, v.16, n.2, p.78-87, 2004. <http://jopr.mpob.gov.my/wp-content/uploads/2013/09/jopr16dec2004-ramle1.pdf>. 19 Mar. 2018.
- Nascimento, V.V. Do; Castro, H.C.; Abreu, P.A.; Elenir, A.; Oliveira, A.; Fernandez, J.H.; Silva A.J. Da; Machado, O.L.T. In silico structural characteristics and  $\alpha$ -amylase inhibitory properties of Ric c 1 and Ric c 3, allergenic 2S albumins from *Ricinus communis* seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.59, n.9, p.4814-4821, 2011. <https://doi.org/10.1021/jf104638b>.
- Ramos-López, M.A.; Pérez G.S.; Rodríguez-Hernández, C.; Guevara-Fefer, P.; Zavala-Sánchez, M.A. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). African Journal of Biotechnology, v.9, n.9, p.1359-1365, 2010. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1621>.
- Rondelli, V.M.: Pratisoli, D.; Polanczyk, R.A.; Marques, E.J.; Sturm, G.M.; Tiburcio, M.O. Associação do óleo de mamona com *Beauveria bassiana* no controle da traçadas-crucíferas. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, n.2, p.212-214, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000200014>.
- Rossi-Zalaf, L.S.; Alves, S.B.; Lopes, R.B.; Silveira Neto, S.; Tanzini, M.R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: Alves, S.B.; Lopes, R.B. (Eds.), Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba: FEALQ, 2008. cap.11, p. 279-302.
- Sanjaya, Y.; Ocampo, V.R.; Caoili, B.L. Transmission effect of entomopathogenic fungi on population of *Tetanychus kanzawai* (Kishida) (Tetranychidae: Acarina). Arthropods, v.2, n.1, p.36-41, 2013. [http://www.iaees.org/publications/journals/arthropods/articles/2013-2\(1\)/transmission-effect-of-entomopathogenic-fungi.pdf](http://www.iaees.org/publications/journals/arthropods/articles/2013-2(1)/transmission-effect-of-entomopathogenic-fungi.pdf). 03 Mar. 2018.
- Silva, R.Z. da; Neves, P.M.O.J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and in vitro phytosanitary products. Pest Management Science, v.61, n.7, p.667-674, 2005. <https://doi.org/10.1002/ps.1035>.
- Swathi, P.; Visalakshy, P.N.G.; Das, S.B. *In vitro* evaluation for compatibility of additives with *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Egyptian Journal of Biological Pest Control, v.28, n.13, p.1-5, 2018. <https://doi.org/10.1186/s41938-017-0017-9>.
- Tounou, A.K.; Gbénonchi, M.; Sadate, A.; Komi, A.; Dieudonné, G.Y.M.; Komla, S. Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. Journal of Applied Biosciences, v.43, n.3, p.2899-2914, 2011. <http://m.elewa.org/JABS/2011/43/3.pdf>. 19 Mar. 2018.



- Ummidi, V.R.S.; Vadlamani, P. Preparation and use of oil formulations of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Spodoptera litura* larvae. African Journal of Microbiology Research, v.8, n.15, p.1638-1644, 2014. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6593>.
- Vega, F.E.; Infante, F.; Castillo, A.; Jaramillo, J. The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae): a short review, with recent findings and future research directions. Terrestrial Arthropod Reviews, v.2, n.2, p.129-147, 2009. <https://doi.org/10.1163/187498209X12525675906031>.