

Efeito de fungos entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae)

Effect of entomopathogenic fungi over immature forms *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae)

VALENTE, Ellen Carine Neves¹; MARQUES, Edmilson Jacinto²; OLIVEIRA, José Vargas de²; PASSOS, Eliana Maria dos²; SILVA, Cinthia Conceição Matias da²; GUIMARÃES, Jennifer³

1 Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo/ AL - Brasil, ellencvalente@yahoo.com.br; 2Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife/ PE - Brasil, emar@depa.ufrpe.br, vargasoliveira@uol.com.br, bisologa@hotmail.com, cinthia_cms@hotmail.com; 3Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista/ BA - Brasil, jennifer_guima@yahoo.com.br.

RESUMO: *Diatraea flavipennella* Box, 1931 (Lepidoptera: Crambidae) constitui um dos principais insetos que acomete a cultura da cana-de-açúcar no nordeste do Brasil. O presente trabalho objetivou estudar alternativas de controle por meio da seleção dos isolados URPE-3, URPE-4, URPE-18, URPE-22 e ESALQ 447 de *Beauveria bassiana* e de PL 43, E9, ESALQ 1189, URPE-11 e URPE-19 de *Metarhizium anisopliae* na concentração 10^7 conídios/mL⁻¹ sobre ovos de 24, 48 e 72 horas de idade e lagartas no 2º instar. Os isolados de *M. anisopliae* testados apresentaram 100% de infecção sobre ovos de 24 e 48 horas de idade e variação de 60 a 100% de infecção sobre ovos de 72 horas de idade. Os isolados ESALQ 447, E9 e ESALQ 1189 destacaram-se quando aplicados sobre lagartas, apresentando mortalidades médias de 70,8, 72,2 e 61,2%, respectivamente. Em relação à sobrevivência das lagartas tratadas, os isolados ESALQ 447 e ESALQ 1189 mostraram-se mais virulentos com valores médios de $5,8 \pm 0,93$ e $3,2 \pm 0,18$ dias, respectivamente ($\chi^2 = 26,24 < 0,0001$; $\chi^2 = 93,83 < 0,0001$). Os resultados mostram que os fungos, *B. bassiana* e *M. anisopliae*, são potenciais agentes no manejo de *D. flavipennella*.

PALAVRAS-CHAVE: manejo integrado, broca-da-cana-de-açúcar, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*

ABSTRACT: *Diatraea flavipennella* (Box) is a major insect that affect the sugarcane culture in northeastern Brazil. The present study aimed to investigate alternative control through the selection of isolates URPE-3, URPE-4, URPE-18, URPE-22 and ESALQ 447 of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman and PL43, E9, ESALQ 1189, URPE-11 and URPE-19 *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin in concentration 10^7 conidia / mL⁻¹ on eggs of 24, 48 and 72 hours age and larvae in the 2nd instar. The isolates of *M. anisopliae* tested showed 100% infected on eggs of 24 and 48 hours age and range of 60 to 100% infection on eggs 72 hours age. The ESALQ 447, E9 and ESALQ 1189 isolates, stood out when applied on larvae, with average mortality of 70,8, 72,2 and 61,2%, respectively. Regarding the survival of treated larvae, the ESALQ 447 and ESALQ 1189 isolates were more virulent with values of $5,8 \pm 0,93$ and $3,2 \pm 0,18$ days, respectively ($\chi^2 = 26,24 < 0,0001$; $\chi^2 = 93,83 < 0,0001$). The results show that the fungus *B. bassiana* and *M. anisopliae*, may be potential agents in the management of *D. flavipennella*.

KEY WORDS: integrated management, sugarcane borer, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*

Correspondências para: ellencvalente@yahoo.com.br

Aceito para publicação em 11/12/2013

Introdução

A broca da cana-de-açúcar *Diatraea flavipennella* Box, 1931 (Lepidoptera: Crambidae) destaca-se como um inseto de grande importância econômica, principalmente, nos canaviais nordestinos. Seus danos são semelhantes aos provocados pela broca *D. saccharalis* (Fabricius, 1794) a qual tem sua distribuição generalizada em todo o país (MENDONÇA et al., 1996; PINTO, 2006; DINARDO-MIRANDA, 2008).

A fase larval de *D. flavipennella* causa danos diretos à cultura. As lagartas perfuram o colmo, próximo à gema, e se alojam no interior do mesmo, resultando em perda de peso na produção, morte da gema apical, encurtamento dos entrenós, quebra da cana, enraizamento aéreo e germinação das gemas laterais (Pinto et al. 2009).

Os orifícios abertos pelas lagartas facilitam a infecção pelos fungos *Colletotrichum falcatum* Went e *Fusarium moniliforme* Sheldon, acarretando em danos indiretos por meio do desenvolvimento da doença conhecida como podridão vermelha do colmo. Esta é responsável pela inversão da sacarose armazenada na planta, redução da pureza do caldo e contaminação no processo de fermentação alcoólica, fatores que desencadeiam na queda do rendimento industrial (GALLO et al., 2002; PINTO, 2006). Segundo White et al. (2008), as lagartas de *D. saccharalis* acarretam perdas de até 0,30% de açúcar/ha para cada 1% de entrenós brocados.

No Brasil, o manejo destas brocas é realizado com base nas liberações inundativas do endoparasitoide larval, *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) (PARRA et al., 2002; PINTO, 2006). Embora este braconídeo seja um eficiente agente de controle, o mesmo não tem sido suficiente para o controle de *D. flavipennella*, sendo os fungos entomopatogênicos uma alternativa para incrementar o manejo desta praga.

De acordo com Alves et al. (2008), a broca *D. saccharalis* é suscetível aos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana*

(Bals.) Vuill., os quais ocorrem naturalmente infectando cerca de 10% das lagartas, nas condições do nordeste do Brasil. Estudos com isolados destes fungos demonstram patogenicidade a ovos e larvas de diversos artrópodes (EKESI et al., 2002; SILVA et al., 2003; FERREIRA et al., 2005; ZAPPELINI et al., 2010; ROCHA et al., 2012).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de isolados dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos e lagartas de *D. flavipennella*, em condições de laboratório.

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade, pertencente ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em Recife – PE, Brasil.

Criação de *Diatraea flavipennella*

Ovos e lagartas de *D. flavipennella* utilizadas nos experimentos foram provenientes de criação mantida em condições de laboratório (27±2 °C; 70±10% de U.R. e fotofase de 12 horas) sob dieta artificial de Hensley & Hammond (1968) modificada por Araújo et al. (1985), a qual é constituída basicamente de farelo de soja, germe de trigo, açúcar, sais de Wesson, ácido ascórbico, solução vitamínica e anticontaminantes.

Obtenção e preparo dos isolados dos fungos

Os isolados URPE-3, URPE-4, URPE-18, URPE-22 e ESALQ 447 de *B. bassiana* e PL43, ESALQ 1189, E9, URPE-11 e URPE-19 de *M. anisopliae* utilizados no estudo foram obtidos de diferentes hospedeiros e localidades (Tabela 1). Estes são provenientes da micoteca do Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE.

As suspensões fúngicas foram preparadas mediante adição de 10 mL de água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo Tween® 80 a 0,01% (ADE + E), em placas contendo meio de

Tabela 1: Hospedeiros e origem dos isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* utilizados nos experimentos com *Diatraea flavipennella*

FUNGOS	ISOLADOS	HOSPEDEIRO	ORIGEM
<i>M. anisopliae</i>	E9	<i>Deois flavopicta</i>	Vitória-ES
	PL43	<i>M. posticata</i>	Piracicaba - SP
	URPE-19	Solo	Vitória - PE
	URPE-11	<i>M. posticata</i>	Recife-PE
	ESALQ 1189	Solo	Piracicaba - SP
<i>B. bassiana</i>	URPE -3	<i>Ryncophorum palmarum</i>	Cabo - PE
	URPE - 4	<i>Membracis sp.</i>	Recife - PE
	URPE - 18	Solo	Cabo - PE
	ESALQ 447	<i>Solenopsis invicta</i>	Piracicaba - SP
	URPE- 22	Percevejo	Bagisa - BA

cultura e o fungo, as quais foram aferidas mediante quantificação em câmara de Neubauer com o auxílio de um microscópio óptico, sendo posteriormente ajustada a concentração 10^7 conídios mL⁻¹. Determinou-se a viabilidade dos conídios através da contagem dos conídios germinados e não germinados, em microscópio óptico de luz, 24 horas após o plaqueamento de 0,1 mL da suspensão em BDA + A, como descrito por Alves e Moraes (1998).

Teste de patogenicidade sobre ovos de *D. flavipennella*

Posturas de 24, 48 e 72 horas de idade foram pulverizadas com as respectivas suspensões fúngicas com auxílio de um microatomizador Paasche, modelo "VL", acoplado a um compressor

regulado para cinco libras de pressão. A testemunha foi pulverizada com água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo Tween® 80 a 0,01% (ADE + E). Os experimentos constaram de quatro repetições, sendo cada uma composta por duas posturas contendo aproximadamente 30 ovos. Após a pulverização, individualizaram-se as posturas de diferentes idades em caixas de acrílico forradas com papel filtro umedecido e mantidas em câmara B.O.D. a 27 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de U.R. e 12h de fotofase. Foram feitas avaliações diárias, com auxílio de estereoscópio, para observação e registro da infecção dos ovos e eclosão de lagartas. As lagartas recém-eclodidas foram transferidas para caixa de acrílico contendo um pedaço de cana a qual foi trocada diariamente por ocasião das avaliações. As posturas e lagartas

infectadas foram transferidas individualmente para câmara úmida e mantidas à 26 ± 1 °C, $75 \pm 5\%$ de U.R. e fotofase de 12h para confirmação do agente causal.

Determinação da Concentração Letal (CL₅₀) para ovos de *D. flavipennella*

Selecionou-se o isolado URPE-11 de *M. anisopliae* para determinação da CL₅₀ utilizando-se suspensões ajustadas a 10^4 , 5×10^4 , 10^5 , 5×10^5 , 10^6 conídios mL⁻¹. A metodologia quanto a forma de aplicação, acomodação dos ovos e avaliação foi a mesma adotada no teste de patogenicidade sobre ovos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constando dos tratamentos correspondentes às diferentes concentrações das suspensões do patógeno, com seis repetições, sendo cada repetição composta por massas de ovos contendo entre 8 a 18 ovos com 72 horas de idade.

Teste de patogenicidade sobre lagartas de *D. flavipennella*

Lagartas no 2º instar foram pulverizadas com 1 mL da suspensão fúngica na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹ para cada tratamento, utilizando um microatomizador marca Paasche "VL". Efetuou-se o experimento em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo cada uma composta por sete lagartas. Estas foram acondicionadas em recipientes plásticos contendo um pedaço de colmo de cana-de-açúcar de aproximadamente dois centímetros, onde eram trocadas diariamente por ocasião das avaliações. Os tratamentos foram mantidos em câmara B.O.D. a 27 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ de U.R. e 12h de fotofase, sendo a mortalidade avaliada diariamente até o registro do último inseto morto, estes foram transferidos para câmara úmida e mantidos em B.O.D. a 26 ± 1 °C, $75 \pm 5\%$ de U.R. e 12 h de fotofase para confirmação do agente causal.

Determinação das Concentrações Letais (CL₅₀) para lagartas de *D. flavipennella*

Suspensões dos isolado ESALQ 447 do fungo *B. bassiana* e o isolado ESALQ 1189 de *M. anisopliae* foram ajustadas a 10^4 , 5×10^4 , 10^5 , 5×10^5 , 10^6 , 5×10^6 e 10^7 conídios mL⁻¹ e usadas para pulverizar as lagartas, compondo, assim, os tratamentos. O grupo controle foi pulverizado com água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo Tween® 80 a 0,01% (ADE + E). Para cada tratamento utilizaram-se seis repetições com sete lagartas cada, totalizando 42 lagartas por tratamento as quais foram pulverizadas com 1 mL de cada suspensão. No preparo e aplicação das suspensões, determinação da viabilidade de conídios, acomodação das lagartas e avaliações, foi utilizada a mesma metodologia aplicada no experimento de patogenicidade.

Análises estatísticas

As médias relacionadas aos dados obtidos nos testes de patogenicidade, transformadas em arco-seno $\sqrt{x + 0,5}$ quando necessário, foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A partir dos dados obtidos pela mortalidade confirmada das lagartas determinou-se a porcentagem de sobrevivência média, sendo os dados submetidos ao teste de Log-Rank, por pares de isolado, pelo método Kaplan-Meyer, usando o Proc Lifetest. Na determinação da CL₅₀ os dados de mortalidade da lagarta e infecção de ovos, obtidos nas diferentes concentrações, foram submetidos à análise de Probit. Para todas as análises utilizou-se o programa estatístico SAS (SAS Institute 1999-2001).

Resultados e Discussão

Patogenicidade dos isolados sobre ovos de *D. flavipennella*

As viabilidades dos conídios de *B. bassiana* e

M. anisopliae testados sobre ovos de *D. flavipennella* foram superiores a 96%. Em testes preliminares, a maioria dos isolados mostrou-se patogênico a ovos de *D. flavipennella*. No entanto, os isolados do fungo *M. anisopliae* se destacaram uma vez que proporcionaram infecção em todos os ovos de 24 e 48 horas de idade, inibindo totalmente a eclosão larval. Diante deste resultado, os mesmos isolados de *M. anisopliae* foram testados em ovos de 72 horas de idade, considerados menos suscetíveis à ação do fungo, a fim de selecionar o melhor isolado para a determinação da CL₅₀.

No teste com posturas de 72 horas de idade tratadas com *M. anisopliae*, o isolado URPE-11

causou infecção de 100% dos ovos. Enquanto, para os demais isolados a porcentagem de infecção variou de 43,8 a 96,3% entre os isolados URPE-19 e E9, respectivamente (Tabela 2). A porcentagem média de eclosão para estes ovos variou de 3,7 a 52,5% para os isolados testados, diferindo da testemunha com 87,5% de eclosão, tais dados corroboram com os resultados de infecção (Tabela 2).

Almeida et al. (1984) observaram resultados semelhantes a estes, sobre ovos da broca *D. saccharalis*, quando também registraram 100% de infecção para ovos de um e dois dias de idade. O mesmo efeito foi observado em ovos de *Blissus*

Tabela 2: Porcentagens de infecção de ovos, de 72 horas, eclosão e infecção de lagartas de *Diatraea flavipennella* tratado com isolados de *Metarhizium anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/mL. Temp.: 27 ± 1 °C, U.R: $70 \pm 10\%$, Fotofase: 12h.

Isolados	Infecção de ovos (%)	Eclosão de lagartas (%)	Infecção de lagartas ¹ (%)
PL43	$92,4 \pm 7,57a^2$	$7,6 \pm 7,6c^2$	$44,4 \pm 0,00b^2$
E9	$96,3 \pm 2,04a$	$3,7 \pm 2,04c$	$98,1 \pm 1,88a$
ESALQ 1189	$88,9 \pm 6,53a$	$11,3 \pm 6,53bc$	$88,9 \pm 11,11a$
URPE-11	$100 \pm 0,00a$	-	-
URPE-19	$43,8 \pm 17,51b$	$52,5 \pm 15,98ab$	$68,6 \pm 4,49ab$
Testemunha	-	$87,5 \pm 4,6a$	-
Estatísticas	$F_{4,19} = 7,16^{0,0020}$	$F_{4,19} = 14,32^{0,0001}$	$F_{3,15} = 9,16^{0,0020}$

¹Porcentagem de infecção de lagartas provenientes de ovos tratados pelo fungo.

²Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

antillus Leonard (Hemiptera: Lygaeidae) tratados com *M. anisopliae* na concentração de 5×10^6 conídios/mL ocasionando 100% de infecção (SAMUELS et al., 2002).

De acordo com Pinto (2006), os ovos de *D. saccharalis* são mais suscetíveis ao fungo *M. anisopliae* até três a quatro dias de idade. Quando os ovos desta espécie são inoculados com quatro dias de idade dificulta a colonização do fungo devido à eclosão das lagartas nos dias subsequentes à inoculação, não havendo tempo hábil para colonização do fungo nas posturas da broca, podendo haver infecção das lagartas eclodidas (ALMEIDA et al., 1984).

Das lagartas provenientes dos ovos tratados observou-se uma infecção de 44,4 a 98,1%. Sendo, neste caso, os isolados E9 ($98,1 \pm 1,88$), ESALQ 1189 ($88,9 \pm 11,11$) e URPE-19 ($68,6 \pm 4,49$) os mais eficientes sobre as lagartas recém-eclodidas. Embora o isolado URPE-19 tenha se mostrado inferior na infecção dos ovos, não foi observada diferença significativa entre ele e o E9 que apresentou a maior média de infecção (Tabela 2).

A mortalidade das lagartas recém-eclodidas é resultante da penetração do fungo no ovo e tegumento da neonata antes da eclosão ou como resultado da aquisição indireta do inóculo pela neonata ao se alimentar do córion contaminado (EKESI et al., 2002). Mochi et al. (2010), estudando o efeito do isolado E9 de *M. anisopliae* a uma concentração de 10^7 conídios/mL sobre ovos e larvas de *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae), demonstraram que este não causou a infecção dos ovos, no entanto promoveu 37,7% de mortalidade das larvas eclodidas.

Diante do exposto pode-se observar que os ovos de 24 e 48 horas de idade são mais suscetíveis à ação dos fungos, no entanto os isolados de *M. anisopliae* provocaram infecção também em ovos de 72 horas de idade. Em testes

preliminares, o fungo *B. bassiana* apresentou eficiência apenas sobre ovos de 24 horas de idade.

Nos ovos tratados com os isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* observou-se a infecção gradual da postura onde, um ovo infectado acarretava na infecção completa da mesma. Tal observação, foi também relatada por Ekesi et al. (2002) sobre massas de ovos de *Maruca vitrata* Fabricius, 1787 (Lepidoptera: Crambidae) e *Clavigralla tomentosicollis* Stål (Heteroptera: Coreidae) tratadas com isolados do mesmo fungo.

Os ovos tratados com os isolados de *B. bassiana* apresentaram, inicialmente, coloração rósea característica do pigmento denominado oosporina que possui atividade bactericida o qual evita a proliferação de outros microorganismos no hospedeiro. Dentro de 96 horas os ovos adquiriram coloração branca em razão da intensa esporulação do fungo. O fungo *M. anisopliae* promoveu uma pigmentação escura na parede dos ovos dos grupos tratados. Tal fenômeno não interferiu na eclosão das lagartas provenientes dos ovos que apresentaram essa pigmentação. No final da conidiogênese, os ovos infectados apresentaram uma camada pulverulenta de conídios característico da doença, a qual é conhecida como muscardine verde.

A suscetibilidade de ovos de insetos à agentes microbianos é pouco discutida na literatura, contudo, Mellini (1986) descreve que a idade do ovo pode restringir a aceitação por parasitoides, em função do endurecimento do córion, dificultando a penetração do ovipositor. Fenômeno semelhante pode ocorrer com a penetração do fungo no hospedeiro onde, a esclerotização do ovo propicia tanto uma barreira física, por endurecer consideravelmente o tegumento, quanto uma barreira química, por torná-lo mais estável diante da ação enzimática dos patógenos (ALVES E PEREIRA, 1998).

Diante da maior eficiência dos fungos sobre ovos nos primeiros dias de idade espera-se que a

eficiência de controle no campo seja alcançada quando se observar maior densidade de ovos nos três primeiros dias de desenvolvimento embrionário. As maiores concentrações de ovos em campo são detectadas em cana-planta e em socaria, durante os quatro primeiros meses de idade (MENDONÇA et al., 1996). Dessa forma, o acompanhamento da fenologia da planta, da evolução da praga no campo bem como da época do ano irá direcionar o controle efetivo da mesma considerando que, a fase de ovo representa o fator chave de crescimento populacional da praga (BOTELHO, 1985).

Determinação da Concentração Letal (CL₅₀) para ovos de *D. flavipennella*

Diante da elevada infecção ocasionada pelo isolado URPE-11 de *M. anisopliae*, nas diferentes idades dos ovos, o qual causou 100% de infecção, determinou-se a CL₅₀ estimada em $2,0 \times 10^5$ com limites inferior e superior de $1,5 \times 10^5$ – $2,8 \times 10^5$, respectivamente ($\chi^2 = 6,05$; $P = 0,1094$). O resultado obtido com relação a CL₅₀ para o isolado URPE-11 de *M. anisopliae* sugere elevada virulência do mesmo sobre ovos de *D. flavipennella*.

Patogenicidade dos isolados sobre lagartas de *D. flavipennella*

Os isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* testados apresentaram viabilidades superiores a 95%, demonstrando alta capacidade germinativa. Os fungos testados foram patogênicos às lagartas de 2º instar de *D. flavipennella*.

Na mortalidade confirmada aos cinco dias de avaliação, somente o isolado E9 de *M. anisopliae* (74,2%) diferiu significativamente do isolado URPE-4 de *B. bassiana* (40%) (Tabela 3).

Resultado semelhante a este foi observado por Wenzel et al. (2006) que constataram uma mortalidade de 40,5% de lagartas de *D.*

saccharalis pulverizadas com suspensões do isolado IBCB 66 de *B. bassiana* na mesma concentração (107 conídios mL⁻¹).

Com relação à sobrevivência das lagartas tratadas, verificou-se diferença significativa na sobrevivência média entre todos os isolados testados e a testemunha. Contudo, dentro dos tratamentos houve diferença somente entre os isolados URPE-22 e ESALQ 447 de *B. bassiana*, com sobrevivência média de 11,29 e 5,76 dias e entre os isolados URPE-19 e ESALQ 1189 de *M. anisopliae*, com 6,47 e 3,23 dias, respectivamente (Tabela 3) (Figura 1).

De maneira geral, os resultados de mortalidades confirmadas pelos isolados dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* evidenciam que todos os isolados testados apresentaram patogenicidade à broca *D. flavipennella*, pois a menor mortalidade foi de 40% referente ao isolado URPE-4.

A patogenicidade dos isolado ESALQ 447 de *B. bassiana* e E9 de *M. anisopliae* foi testada por Figueirêdo et al. (2002) sobre a broca gigante da cana-de-açúcar, *Telchin licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae), na concentração de 10^8 conídios/mL registrando 73,3% de mortalidade por *B. bassiana* e 43,3% por *M. anisopliae* após 15 dias da inoculação. Estes mesmos isolados quando testados por Silva et al. (2003) a uma concentração de 10^7 conídios/mL sobre lagartas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), proporcionaram mortalidades de 68% e 74%, respectivamente.

Estudando o isolado ESALQ 1189 de *M. anisopliae* na concentração 10^7 conídios/mL, César Filho et al. (2002) registraram mortalidade de 60% para lagartas de *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae), valor semelhante ao obtido para *D. flavipennella*. Quando testados os isolados E9 e PL 43 de *M. anisopliae*, a uma concentração de 10^8 conídios/mL, os mesmos autores obtiveram 30% de mortalidade média para

Efeito de fungos entomopatogênicos sobre formas

Tabela 3: Mortalidade confirmada (%) aos cinco dias de avaliação e sobrevivência de lagartas de *Diatraea flavipennella* por isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (10^7 conídios mL⁻¹). Temp.: 27±2 °C; UR 70±10%

Fungos	Isolados	Mortalidade (%) 5 dias	Sobrevivência (dias)
<i>B. bassiana</i>	URPE-3	52,7 ± 7,04 ab ¹	7,08 ± 1,43 bc ²
	URPE-4	40,0 ± 5,16 b	7,12 ± 1,48 bc
	URPE-18	46,4 ± 7,26 ab	8,23 ± 2,07 bc
	URPE-22	48,3 ± 8,64 ab	11,29 ± 2,32 b
	ESALQ 447	70,8 ± 9,08 ab	5,76 ± 0,93 c
	Testemunha	-	19,70 ± 2,62 a
		$\chi^2 = 26,24 < 0,0001$	
<i>M. anisopliae</i>	PL 43	54,8 ± 6,82 ab	4,60 ± 0,93 bc
	E9	74,2 ± 6,97 a	4,65 ± 0,74 bc
	ESALQ 1189	61,2 ± 6,29 ab	3,23 ± 0,18 c
	URPE-11	59,5 ± 6,82 ab	4,37 ± 0,49 bc
	URPE-19	56,4 ± 4,83 ab	6,47 ± 1,05 b
	Testemunha	-	26,88 ± 1,34 a
		$F_{9;59} = 2,28^{0,0511}$	$\chi^2 = 93,83 < 0,0001$

1 Médias (±EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey
 2 Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Log-Rank por pares de isolados após análise de sobrevivência pelo método Kaplan-Meier.

ambos isolados.

Com base nos dados de sobrevivência, pode-se indicar que o fungo *M. anisopliae* é mais virulento à broca *D. flavipennella* quando comparado ao fungo *B. bassiana* uma vez que, o melhor isolado de *M. anisopliae* testado sobre lagartas no 2º ínstar apresentou média de 3,23 dias de sobrevivência

das lagartas após tratamento, enquanto que o fungo *B. bassiana* foi de 5,76 dias. Esses resultados são satisfatórios uma vez que o fungo *M. anisopliae* é produzido e utilizado em larga escala nos canaviais do Sudeste e Nordeste do país no manejo das cigarrinhas da folha e raiz da cana-de-açúcar, podendo ser direcionado para utilização no

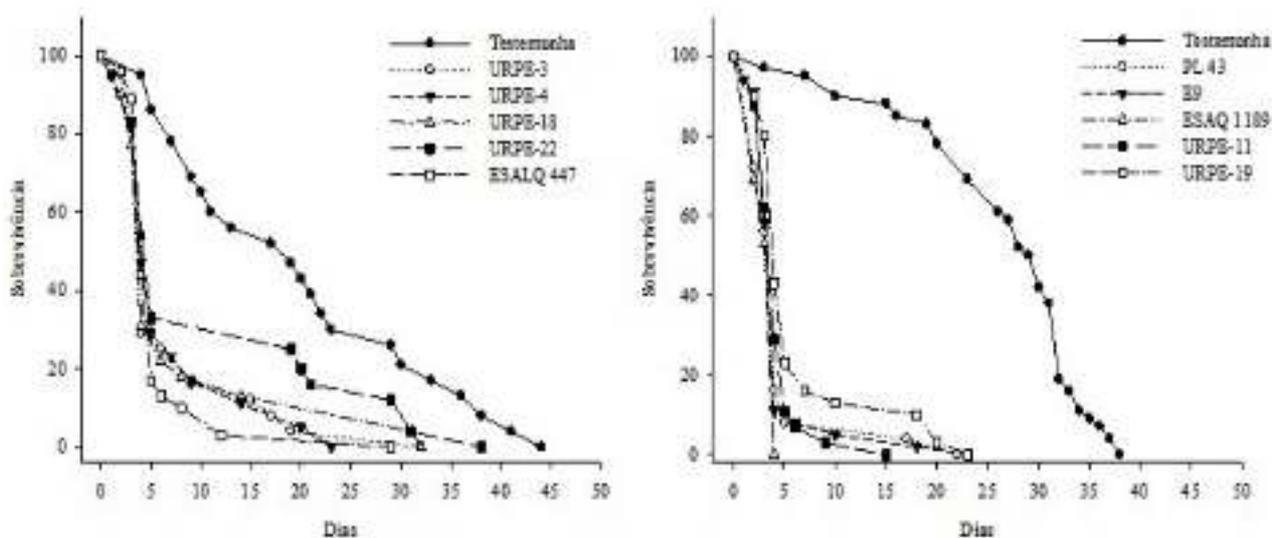


Figura 1: Sobrevivência de lagartas de *D. flavipennella* tratada com isolados de *B. bassiana* (a) e *M. anisopliae* (b) na concentração 10^7 conídios mL⁻¹. Temp.: 27 ± 2 °C; UR $70 \pm 10\%$.

manejo integrado das brocas *Diatraea* spp. nos canaviais brasileiros.

Determinação das concentrações letais (CL₅₀) de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre lagartas de *D. flavipennella*

Com base nos valores de mortalidade confirmada e sobrevivência das lagartas tratadas com os fungos, os isolados ESALQ 447 de *B. bassiana* e ESALQ 1189 de *M. anisopliae* foram selecionados para a determinação da CL₅₀. A CL₅₀ do isolado ESALQ 447 de *B. bassiana* foi estimada em $1,2 \times 10^7$ conídios/mL com limites inferior e superior de $7,4 \times 10^6$ e $2,6 \times 10^7$, respectivamente ($\chi^2 = 0,47$; $P = 0,9244$). Em relação ao isolado ESALQ 1189 de *M. anisopliae* a CL₅₀ foi estimada em $1,2 \times 10^7$ conídios/mL com limites inferior e superior de $4,4 \times 10^6$ e $8,3 \times 10^7$, respectivamente ($\chi^2 = 5,47$; $P = 0,3614$). As informações acerca da Concentração Letal (CL₅₀) para fungos entomopatogênicos são importantes uma vez que,

serve como base para utilização de concentrações economicamente viáveis no controle da praga em nível de campo.

Conclusões

Os fungos, *B. bassiana* e *M. anisopliae*, são potenciais agentes no manejo de *D. flavipennella* uma vez que mostraram-se patogênicos as formas imaturas desta broca. A utilização desses entomopatogênicos representa uma alternativa viável de manejo integrado de *D. flavipennella*, uma vez que *M. anisopliae* já vem sendo produzido e utilizado no controle das cigarrinhas da cana-de-açúcar, *Mahanarva* spp. e *B. bassiana* é produzido da mesma forma para controle de outros insetos.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão da bolsa ao primeiro autor.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, L.C. et al. Determinação da

- patogenicidade do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., sobre ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) de diferentes idades. **Brasil açucareiro**, Rio de Janeiro, v.102, n.2, p.20-27, 1984.
- ALVES, S.B. et al. Fungos Entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.69-110.
- ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. In: **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 39-54.
- ALVES, S.B.; MORAES, S.A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.765-777.
- ARAÚJO, J.R. et al. Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.) **Saccharum APC**, São Paulo, v.36, p.45-48, 1985.
- BOTELHO, P.S.M. Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). Piracicaba, 1985. 110p. (Tese de Doutorado) - ESALQ/USP.
- CÉSAR FILHO, E. et al. Selection of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) and *Beauveria bassiana* (Bals.) isolates to control *Alabama argillacea* (Huebner) caterpillars. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, p.457-462, 2002.
- DINARDO-MIRANDA, L.L. Pragas. In: **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. p.349-404.
- EKESI, S. et al. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes to the legume pod borer, *Maruca vitrata* and the pod sucking bug, *Clavigralla tomentosicollis*. **Crop Protection**, Guildford, v.21, p.589-595, 2002.
- FERREIRA, J.F. et al. Efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre ovos de *Alabama argillacea* (Huebner.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Magistra**, Cruz das Almas, v.17, p.119-123, 2005.
- FIGUEIRÊDO, M.F.S. et al. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra a broca gigante da cana-de-açúcar *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31: p.397- 403, 2002.
- GALLO, D. et al. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- HENSLEY, S.D.; HAMMOND JR, A.M. Laboratory technique for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal Economic Entomology**, College Park, v.61, p.1742-1743, 1968.
- MELLINI, E. Importanza dell'età dell'uovo, al momento della parassitizzazione, per la biologia degli imenotteri oofagi. **Bollettino dell'Intituto di Entomologia Guido Grandi della Univesità de Bologna**, Bologna, v.41, p.1-21, 1986.
- MENDONÇA, A.F. et al. As brocas da cana-de-açúcar, *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Pyralidae). In: **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Insetos e Cia, 1996. p.51-82.
- MOCHI, D.A. et al. Efficiency of entomopathogenic fungi in the control of eggs and larvae of the horn fly *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Veterinary Parasitology**, Netherlands, v.167, p.62-66, 2010.
- PARRA, J.R.P. et al. **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 586p.
- PINTO, A.S. **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol, 2006. 64p.
- PINTO, A.S. et al. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2009. 160p.
- ROCHA, R.B. et al. Compatibilidade e efeito de produtos comerciais à base de nim e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Metamasius hemipterus* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Magistra**, Cruz das Almas, v.24, p.39-51, 2012.
- SAMUELS, R.I. et al. Infection of *Blissus antillus* (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. **Biological Control**, Palo Alto, v.23, p.269-273, 2002.
- SAS INSTITUTE. 1999-2001. **SAS user's guide: Statistics**, version 8.2, 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- SILVA, V.C.A. et al. Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos Fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, p.653-658, 2003.
- WENZEL, I.M. et al. Patogenicidade do isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* à broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, p.259-261, 2006.
- WHITE, W.H. et al. Reevaluation of sugarcane

borer (Lepidoptera: Crambidae) bioeconomics in Louisiana. **Crop Protection**, Guildford, v.27, p.1256-1261, 2008.

ZAPPELINI, L.O. et al. Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. visando o controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, p.75-82, 2010.