

ASSOCIAÇÃO DE *Cotesia flavipes* (CAM.) COM *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL NO CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-
AÇÚCAR *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

CINTHIA CONCEIÇÃO MATIAS DA SILVA

(Sob Orientação do Professor Edmilson Jacinto Marques)

RESUMO

A cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* (L.) é uma cultura de grande importância econômica no Brasil pela produção de alimentos para o homem e animais, produção de álcool combustível para a indústria automobilística e co-geração de energia. Um dos fatores que limita a sua produtividade é a infestação de pragas que ocasionam perdas tanto na produção agrícola, como no rendimento industrial, pela diminuição de açúcar por tonelada de cana. O complexo de brocas pertencente ao gênero *Diatraea* constitui um dos principais problemas para a cultura da cana-de-açúcar em todas as regiões de cultivo. No Nordeste do Brasil ocorrem as espécies *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Diatraea flavipennella* (Box). Sabe-se que o principal método de controle das brocas do gênero *Diatraea* é através do endoparasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.), que foi introduzido no Brasil em 1974 e até os dias atuais é eficiente no controle dessa praga. No entanto, mais recentemente, o controle de *D. flavipennella* por *C. flavipes* tem sido questionado em virtude da crescente dominância dessa espécie na região. Assim, o presente trabalho tem como objetivos avaliar a interação do parasitoide *C. flavipes* em associação com os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill no controle de *D. flavipennella*, o efeito dos fungos entomopatogênicos sobre o parasitoide e quantificar a

predominância da espécie *D. flavipennella* nos canaviais de Pernambuco. A partir dos resultados, espera-se esclarecer a hipótese, oferecendo subsídio para otimizar o controle de *D. flavipennella*. Os experimentos foram desenvolvidos em laboratório e os levantamentos nas diferentes regiões canavieiras de Pernambuco.

PALAVRAS-CHAVE: Interação de agentes de controle biológico, brocas da cana-de-açúcar, fungos entomopatogênicos.

ASSOCIATION OF *Cotesia flavipes* (CAM) WITH *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROK. AND *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL IN CONTROL OF BORER SUGARCANE
Diatraea flavipennella (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

CINTHIA CONCEIÇÃO MATIAS DA SILVA

(Sob Orientação do Professor Edmilson Jacinto Marques)

ABSTRACT

Sugarcane *Saccharum officinarum* (L.) is a crop of great economic importance in Brazil by food production for man and animals, production of ethanol fuel for automotive, and energy cogeneration. One factor that limits the sugarcane productivity is the pests' infestation that causes losses in agricultural production and in industrial yield due to the sugar decrease per cane ton. The moth borers complex belonging to the *Diatraea* genus is one of the main problems for the cultivation of sugarcane in all growing regions. In northeastern Brazil, there are the *Diatraea saccharalis* (Fabr.) and *Diatraea flavipennella* (Box) species. It is known that the main method of controlling moth borers of *Diatraea* genus is through *Cotesia flavipes* (Cam.) larval endoparasitoid, which was introduced in Brazil in 1974 and until today is effective in controlling this pest. However, more recently, the *D. flavipennella* controlling by *C. flavipes* has been questioned due to the increasing dominance of this species in the region. Thus, this work aims to assess the interaction of *C. flavipes* parasitoid in association with the *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill fungi for controlling *D. flavipennella*, the effect of entomopathogenic fungi on the parasitoid, and the predominance quantify of *D. flavipennella* species in the sugar plantations of Pernambuco State, Brazil. Based on results found

in this work, it is expected to clarify the situation, offering subsidy to optimize *D. flavipennella* control. The experiments were carried out in laboratory and surveys in sugarcane plantations in different regions of Pernambuco.

KEYWORDS: Interaction of biological control agents, moth borers of sugarcane, entomopathogenic fungi.

ASSOCIAÇÃO DE *Cotesia flavipes* (CAM.) COM *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL NO CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-
AÇÚCAR *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

CINTHIA CONCEIÇÃO MATIAS DA SILVA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2013

ASSOCIAÇÃO DE *Cotesia flavipes* (CAM.) COM *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL NO CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-
AÇÚCAR *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

CINTHIA CONCEIÇÃO MATIAS DA SILVA

Comitê de Orientação:

Edmilson Jacinto Marques - UFRPE

José Vargas de Oliveira – UFRPE

Auristela Correia Albuquerque -UFRPE

RECIFE - PE

Fevereiro – 2013

ASSOCIAÇÃO DE *Cotesia flavipes* (CAM.) COM *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL NO CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-
AÇÚCAR *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

por

CINTHIA CONCEIÇÃO MATIAS DA SILVA

Orientador:

Edmilson Jacinto Marques - UFRPE

Examinadores:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Auristela Correia Albuquerque -UFRPE

Elza Áurea de Luna Alves Lima – UFPE

Laurici Maria Pires dos Santos- IFPE

Ao nosso grande Deus, por me dar a vida e
pessoas maravilhosas para
compartilhá-la.

DEDICO

As pessoas que tanto amo e que me ajudam a
tornar-me uma pessoa melhor a cada
dia, em especial ao meu querido avô
José do Amaral Dantas (*In memoriam*).

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, força e coragem nas horas de dificuldade ajudando-me a alcançar meus objetivos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Ao Programa de Apoio ao Plano de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI) pela concessão da bolsa de estudo.

A minha grande e querida família, que me ama acima de tudo e sempre está do meu lado;

Ao professor Edmilson Jacinto Marques, pela grande amizade, confiança, orientação e ajuda durante o desenvolvimento dos experimentos.

Ao professor José Vargas de Oliveira, pela amizade e valiosa coorientação.

A professora Auristela, pela amizade e coorientação.

Aos amigos do Laboratório de Patologia, Ricardo, Davilla, Bruno, Anderson, Liliane, Ana Paula, Rebeka, Flavia e Rodrigo pela amizade e ajuda nos experimentos.

As “Edmilsas”, Ellen, Jennifer e Eliana, que colaboraram com a realização desta Tese, pela grande amizade e por muitos momentos de alegria que sempre serão lembrados.

Aos amigos de turma, em especial a Wagner, pela valiosa ajuda com a estatística.

Aos funcionários das Usinas, que colaboraram com material para iniciar nossa criação e com o trabalho de levantamento: Usina Giasa – Dr. Bartolomeu e Seu Doda; Usina Olho d’agua – Dr. Marcos Mendonça, Samuel e Moacir; Usina São José – Dr. Antonio Lima, Dr. Sinval e Sandro; Usina Trapiche – Dr. Cauby Pequeno e Eduardo; Usina União Indústria – Dr. Júlio Costa e Paulo.

Aos funcionários da Estação de cana-de-açúcar de Carpina – Dr. Djalma, Dra. Andrea e em especial ao Técnico Agrícola Elder.

A Darcy, Romildo e Ariella pela presteza excepcional em serviços do Curso de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola.

Aos demais professores da área de Entomologia Agrícola do curso de Pós-Graduação, em especial aos das disciplinas cursadas.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	06
2 PREDOMINÂNCIA DE ESPÉCIES DE <i>Diatraea</i> spp. (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM CANAVIAIS DO ESTADO DE PERNAMBUCO.....	09
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
AGRADECIMENTOS.....	14
LITERATURA CITADA.....	15
3 INTERAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E O PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i> (CAM.) PARA O MANEJO DE <i>Diatraea flavipennella</i> (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE).....	19
RESUMO.....	20
ABSTRACT.....	21
INTRODUÇÃO	22
MATERIAL E MÉTODOS	24

	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
	AGRADECIMENTOS	29
	LITERATURA CITADA	29
4	EFEITO DE <i>Metarhizium anisopliae</i> (METSCH.) SOROK E <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILL NAS DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DO PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i> (CAM.) EM <i>Diatraea flavipennella</i> (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE).....	34
	RESUMO.....	35
	ABSTRACT.....	36
	INTRODUÇÃO	37
	MATERIAL E MÉTODOS	38
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
	AGRADECIMENTOS	46
	LITERATURA CITADA	46

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* (L.) é uma monocotiledônea perene, herbácea, da família Poaceae, própria de climas tropicais e subtropicais, originária do sudeste da Ásia. É considerada uma cultura de grande importância econômica, sendo cultivada em vários países no mundo, principalmente em países situados na região tropical. O Brasil, que é o maior produtor de cana-de-açúcar, apresentou a safra de 2012/2013 estimada em aproximadamente 596 milhões de toneladas, das quais 300 milhões de toneladas foram destinadas para a fabricação de açúcar e 296 milhões de toneladas para a produção de álcool. Foram produzidos aproximadamente 39 milhões de toneladas de açúcar e 23,5 bilhões de litros de álcool (CONAB 2012). Em Pernambuco, segundo maior produtor de cana-de-açúcar do Nordeste, a safra de 2012/2013 foi estimada em 15 milhões de toneladas, com produção de cerca de 290 mil m³ de etanol e em torno de 1,3 milhões de toneladas de açúcar (SINDAÇÚCAR 2012).

Considerada uma das principais pragas da cana-de-açúcar nas Américas, as lagartas do gênero *Diatraea* spp. provocam injúrias devido ao hábito de perfurar a cana jovem, causando a morte da gema apical, enquanto na cana adulta provoca brotações laterais, enraizamento aéreo, atrofiamento dos entrenós e tombamento, reduzindo os rendimentos agrícola e industrial (Mendonça 1996). As lagartas, ao penetrar no colmo, formam galerias favorecendo a entrada de fungos que causam a podridão vermelha, induzida pelos fungos *Colletotrichum falcatum* (Went) e *Fusarium moniliforme* (Sheldon), os quais invertem a sacarose, diminuindo a pureza do caldo e o rendimento em açúcar (Gallo *et al.* 2002).

No Brasil, foram assinaladas por Box 16 espécies de *Diatraea* durante os anos de 1931 até 1959, e entre essas espécies somente quatro foram comprovadas atacando cana-de-açúcar no País:

D. albicrinella (Box), *D. flavipennella* (Box), *D. impersonatella* (Walk.) e *D. saccharalis* (Fabr.). Entre essas, apenas *D. saccharalis* e *D. flavipennella* predominam na cana-de-açúcar (Guagliumi 1972/73).

A espécie *D. flavipennella*, conhecida como broca da cabeça amarela, é considerada uma praga importante, que provoca injúrias na cana-de-açúcar semelhantes aos causados por *D. saccharalis* (Freitas *et al.* 2007). Sua distribuição, diferentemente da *D. saccharalis*, que se encontra difundida ao longo do Brasil, é restrita aos estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Sergipe, Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Guagliumi 1972/73, Mendonça 1996, Freitas *et al.* 2006).

Relatórios sobre levantamentos das espécies de *Diatraea* spp. realizados no estado de Pernambuco, no período de 1973 até 1986, mostraram um aumento na incidência da espécie *D. flavipennella* sobre *D. saccharalis*. Após essa data, nenhum levantamento foi realizado, mostrando assim a importância de novas informações para quantificar essa predominância (PLANALSUCAR/CONOR 1973-1986).

Freitas *et al.* (2006), verificando a incidência de *D. flavipennella* no estado de Alagoas, observaram predominância acima de 97% dessa praga nos canaviais em relação à *D. saccharalis*. Portanto, existe a necessidade da realização de levantamentos populacionais no estado de Pernambuco visando à constatação da porcentagem de predominância de *D. flavipennella*, bem como dos parasitoides presentes, visando à efetivação da forma correta e economicamente viável de seu controle.

No Brasil, estudos sobre *Diatraea* spp. foram incrementados em 1972 pelo PLANALSUCAR (Programa Nacional de Melhoramento de cana-de-açúcar), com levantamentos de infestação e desenvolvimento de um programa de controle biológico. Inicialmente, foram testadas a criação e a liberação de *Lixophaga diatraea* (Townsend), não tendo sido obtidos resultados

positivos. Continuou-se com a produção de parasitoides nativos, os taquinídeos *Lydella minense* (Townsend) e *Billaea claripalpis* (Wulp.), que também não apresentaram resultados satisfatórios. Posteriormente, em 1974 no estado de Alagoas, foram iniciadas pesquisas com o parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) (PLANALSUCAR 1985).

No manejo integrado das brocas da cana-de-açúcar vem sendo utilizado principalmente o controle biológico, com parasitoides que são multiplicados em laboratório e liberados no campo. Entre eles, *C. flavipes* é um exemplo de sucesso de controle biológico clássico (Mendonça *et al.* 1977). Dez anos depois da introdução do parasitoide na região Sudeste, foram realizados levantamentos do parasitismo sobre *Diatraea* spp. em locais de liberações de *C. flavipes*, e observou-se que ocorreu um crescimento no parasitismo: de 13,77% em 1975 para 21,19% em 1984 e nos últimos anos é responsável por mais de 80% do parasitismo total (PLANALSUCAR 1985, Botelho & Macedo 2002). Dessa forma, o controle das brocas do gênero *Diatraea* acontece por meio de liberações de forma inundativas do parasitoide, visando interromper o crescimento populacional da praga (Pinto *et al.* 2006).

O endoparasitoide larval *C. flavipes*, apresenta desenvolvimento holometabólico, com ciclo de vida que pode variar de 16-25 dias, dependendo da temperatura e idade do hospedeiro. O período de parasitismo é de 3-6 dias, o período de ovo e larva dura de 11-18 dias e o de pré-oviposição tem uma duração de menos de 24h (Bennet 1977).

A vespilha introduz o ovipositor na lagarta, depositando simultaneamente vários ovos no seu interior. Então, as larvas do parasitoide ao eclodirem se alimentam dos tecidos do hospedeiro. E no último estágio, as larvas migram para fora do corpo do hospedeiro, tecem casulos, formando pupas no seu interior. Dos casulos de coloração branca, que unidos formam uma “massa” branca, emergem os adultos (Pinto *et al.* 2006).

Segundo Botelho & Macedo (2002), a localização do hospedeiro pela fêmea de *C. flavipes* é mediada por uma substância hidrossolúvel, presente em fezes secas ou reidratadas de lagartas de *D. saccharalis*. O parasitoide, em contato com as fezes, é induzido ao comportamento de procura, caracterizado por uma redução no ritmo de locomoção e toque das fezes com as antenas. As fêmeas de *C. flavipes* também utilizam estímulos olfativos para localizar plantas infestadas por hospedeiros. Em experimento com o olfatômetro de tubo Y, utilizando pistas olfativas, Potting *et al.* (1997) demonstraram que a maior fonte de voláteis do complexo planta-hospedeiro é o colmo que foi injuriado pela lagarta, incluindo-se aí as fezes produzidas pelas larvas. Também utilizando olfatômetro, Mesquita *et al.* (2011) avaliaram a influência de variedades de cana-de-açúcar no comportamento reprodutivo de *D. flavipennella* e a atração sobre *C. flavipes*, tendo observado que, independentemente da variedade das plantas hospedeiras estudadas, o comportamento reprodutivo dos adultos seguiu um padrão semelhante e que a atração de *C. flavipes* foi maior em plantas infestadas. Em outro experimento, em que foram utilizadas pistas olfativas e visuais, foi testada a preferência de *C. flavipes* por dois hospedeiros, tendo sido observado que o parasitoide foi igualmente capaz de localizar as espécies *D. saccharalis* e *D. flavipennella*, não apresentando preferência por alguma delas (Silva *et al.* 2012).

O controle microbiano é um método importante utilizado no manejo integrado de pragas da cana-de-açúcar, destacando-se a participação do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok (isolado PL-43) no controle da cigarrinha *Mahanarva posticata* (Stal.), sendo considerado um dos programas de sucesso. Outro fungo que se destaca em programas de controle microbiano é *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., utilizado no controle de várias pragas e mais recente, foi utilizado, experimentalmente, para o controle da broca gigante *Telchin licus licus* (Drury) em cana-de-açúcar (Alves 1998, Marques *et al.* 2008).

O potencial do uso de isolados de *M. anisopliae* no controle microbiano de insetos foi testado por Sosa-Gómez & Alves (1983) sobre a broca *D. saccharalis*, tendo os autores considerado como principais caracteres não só a produção de conídios em meio artificial, mas também sua virulência e sua resistência à radiação ultravioleta. Wenzel *et al.* (2006) realizaram testes em laboratório com o isolado de *B. bassiana* IBCB 66 e verificaram que esse isolado foi considerado patogênico à *D. saccharalis* em todas as concentrações testadas, sendo que a mortalidade aumentou com o tempo e com as concentrações. Valente *et al.* (2011), estudando alternativas de controle para *D. flavipennella*, testaram alguns isolados dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos e lagartas e verificaram que os fungos são patogênicos, porém *M. anisopliae* proporcionou maior patogenicidade, sendo assim, apresentam potencial para serem utilizados no Manejo Integrado desta praga.

A interação entre entomopatógenos e outros agentes biológicos que atuam sobre espécies pragas é de grande importância quando se busca o emprego do manejo integrado, priorizando os agentes de controle biológico. Por outro lado, a interferência dos patógenos competindo com parasitoides e predadores podem reduzir a eficiência de ambos, e dificultar a introdução do patógeno. Folegatti (1987), em experimentos utilizando *M. anisopliae* com *Apanteles flavipes* (Cam.), *L. minense* e *B. claripalpis*, observou que a aplicação conjunta do fungo com os parasitoides de *D. saccharalis* foi mais eficiente que a aplicação do fungo isoladamente e também que *M. anisopliae* não afetou o desenvolvimento de larvas dos parasitoides.

Estudos foram realizados para a comprovação dos efeitos das diferentes interações entre fungos e parasitoides. Santos Jr. *et al.* (2006) investigaram a interação entre os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* e o parasitoide larva-pupa *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) sobre larvas de *Plutella xulostella* (L.), e os patógenos permitiram o desenvolvimento do parasitoide, independentemente do momento de pulverização ou exposição das larvas ao parasitoide.

Entretanto, Potrich *et al.* 2009, estudando a interação entre os fungos de *B. bassiana* e *M. anisopliae* e o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley, concluíram que esses agentes de controle podem ser utilizados conjuntamente, porém deve ser feito com critério, pois pode haver interferência na emergência do parasitoide. Rashki *et al.* 2009, avaliando a interação entre *B. bassiana* e o parasitoide *Aphidius matricariae* Haliday, observaram que o fungo pode ter um efeito adverso sobre o desenvolvimento do parasitoide, se liberado após a aplicação do fungo. Portanto, a combinação desses dois agentes biológicos requer gerenciamento do tempo para evitar interações antagônicas.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o desempenho de *C. flavipes* juntamente com *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre *D. flavipennella*, fornecer informações sobre novas estratégias para utilização no Manejo Integrado das brocas da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil, além disso, quantificar a predominância das espécies de *Diatraea* nos canaviais de Pernambuco.

Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos Entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Bennet, F.D. 1977.** A comparison of the reproductive strategies and certain other biological characteristics of *Apanteles* spp. and the tachinid parasites of *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Anais da ISSCT 1: 523-527.
- Botelho, P.S.M. & N. Macedo. 2002.** *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, p. 477-494. In J.R.P Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento, (ed.), Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores São Paulo, Manole, 635p.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2012.** Safra da cana-de-açúcar. Fonte consultada: www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t= . Acesso dia 25/10/2012.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.

- Guagliumi, P. 1972/73.** Pragas da Cana-de-açúcar (Nordeste do Brasil). Instituto do Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro, 622p.
- Folegatti, M.E.G. & S.B. Alves. 1987.** Interação entre o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., e os principais parasitóides da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). An. Soc. Entomol. Brasil 16: 351-362.
- Freitas, M.R.T., A.P.P. Fonseca, E.L. Silva, A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.L. Mendonça, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2006.** The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane fields in the State of Alagoas, Brazil. Fl. Entomol. 89: 539-540.
- Freitas, M.R.T., E.L. Silva, A.L.Mendonça, C.E. Silva, A.P.P. Fonseca, A.L. Mendonça, J. S. Santos, R. R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2007.** The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. Fl. Entomol. 90: 309-313.
- Marques, E.J., R.O.R. Lima, R.M. Andrade & J.M. Araújo Jr. 2008.** Controle biológico das brocas. *Diatraea* spp, *Telchin licus licus* e cigarrinhas *Mahanarva* spp em cana-de-açúcar, p. 95-111. In M. Vezon, T.J. Paula Jr. & A. Pallini (Org.), Avanços no controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa, EPAMIG, 283p.
- Mendonça, A.F., S. H. Risco & J. M. B. Costa. 1977.** Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in Brazil. Anais da ISSCT 1: 703-710.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A. F. Mendonça (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Mesquita, F.L.T., A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.M.O. Correia, D.F.M. Sales, C.R. Cabral-Junior & R.R. Nascimento. 2011.** Influence of *Saccharum officinarum* (Poales: Poaceae) variety on the reproductive behavior of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) and on the attraction of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). Fl. Entomol. 94: 420-427.
- Pinto, A.S., J.F. Garcia & P.S.M. Botelho. 2006.** Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, p. 65-74. In: A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (org), Controle biológico de pragas: na prática. Piracicaba, FEALQ, 287p.
- PLANALSUCAR (Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar). 1985.** Entomologia. p. 36-40. In Relatório anual. MIC- Instituto do açúcar e do álcool. Piracicaba, SP, 167p.
- PLANALSUCAR/CONOR (Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar/ Coordenadoria Regional Norte). 1973-1986.** Entomologia. In Relatório anual. MIC- Instituto do açúcar e do álcool. Carpina, PE.

- Potting, R.P.J., L.E.M. Vet & M. Dicke. 1997.** Host microhabitat location by stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. *J. Chem. Ecol.* 21: 525-539.
- Potrich, M., L.F.A. Alves, J. Haas, E.R.L. Silva, A. Daros, V. Pitrowski & P.M.O.J. Neves. 2009.** Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotrop. Entomol.* 38:822-826.
- Rashki, M., A. Kharazi-padkdel, H. Allahyari & J.J.M. Van Alphen. 2009.** Interactions among the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Ascomycota:Hypocreales), the parasitoid, *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Braconidae), and its host, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Biol. Control* 50:324-328.
- Santos Jr., H.J.G., E.J. Marques, R. Barros & M.G.C. Gondim Jr. 2006.** Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidóptera: Plutellidae). *Neotrop. Entomol.* 35:241-245.
- Silva, C.C.M., E.J. Marques, J.V. Oliveira & E.C.N. Valente. 2012.** Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Sci. Agron.* 34:23-27.
- SINDAÇÚCAR (Sindicato da indústria do açúcar e do álcool no estado de Pernambuco). 2012.** Safra da cana-de-açúcar. Fonte consultada: www.sindacucar.com.br/noticias_estatisticas.html. Acesso dia 25/10/2012.
- Sosa-Gómez, D.R. & S.B. Alves. 1983.** Caracterización do once aislamiento de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. I. Estandarización, virulência y actividad enzimática. *CIRPON-Rev. Invest.* 1: 83-101.
- Valente, E.C.N. 2011.** Efeito de Fungos Entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (BOX) (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 34p.
- Wenzel, I.M., F.H.C. Giometti & J.E.M. Almeida. 2006.** Patogenicidade do isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 73:259-261.

CAPÍTULO 2

PREDOMINÂNCIA DE ESPÉCIES DE *Diatraea* spp. (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM CANAVIAIS DO ESTADO DE PERNAMBUCO

CINTHIA C.M. SILVA¹, EDMILSON J. MARQUES¹, JOSÉ V. OLIVEIRA¹, AURISTELA C.
ALBUQUERQUE² E ANDERSON V.A. MACHADO¹

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Biologia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

¹Silva, C.C.M., E.J. Marques, J.V. Oliveira, A.C. Albuquerque & A.V.A. Machado. Predominância de espécies de *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) em canaviais do estado de Pernambuco. Artigo a ser submetido.

RESUMO – A broca da cana-de-açúcar *Diatraea flavipennella* (Box), tem predominado nos canaviais nordestinos, segundo trabalhos realizados entre os períodos de 1973-1986. Após essa data, nenhum levantamento foi realizado. Assim, o objetivo desse trabalho foi quantificar a situação atual de espécies de *Diatraea* spp. em canaviais de Pernambuco. Para isso, foram feitas coletas mensais no período de abril de 2011 a abril de 2012, nas Usinas Central Olho D’água, São José, União Indústria e Trapiche, representantes das regiões canavieiras de Pernambuco. O delineamento utilizado nos levantamentos foi o inteiramente casualizado, sendo avaliadas em cada Usina, cinco engenhos em três pontos distintos. As canas coletadas foram levadas ao Laboratório de Patologia de Insetos, onde foi feita a contagem das formas biológicas encontradas em cada amostra e a identificação das espécies de *Diatraea*. Os resultados demonstram que em todas as usinas avaliadas houve predominância de 99,15% da espécie *D. flavipennella*. Sendo que, nas Usinas Central Olho d’água, Trapiche e União indústria foi encontrada apenas a espécie *D. flavipennella*. Entretanto, na Usina São José, apesar da pequena quantidade (0,85%), também foram encontradas lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Portanto, constatou-se que a espécie *D. flavipennella* continua predominando sobre *D. saccharalis*.

PALAVRAS-CHAVE: *Diatraea flavipennella*, *Diatraea saccharalis*, cana-de-açúcar, levantamento de espécies

PREDOMINANCE OF SPECIES *Diatraea* spp. (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) IN THE
STATE OF PERNAMBUCO SUGARCANE

ABSTRACT – *Diatraea flavipennella* (Box), sugarcane moth borer, has prevailed in the northeastern sugarcane fields according to reports made from 1973 to 1986. After this date, no survey was performed. This study aimed to assess the prevalence of *Diatraea* spp. species in plantations of Pernambuco State, Brazil. For this purpose, samples were collected monthly from April, 2011, to April, 2012, in Central Olho D'Água, São José, União Indústria, and Trapiche sugarmills, representatives of sugarcane fields from Pernambuco. The survey was completely in randomized design; five mills in three distinct points were evaluated in each sugarmill. Canes were collected and taken to the Laboratory of Insect Pathology, where the biological forms found in each sample were counted and *Diatraea* species were identified. Results show that in all evaluated plants predominated 99.15% of the *D. flavipennella* species. But in plants in Central Olho d'Água, Trapiche, and União Indústria sugarmills just *D. flavipennella* species. However, in São José sugarmill, despite the small amount that evaluated in all plants predominated 99.15% of the *D. flavipennella* species. But in plants (0.85%), larvae of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) were also found. Therefore, it was it was found that the *D. flavipennella* species predominate over *D. saccharalis*.

KEY WORDS: *Diatraea flavipennella*, *Diatraea saccharalis*, sugarcane, species survey

Introdução

A cultura da cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* (L.) forma um agroecossistema que abriga numerosas espécies de insetos, sendo que algumas delas, dependendo da época do ano e da região, podem ocasionar sérios prejuízos econômicos. Entre as pragas de maior importância que infestam os canaviais do Nordeste, destacam-se a broca gigante *Telchin licus licus* (Drury), as brocas *Diatraea* spp e as cigarrinhas da folha *Mahanarva posticata* (Stal.) e da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Stal.) (Lima & Marques 1985, Mendonça 1996, Mendonça *et al.* 2005).

Existem cerca de 21 espécies do gênero *Diatraea* ocorrendo em cana-de-açúcar no continente americano, mas nem todas as espécies causam danos à cultura. Deste total, duas espécies são importantes como insetos praga: *Diatraea saccharalis* (Fabr.), com ocorrência em todo o país, e *Diatraea flavipennella* (Box), encontrada no Rio de Janeiro, Minas Gerais e nos estados nordestinos, onde apresenta maior importância (Mendonça, 1996). Conhecida como broca da cabeça amarela da cana-de-açúcar, *D. flavipennella* é uma praga importante nos canaviais do Nordeste do Brasil, provocando injúrias na cana-de-açúcar semelhantes às causadas por *D. saccharalis* (Freitas *et al.* 2007).

Os levantamentos de campo realizados entre 1975 e 1977 indicaram que, com exceção do estado de São Paulo, onde foi encontrada apenas *D. saccharalis*, nos estados de Rio de Janeiro e Alagoas havia predominância desta espécie. Porém, nos estados de Pernambuco, Sergipe e Bahia, havia predominância de *D. flavipennella* (PLANALSUCAR 1977).

Levantamentos das espécies de *Diatraea* spp. no estado de Pernambuco, no período de 1973 até 1986, mostraram um aumento na incidência de *D. flavipennella* sobre *D. saccharalis*, (PLANALSUCAR/CONOR 1973-1986). Após essa data, nenhum levantamento foi feito, mostrando assim a importância de novas informações para quantificar essa predominância.

Freitas *et al.* (2006), verificaram a incidência de *D. flavipennella*, no Estado de Alagoas e observaram predominância dessa praga nos canaviais, em relação à *D. saccharalis*. Portanto, o objetivo desse trabalho foi realizar levantamentos no estado de Pernambuco, visando a atualização de dados relacionados à quantificação da predominância da espécie *D. flavipennella*, bem como dos parasitoides presentes, tendo em vista a efetivação de forma correta e economicamente viável do seu controle.

Material e Métodos

Os levantamentos foram realizados em usinas da Zona da Mata Sul e Norte e Litoral Sul e Norte de Pernambuco. Posteriormente, a quantificação das espécies coletadas foi realizada no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da UFRPE.

Levantamento das Espécies de *Diatraea* spp. em Canaviais de Pernambuco. As coletas foram realizadas mensalmente no período de abril de 2011 a abril de 2012, nas Usinas Central Olho d'Água, São José, União Indústria e Trapiche, que envolvem as regiões edafoclimáticas da zona canavieira de Pernambuco. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo avaliadas em cada Usina, cinco engenhos em três pontos, cada um constando de dois metros lineares, coletando apenas as canas brocadas, iniciando na cana-planta com três meses de idade até a colheita. As canas coletadas foram levadas ao Laboratório de Patologia de Insetos, onde foram feitas a contagem de todas as formas biológicas encontradas em cada amostra e a identificação das espécies de *Diatraea*, através de caracteres morfológicos das lagartas e dos adultos (Fig. 1). Os parâmetros avaliados foram identificação das espécies coletadas e a quantificação das mesmas.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que nas Usinas Central Olho d'Água, Trapiche e União indústria foi encontrada apenas a espécie *D. flavipennella*, que apresentou elevada predominância (99,15%). Entretanto, na Usina São José, apesar da baixa quantidade (0,85%), também foi encontrada lagartas de *D. saccharalis* (Figura 2). Este resultado foi esperado, baseado nos levantamentos feitos no estado de Pernambuco nos anos de 1973 a 1986, que mostraram a crescente dominância de *D. flavipennella* sobre *D. saccharalis* (PLANALSUCAR/CONOR 1973-1986). Essa dominância também pode ser observada em outros estados do Nordeste, como o estado da Bahia (99,20%), Sergipe (99,80%), Paraíba (98,95%), Rio Grande do Norte (100%) e Alagoas (97,67%) (PLANALSUCAR 1977, PLANALSUCAR/CONOR 1983, Freitas *et al.* 2006).

Com relação à incidência de *Diatraea* spp. nas usinas, observou-se que foi maior na Usina São José, seguida pela Usina Central Olho d'Água, que se localizam na Zona Norte do Estado (Figura 3). Nas coletas, além do material biológico da praga, também foram encontrados alguns inimigos naturais, sendo os parasitoides larvais predominantes, em primeiro lugar, e em maior quantidade foram encontradas massas de casulos de *C. flavipes* (68,8%), seguidos de pupas das moscas nativas *Billaea claripalpis* (Wulp) (20,4%) e *Lydella minensi* (Townsend) (9,3%), como também o predador conhecido como tesourinha, *Doru luteipes* (Scudder) (1,5%).

Dessa forma, pode-se concluir que a espécie *D. flavipennella* continua com elevada predominância em relação *D. saccharalis*, nos canaviais do estado de Pernambuco.

Agradecimentos

Às usinas, pela disponibilidade de pessoal para realização das coletas de cana-de-açúcar e principalmente aos funcionários Samuel, Moacir e Dr. Marcos Mendonça (Usina Central Olho

d'Água), Sandro, Dr. Sinval e Dr. Antônio Lima (Usina São José), Paulo e Dr. Júlio Costa (Usina União Indústria), Eduardo e Dr. Caubi Pequeno (Usina Trapiche) e também ao técnico agrícola Elder (Estação de Cana de Carpina- UFRPE), pela colaboração.

Literatura citada

- Freitas, M.R.T., A.P.P. Fonseca, E.L. Silva, A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.L. Mendonça, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2006.** The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane fields in the State of Alagoas, Brazil. Fl. Entomol. 89: 539-540.
- Freitas, M.R.T., E.L. Silva, A.L.Mendonça, C.E. Silva, A.P.P. Fonseca, A.L. Mendonça, J. S. Santos, R. R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2007.** The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. Fl. Entomol. 90: 309-313.
- Lima, R.O.R. & E.J. Marques. 1985.** Controle biológico das pragas da cana-de-açúcar no Nordeste. Boletim técnico. Piracicaba, MIC- Instituto do açúcar e do álcool. p.5-8.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A.F. Mendonça (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Mendonça, A. F., S. Flores & C.E. Sáenz. 2005.** Cigarrinhas da cana-de-açúcar na América Latina e Caribe, p. 51-90. In A.F. Mendonça (ed.), Cigarrinhas da Cana-de-açúcar: Controle biológico. Maceió, Insecta, 317p.
- PLANALSUCAR (Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar). 1977.** Entomologia. p. 26-41. In. Relatório anual. MIC- Instituto do açúcar e do álcool. Piracicaba, SP, 100p.
- PLANALSUCAR/CONOR (Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar/ Coordenadoria Regional Norte). 1983.** Entomologia. p. 01-29. In. Relatório anual. MIC- Instituto do açúcar e do álcool. Carpina, PE 92p.
- PLANALSUCAR/CONOR (Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-açúcar/ Coordenadoria Regional Norte). 1973-1986.** Entomologia. In Relatório anual. MIC- Instituto do açúcar e do álcool, Carpina, PE.



Figura 1. Caracteres morfológicos de espécimes de *Diatraea* spp., coletadas em usinas do estado de Pernambuco. A- *Diatraea saccharalis*; B- *Diatraea flavipennella*.

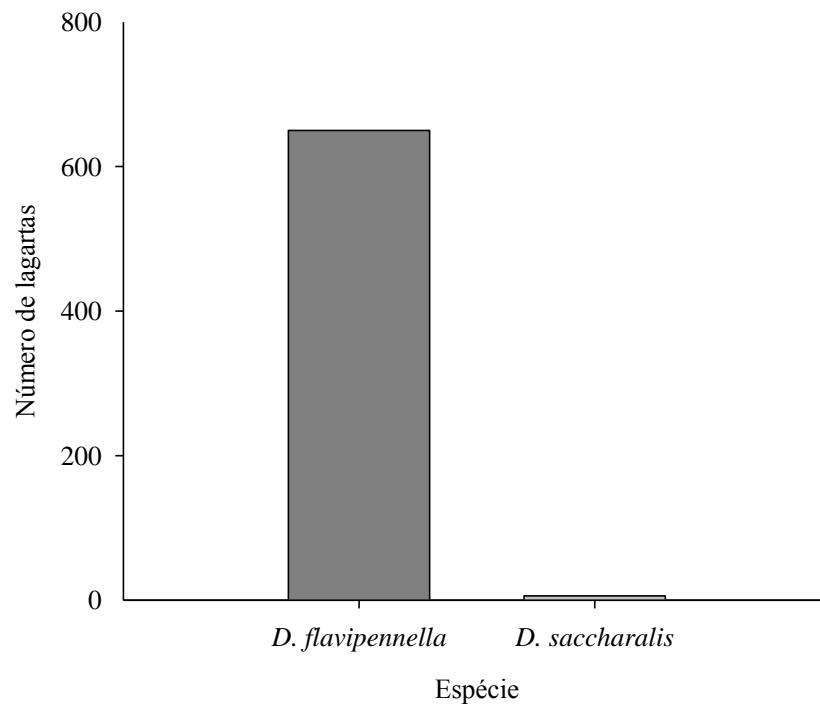


Figura 2. Número de lagartas de *Diatraea* spp., coletadas em usinas do Estado de Pernambuco. Período de Abril de 2011 a Abril de 2012.

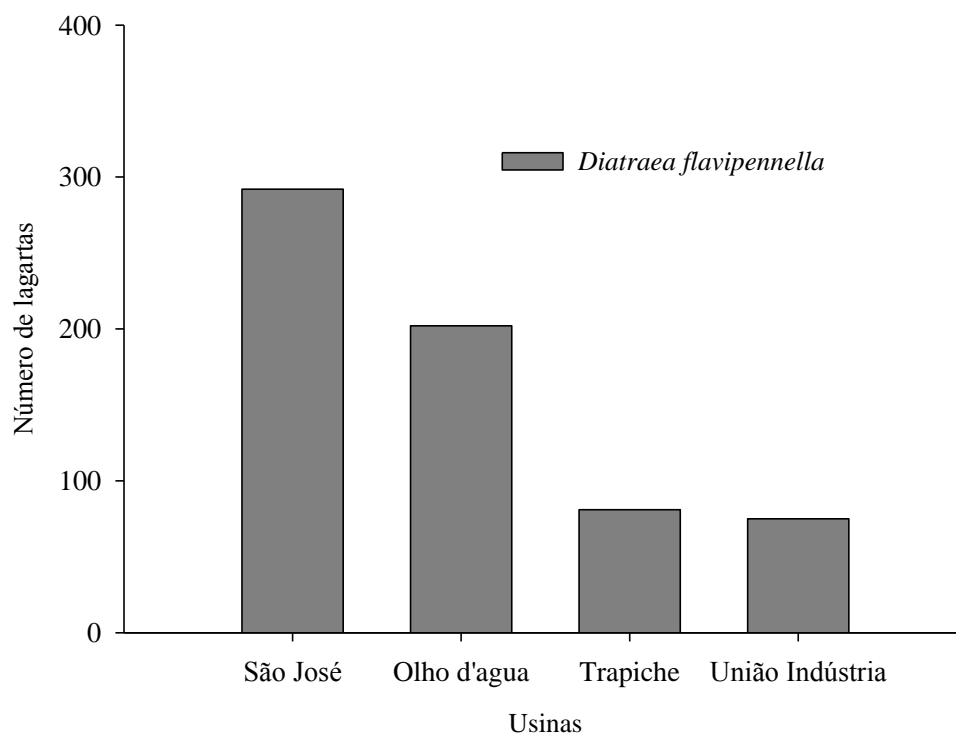


Figura 3. Número de lagartas de *D. flavipennella*, coletadas em usinas do Estado de Pernambuco.

Período de Abril de 2011 a Abril de 2012.

CAPÍTULO 3

INTERAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS COM O PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (CAM.) PARA O MANEJO DE *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

CINTHIA C. M. SILVA¹, EDMILSON J. MARQUES¹, JOSÉ V. OLIVEIRA¹, AURISTELA C. ALBUQUERQUE² E ELLEN C.N. VALENTE¹

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Biologia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

¹ Silva, C.C.M., E.J. Marques, J.V. Oliveira, A.C. Albuquerque & E.C.N. Valente. Interação de fungos entomopatogênicos com o parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) para o manejo de *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Submetido a Pesquisa Agropecuária Brasileira.

RESUMO – O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) juntamente com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill sobre *Diatraea flavipennella* (Box), fornecendo informações importantes sobre novas estratégias para utilização no Manejo Integrado das brocas da cana-de-açúcar. Nos experimentos, foram utilizados os isolados de *M. anisopliae* PL-43 e de *B. bassiana* ESALQ 447. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, constando de seis tratamentos com oito repetições, de cinco lagartas cada, totalizando 40 lagartas por tratamento. Os resultados mostraram que nos tratamentos em que se utilizou *M. anisopliae*, este causou elevadas mortalidades, porém não permitiu desenvolvimento do parasitoide, havendo mortalidade causada apenas pelo fungo. No entanto, nos tratamentos em que se utilizou *B. bassiana*, ocorreu desenvolvimento do parasitoide, causando nas lagartas mortalidade pelo fungo e pelo parasitoide. Contudo, a utilização de *B. bassiana* e *M. anisopliae* no Manejo Integrado de Pragas onde o parasitoide *C. flavipes* também é utilizado, deve ser feito com critério, pois os fungos podem interferir no desenvolvimento do parasitoide.

PALAVRAS-CHAVE: Broca da cana-de-açúcar, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Cotesia flavipes*

INTERACTIONS OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI WITH THE *Cotesia flavipes* (CAM.)
PARASITOID FOR MANAGEMENT OF *Diatraea flavipennella*(BOX) (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE)

ABSTRACT – This study aimed to evaluate the performance of *Cotesia flavipes* (Cam.) parasitoid along with *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill entomopathogenic fungi on *Diatraea flavipennella* (Box), providing important information on new strategies for being used in the Integrated Management of sugarcane moth borers. Isolates of *M. anisopliae* PL-43 and of *B. bassiana* ESALQ 447 were used for experiments. The experimental design was completely randomized, consisting of six treatments with eight replicates with five larvae each one, totaling 40 larvae per treatment. Results show that in treatments in which *M. anisopliae*, this caused high mortality, was used there was not parasitoid development, occurring mortality only by fungus. However, in treatments that used *B. bassiana* there was parasitoid development, causing mortality in larvae by fungus and by parasitoid. However, *B. bassiana* and *M. anisopliae* must be used with care in Integrated Pest Management in which *C. flavipes* parasitoid is also used, because fungi can affect the parasitoid development.

KEY WORDS: Sugarcane moth borer, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Cotesia flavipes*

Introdução

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância econômica e social no Brasil, ocupando as primeiras posições em termos de produção mundial. Constitui um produto agrícola de grande utilização desde a produção de açúcar e álcool até a alimentação animal. Um dos grandes problemas enfrentados por essa cultura é a susceptibilidade durante todo o seu desenvolvimento ao ataque das brocas da cana-de-açúcar do gênero *Diatraea*, que normalmente ocorre em menor incidência quando a cana é jovem, aumentando consideravelmente sua infestação com o desenvolvimento da planta (Gallo *et al.* 2002, Freitas *et al.* 2007).

No Brasil, foram assinaladas por Box 16 espécies de *Diatraea* durante os anos de 1931 até 1959 e entre essas somente foram comprovadas infestando cana-de-açúcar no País: *D. albicrinella*, *D. flavipennella*, *D. impersonatella* e *D. saccharalis* (Guagliumi 1972/73). Entre estas, apenas *D. saccharalis* e *D. flavipennella* predominam na cana-de-açúcar, sendo a primeira difundida ao longo do Brasil, enquanto a segunda é restrita aos estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Sergipe, Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Guagliumi 1972/73, Mendonça 1996, Freitas *et al.* 2006).

O controle biológico é o método mais utilizado para o controle das brocas da cana-de-açúcar, com utilização do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.), considerado eficiente desde a sua introdução até os dias atuais. O controle apresenta um aumento significativo, refletindo-se na redução dos danos (Botelho & Macedo 2002). A criação de *C. flavipes* é feita em laboratório, utilizando lagartas de *D. saccharalis* em dieta artificial, e posterior liberações do parasitoide no campo nas regiões Norte e Nordeste, onde apresenta controle eficiente sobre essa espécie de broca. Analisando a preferência de *C. flavipes* por *D. saccharalis* e *D. flavipennella*, Silva *et al.* (2012) observaram, ao testar pistas visuais e olfativas, através de voláteis liberados pelo

hospedeiro, que o parasitoide foi igualmente capaz de localizar as duas espécies de *Diatraea*, não apresentando preferência por um dos hospedeiros.

Outro programa de sucesso empregado no manejo integrado da cultura da cana-de-açúcar é a utilização de fungos entomopatogênicos, tendo como principal exemplo o controle das cigarrinhas *Mahanarva posticata* (Stal.) e *Mahanarva fimbriolata* (Stal.) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok (Alves 1998, Marques *et al.* 2008). A ação sobre as brocas pode ser observada em trabalhos que comprovam a eficiência desse patógeno. Wenzel *et al.* (2006) conduziram testes em laboratório utilizando o isolado de *Beauveria bassiana* IBCB 66 e verificaram que esse isolado foi considerado patogênico à *D. saccharalis* em todas as concentrações testadas, tendo a mortalidade aumentado com o tempo e com as concentrações. Selecionando isolados do fungo *M. anisopliae* e estudando sua ação sobre *D. saccharalis*, Zappellini *et al.* (2010) observaram que, dos 27 isolados de *M. anisopliae* testados, todos foram patogênicos, pois a menor mortalidade foi de 49%, referente ao isolado de *B. bassiana* IBCB 158. Valente *et al.* (2011), estudando alternativas de controle para *D. flavipennella*, testaram alguns isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos e lagartas da broca e verificaram que eles foram patogênicos, podendo ser utilizados no manejo integrado desta praga.

A interação entre entomopatógenos e outros inimigos naturais que atuam sobre espécies pragas é de grande importância quando se busca o emprego do manejo integrado, priorizando os agentes de controle biológico. Por outro lado, a interferência dos patógenos competindo com parasitoides e predadores pode reduzir a eficiência de ambos, e dificultar a introdução do patógeno. Folegatti (1987), em experimentos utilizando *M. anisopliae* com *Apanteles flavipes* (Cam.), *L. minense* e *B. claripalpis*, observou que a aplicação conjunta do fungo com os parasitoides de *D. saccharalis* foi mais eficiente que a aplicação do fungo isoladamente e também que *M. anisopliae* não afetou o desenvolvimento de larvas dos parasitoides.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) juntamente com os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill sobre *Diatraea flavipennella* (Box), com intuito de fornecer informações sobre novas estratégias para utilização no Manejo Integrado das brocas da cana-de-açúcar.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da UFRPE.

Criação de *Diatraea flavipennella*. As lagartas foram criadas em laboratório à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de $70 \pm 10\%$ e mantidas em dieta artificial de Hansley & Hammond (1968), modificada pelo PLANALSUCAR. Esta dieta consiste basicamente de farelo de soja, germe de trigo, açúcar, solução vitamínica, sais de Wesson, ácido ascórbico e água (Araújo *et al.* 1985). A dieta foi adicionada em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm), onde foram inoculadas lagartas recém-eclodidas. Após 15 dias da inoculação, as lagartas foram transferidas para caixas plásticas com 19 divisórias (30 x 18 x 04cm), contendo a dieta artificial, onde permaneceram até a fase de pupa. Posteriormente, as pupas foram transferidas para recipientes plásticos (26 x 17 x 08cm) contendo no fundo papel filtro mais algodão umedecido até a emergência dos adultos. Os adultos foram confinados em gaiolas de PVC, medindo 20x22cm, sendo o seu interior revestido com papel sulfite como substrato para as posturas, e como alimento, foi usada solução de mel a 5%. Os ovos coletados foram esterilizados com formol e sulfato de cobre e, posteriormente, armazenados em câmara úmida até a eclosão das larvas, sendo então distribuídas sobre a dieta em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm).

Criação de *Cotesia flavipes*. A criação foi realizada, utilizando como hospedeiro padrão lagartas de *D. saccharalis* no terceiro ínstar. Adultos do parasitoide com 24 h de idade foram confinados em recipientes plásticos (5 x 7cm), contendo na tampa de cada recipiente um pequeno orifício para a saída dos adultos. Em seguida, as lagartas foram colocadas próximas ao orifício, visando à deposição dos ovos do parasitoide no seu interior. Após o parasitismo, as lagartas foram transferidas para caixas plásticas com 19 divisórias (30 x 18 x 04cm), contendo dieta artificial, onde permaneceram até a formação das pupas do parasitoide. As massas de casulos (pupas) foram retiradas e transferidas novamente para a gaiola de inoculação, onde permaneceram até a emergência dos adultos.

Obtenção e Produção de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Foram utilizados os isolados de *M. anisopliae* PL-43 e de *B. bassiana* ESALQ 447, obtidos da coleção do Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE. A escolha do primeiro isolado foi baseada na sua utilização em da cana-de-açúcar para o controle da cigarrinha da folha *M. posticata*, e o segundo, selecionado com base em testes preliminares. Os isolados foram revigorados em lagartas de 3º ínstar de *D. saccharalis*. Para o bioensaio, os fungos foram repicados em BDA+A (batata-dextrose-água + sulfato de estreptomicina) e, após sete dias, o isolado de *M. anisopliae* PL-43 foi novamente repicado em BDA + A, e *B. bassiana* ESALQ 447, em meio completo (MC), e ambos incubados em câmara climatizada tipo B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h, onde permaneceram por dez dias. Para a utilização dos fungos no experimento, foi feita anteriormente a avaliação da viabilidade, determinada pela contagem dos conídios germinados e não germinados sob microscópio óptico, 24 horas após o plaqueamento em BDA + A, sendo tomados 100 conídios por placa para obtenção da porcentagem de germinação.

Interação de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Cotesia flavipes* para o Manejo de *Diatraea flavipennella*. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado,

constando de nove tratamentos com oito repetições, de cinco lagartas cada, totalizando 40 lagartas por tratamento. Tratamentos: 1- Lagartas pulverizadas com *M. anisopliae*; 2- Lagartas pulverizadas com *B. bassiana*; 3- Lagartas inoculadas com *C. flavipes*; 4- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e, após um dia, pulverizadas com suspensão de *M. anisopliae*; 5- Lagartas pulverizadas com *M. anisopliae* e, após um dia, inoculadas com *C. flavipes*; 6- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e, após um dia, pulverizadas com suspensão de *B. bassiana*; 7- Lagartas pulverizadas com *B. bassiana* e, após um dia, inoculadas com *C. flavipes*; 8- Lagartas pulverizadas com ADE+A e, após um dia, inoculadas com *C. flavipes*; e 9- Testemunha. Para o bioensaio, foram preparadas suspensões fúngicas obtidas pela adição de 10 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween[®] 80 a 0,01% (ADE + A) em placas contendo meio de cultura e o fungo, aferidas pela quantificação em câmara de Neubauer sob microscópio óptico, sendo posteriormente ajustadas para a concentração de 10^7 conídios mL⁻¹. Lagartas de *D. flavipennella* de quarto instar, foram separadas e pulverizadas com 1mL da suspensão fúngica na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹ em cada tratamento, com auxílio de um microatomizador marca Paasche[™] “VL”, com uma pressão de 15 libras. Para a realização do parasitismo, adultos de *C. flavipes* com 24 h de idade foram confinados em recipientes plásticos, contendo na tampa de cada recipiente um pequeno orifício para a saída dos adultos. Em seguida, as lagartas foram colocadas próximas ao orifício, visando à deposição dos ovos do parasitoide no seu interior. Após a aplicação dos fungos e a oviposição do parasitoide, as lagartas foram transferidas com uma pinça para recipientes plásticos contendo pedaços de cana e mantidas em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. A testemunha foi tratada com ADE + A. A ação dos agentes de controle foi aferida diariamente, observando-se a mortalidade das lagartas.

Os parâmetros avaliados foram: mortalidade ocasionada pelos fungos, parasitoide e pela interação; e os parâmetros razão sexual, número de adultos, período ovo-adulto, referentes aos

descendentes do parasitoide, nos tratamentos de interação entre *M. anisopliae* e *B. bassiana* e *C. flavipes* parasitando *D. flavipennella*. Os dados foram submetidos à análise de variância empregando o programa SAS (SAS Institute 1999-2001), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey (P=0,05).

Resultados e Discussão

Os resultados mostram que o isolado de *M. anisopliae* PL-43, proporcionou elevadas mortalidades nas lagartas de *D. flavipennella*, independentemente do momento da pulverização com o fungo ou da exposição ao parasitoide. Porém, os tratamentos com o fungo diferiram apenas do tratamento em que foi inoculado primeiramente o parasitoide e 24h após foi aplicado o isolado de *B. bassiana* ESALQ 447 (Tabela 1).

Quando o parasitoide, foi utilizado isoladamente proporcionou 97,5% de mortalidade em lagartas. Porém, nos tratamentos em que se utilizou *M. anisopliae*, não ocorreu o desenvolvimento do parasitoide, ocorrendo apenas mortalidade pelo fungo. No entanto, nos tratamentos em que se utilizou *B. bassiana*, houve desenvolvimento do parasitoide, causando nas lagartas mortalidade pelo fungo e pelo parasitoide, porém com porcentagem de parasitismo baixo (Tabela1).

Nos tratamentos, onde foi avaliado a interação entre os fungos e o parasitoide, apenas houve mortalidade nos tratamentos com *B. bassiana*, variando de 70% a 75%, sendo maior a mortalidade no tratamento em que primeiramente se aplicou o fungo e posteriormente se inoculou o parasitoide.

Fungos entomopatogênicos e parasitoides podem atuar de maneira sinérgica no controle de pragas, dependendo do tempo de aplicação. Isto foi demonstrado e observado por Folegatti e Alves (1987), em que *M. anisopliae* permitiu o desenvolvimento do parasitoide *C. flavipes* sobre

lagartas de *D. saccharalis*, porém, quando o fungo foi pulverizado 24h após o parasitismo, ele causou uma redução de 16,7% na mortalidade das lagartas pelo parasitoide. Resultado semelhante foi observado por Santos Jr. *et al.* (2006), que relataram que *M. anisopliae* e *B. bassiana* também permitiram o desenvolvimento do parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) sobre larvas de *Plutella xylostella* (Linnaeus), quando aplicados 24h após o parasitismo, porém os fungos influenciaram negativamente o desenvolvimento do parasitoide, quando pulverizados 24h antes o parasitismo.

Na interação entre *B. bassiana* e *C. flavipes*, apesar do aumento na mortalidade de *D. flavipennella*, o fungo interferiu no seu desenvolvimento, pois a razão sexual nos tratamentos onde ocorreu interação foi reduzida em relação aos tratamentos em que os fungos não foram aplicados, variando de 0,20 a 0,24. Com relação ao número de adultos, também houve redução nos tratamentos de interação entre o fungo e o parasitoide (Tabela 2). Resultado semelhante, ocorreu com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller), parasitados por *Trichogramma pretiosum* Riley, que apresentaram baixa emergência de adultos, quando pulverizados com *M. anisopliae*, indicando que ele pode ter influenciado o desenvolvimento das fases jovens do parasitoide (Potrich *et al.* 2009). Esses resultados diferiram daqueles encontrados por Polanczyk *et al.* (2010), que avaliaram o efeito de duas formulações comerciais à base de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platner) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), tendo observado que os fungos não tiveram efeito negativo sobre os parâmetros biológicos número de adultos emergidos e razão sexual, ou seja, os fungos não comprometeram o desenvolvimento do parasitoide.

O isolado ESALQ 447 de *B. bassiana* quando utilizado com *C. flavipes*, além de proporcionar mortalidade em *D. flavipennella*, também permitiu o desenvolvimento do mesmo. O isolado PL 43 de *M. anisopliae*, proporcionou elevada mortalidade para *D. flavipennella*, não

permitiu portanto o desenvolvimento do parasitoide. Assim sendo, a utilização de *B. bassiana* e *M. anisopliae* com *C. flavipes*, deve ser feita com critério, sendo necessárias pesquisas que comprovem o efeito dos fungos sobre diferentes fases do parasitoide, que se encontra no campo em diferentes estágios de desenvolvimento.

Agradecimentos

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (Reuni), pela concessão da bolsa de estudo, ao primeiro autor do trabalho.

Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos Entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Araújo, J.R., P.S.M. Botelho, S.M.S.S. Araújo, L.C. Almeida & N. Degaspari. 1985.** Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Saccharum APC, Rev. Tecnol. Indúst. Açuc. Alcool 36: 45-48.
- Botelho, P.S.M. & N. Macedo. 2002.** *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*, p. 477-494. In J.R.P Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento, (ed.) Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores São Paulo, Manole, 635p.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Guagliumi, P. 1972/73.** Pragas da Cana-de-açúcar (Nordeste do Brasil). Instituto do Açúcar e do Alcool, Rio de Janeiro, 622p.
- Folegatti, M.E.G. & S.B. Alves. 1987.** Interação entre o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., e os principais parasitoides da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). An. Soc. Entomol. Brasil. 16: 351-362.
- Freitas, M.R.T., A.P.P. Fonseca, E.L. Silva, A.L. Mendonça, C.E. Silva, A.L. Mendonça, R.R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2006.** The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugar cane fields in the State of Alagoas, Brazil. Fl. Entomol. 89: 539-540.

- Freitas, M.R.T., E.L. Silva, A.L.Mendonça, C.E. Silva, A.P.P. Fonseca, A.L. Mendonça, J. S. Santos, R. R. Nascimento & A.E.G. Sant'Ana. 2007.** The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. *Fl. Entomol.* 90: 309-313.
- Hensley, S.D. & A.M. Hammond Jr. 1968.** Laboratory technique for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.* 61: 1742-1743.
- Marques, E.J., R.O.R. Lima, R.M. Andrade & J.M. Araújo Jr. 2008.** Controle biológico das brocas. *Diatraea* spp, *Telchin licus licus* e cigarrinhas *Mahanarva* spp em cana-de-açúcar, p. 95-111. In M. Vezon, T.J. Paula Jr. & A. Pallini (org.), *Avanços no controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa, EPAMIG, 283p.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A.F. Mendonça (ed.), *Pragas da cana-de-açúcar*. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Polanczyk, R.A., D. Pratissoli, L.P. Dalvi, E.D. Grecco & C.R. Franco. 2010.** Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciênc. Agrot.* 34: 1412-1416.
- Potrich, M., L.F.A. Alves, J. Haas, E.R.L. Silva, A. Daros, V. Pitrowski & P.M.O.J. Neves. 2009.** Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotrop. Entomol.* 38: 822-826.
- Santos Jr., H.J.G., E.J. Marques, R. Barros & M.G.C. Gondim Jr. 2006.** Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e o parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotrop. Entomol.* 35: 241-245.
- Silva, C.C.M., E.J. Marques, J.V. Oliveira & E.C.N. Valente. 2012.** Preference of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) for *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Sci. Agron.* 34: 23-27.
- Valente, E.C.N. 2011.** Efeito de Fungos Entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (BOX) (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 34p.
- Wenzel, I.M., F.H.C. Giometti & J.E.M. Almeida. 2006.** Patogenicidade do isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório. *Arq. Inst. Biol.* 73: 259-261.
- Zapellini, L.O., J.E.M. Almeida, A. Batista Filho & F.H.C. Giometti. 2010.** Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin visando o controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr, 1794). *Arq. Inst. Biol.* 77: 75-82.

Tabela 1. Mortalidade (Média \pm EP) de lagartas de *Diatraea flavipennella* parasitadas por *Cotesia flavipes*, pulverizadas com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} , em interações dos fungos com o parasitoide. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h fotofase.

Tratamentos ¹	Mortalidade por fungos	Mortalidade pelo parasitoide	Mortalidade total
<i>M. anisopliae</i>	85,0 \pm 5,00 ab	-	80,0 \pm 8,16 ab
<i>B. bassiana</i>	72,5 \pm 4,78 ab	-	72,5 \pm 4,78 ab
<i>C. flavipes</i>	-	97,5 \pm 2,50 a	97,5 \pm 2,50 a
<i>C. flavipes</i> + ADE+A	-	77,5 \pm 7,50 a	77,5 \pm 7,50 ab
<i>C. flavipes</i> + <i>M. anisopliae</i>	90,0 \pm 4,02 a	-	90,0 \pm 4,02 ab
<i>M. anisopliae</i> + <i>C. flavipes</i>	80,0 \pm 4,08 ab	-	80,0 \pm 4,08 ab
<i>C. flavipes</i> + <i>B. bassiana</i>	62,5 \pm 6,29 b	7,5 \pm 4,78 b	70,0 \pm 4,08 b
<i>B. bassiana</i> + <i>C. flavipes</i>	65,0 \pm 8,66 ab	15,0 \pm 6,45 b	75,0 \pm 6,45 ab
Testemunha	-	-	0,0 \pm 0,0 c

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Razão sexual, número médio de adultos e período médio de ovo-adulto (dias \pm EP) de descendentes de *Cotesia flavipes* em lagartas de *Diatraea flavipennella*, pulverizadas com *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} , em interação entre o fungo e o parasitoide. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h fotofase.

Tratamentos ¹	Razão sexual	Número de adultos	Período ovo-adulto
<i>C. flavipes</i>	$0,7 \pm 0,03$ a	$48,30 \pm 3,86$ a	$20,1 \pm 0,25$ a
<i>C. flavipes</i> + ADE+A	$0,8 \pm 0,04$ a	$45,8 \pm 2,80$ a	$19,7 \pm 0,37$ ab
<i>C. flavipes</i> + <i>B. bassiana</i>	$0,2 \pm 0,11$ b	$10,1 \pm 6,64$ b	$17,5 \pm 0,50$ b
<i>B. bassiana</i> + <i>C. flavipes</i>	$0,2 \pm 0,14$ b	$6,9 \pm 3,18$ b	$20,0 \pm 1,08$ a

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

CAPÍTULO 4

EFEITO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL NAS DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DO PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (CAM.) EM *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

CINTHIA C. M. DA SILVA¹, EDMILSON J. MARQUES¹, JOSÉ V. OLIVEIRA¹, AURISTELA C. ALBUQUERQUE², ELIANA M. PASSOS¹ E JENNIFER GUIMARÃES¹

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

²Departamento de Biologia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

¹Silva, C.C.M., E.J. Marques, J.V. Oliveira, A.C. Albuquerque, E.M. Passos & J. Guimarães. Efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) em *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). Artigo a ser submetido.

RESUMO – No manejo integrado das brocas da cana-de-açúcar *Diatraea* spp, o controle biológico com o parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) é um dos principais componentes. Além do parasitoide, os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok também são empregados no controle de pragas da cana-de-açúcar. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* nas diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide *C. flavipes* em *Diatraea flavipennella* (Box). Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE com os isolados de *M. anisopliae* PL-43 e de *B. bassiana* ESALQ 447. Os fungos foram testados sobre as fases imatura e adulta do parasitoide, em delineamento experimental inteiramente casualizado. De acordo com os resultados, não foram observados efeitos negativos sobre o desenvolvimento larval de *C. flavipes*, que conseguiu completar seu desenvolvimento em lagartas de *D. flavipennella*, tratadas com os entomopatógenos. Os fungos não provocaram mortalidade de pupas. Entretanto, *B. bassiana* proporcionou uma alta mortalidade nos adultos do parasitoide. Conforme verificado anteriormente, os fungos podem apresentar efeitos negativos quando aplicados em determinado período de desenvolvimento do parasitoide, sendo necessários estudos que indiquem qual o momento de liberação mais adequado.

PALAVRAS-CHAVE: Broca da cana-de-açúcar, controle biológico, controle microbiano, endoparasitoide

EFFECT OF *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK AND *Beauveria bassiana* (BALS.)

VUILL IN DIFFERENT STAGES OF DEVELOPMENT OF THE PARASITOID *Cotesia*

flavipes (Cam) IN *Diatraea flavipennella* (BOX) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

ABSTRACT – In the integrated management of sugarcane moth borer *Diatraea* spp., biological control with *Cotesia flavipes* (Cam.) parasitoid is a major component. Besides the parasitoid, the *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok entomopathogenic fungi are also widely used to control sugarcane pests. This study aimed to evaluate the effect of *M. anisopliae* and *B. bassiana* fungi on different development stages of *C. flavipes* parasitoid in *Diatraea flavipennella* (Box). The experiments were performed at the "Laboratório de Patologia de Insetos Area Fitossanidade of Universidade Federal Rural de Pernambuco" with PL-43 isolates of *M. anisopliae* and ESALQ 447 of *B. bassiana*. The fungi were tested on immature and adult phases of parasitoid in a completely randomized experimental design. According to results, no negative effects were observed on the development larval of *C. flavipes* that could complete its development on caterpillars of *D. flavipennella* treated with entomopathogens. The fungi caused no pupae mortality. However, *B. bassiana* provided a high mortality in adult parasitoid. As noted previously, the fungi can have negative effects when applied in certain period of the parasitoid development, and studies which indicate the most suitable moment of release are necessary.

KEY WORDS: Sugarcane borer, biological control, microbial control, endo-parasitoid

Introdução

A cultura da cana-de-açúcar representa um dos principais produtos agrícolas do Brasil, tendo sua área de plantio expandida a cada ano, ocupando aproximadamente 8,5 milhões de hectares (CONAB 2012). As pragas constituem um dos principais fatores que limitam a produção, destacando-se a broca *Diatraea flavipennella* (Box), distribuída principalmente na região Nordeste. As lagartas provocam injúrias devido ao hábito de perfurar a cana jovem, causando a morte da gema apical, enquanto na cana adulta, provoca brotações laterais, enraizamento aéreo, atrofiamento dos entrenós e tombamento da planta, reduzindo os rendimentos agrícola e industrial (Mendonça 1996).

No manejo integrado das brocas da cana-de-açúcar *Diatraea* spp., o controle biológico, com o parasitoide *Cotesia flavipes* (Cam.) é um dos principais componentes. São feitas liberações inundativas deste parasitoide, visando interromper o crescimento populacional da praga (Pinto *et al.* 2006). Além do parasitoide, os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok também são amplamente empregados no controle de pragas da cana-de-açúcar, entre outras culturas (Alves 1998). Estes fungos ocorrem naturalmente, sendo as fases de ovo e de lagarta da broca da cana muito sensíveis ao *M. anisopliae* (Pinto *et al.* 2006). Valente *et al.* (2011) verificaram que alguns isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram patogênicos para ovos e lagartas de *D. flavipennella*, podendo ser utilizados no manejo integrado desta praga.

Assim, a liberação massal de *C. flavipes* e a aplicação de *M. anisopliae* são comumente feitas pelas usinas sucroalcooleiras do Brasil, no entanto, há necessidade de avaliar os efeitos das interações entre estes organismos para otimização do controle (Alves & Lopes 2008). As Interações entre entomopatógenos e parasitoides podem ser analisadas de diversas maneiras. Os patógenos podem ou não prejudicar os inimigos naturais, dependendo de fatores como a espécie,

o isolado, a concentração e a espécie do parasitoide. Porém, os efeitos causados pelos patógenos em parasitoides são normalmente menores que os causados por agrotóxicos, podendo ou não ocorrer morte prematura de ovos, larvas e adultos do parasitoide (Rossi-Zalaf *et al.* 2008). Isso se deve à ampla faixa de hospedeiros dos fungos entomopatogênicos e à possibilidade de infecção direta sobre organismos não-alvo, que deve ser avaliada com muita cautela antes do uso desses microrganismos em larga escala (Magalhães *et al.* 1998). Folegatti & Alves (1987) observaram que *C. flavipes*, parasitando lagartas de *D. saccharalis*, não teve o seu desenvolvimento prejudicado por *M. anisopliae*.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre as fases de larva, pupa e adulto de *C. flavipes*, parasitando *D. flavipennella*.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Patologia de Insetos da área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da UFRPE.

Criação de *Diatraea flavipennella*. As lagartas foram criadas em laboratório à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de $70 \pm 10\%$ e mantidas sob dieta artificial de Hansley & Hammond (1968), modificada pelo PLANALSUCAR. Esta dieta consiste basicamente de farelo de soja, germe de trigo, açúcar, solução vitamínica, sais de Wesson, ácido ascórbico e água (Araújo *et al.* 1985). A dieta foi adicionada em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm), onde foram inoculadas as lagartas recém-eclodidas. Após 15 dias da inoculação, as lagartas foram transferidas para caixas plásticas com 19 divisórias (30 x 18 x 04cm), contendo a dieta artificial, onde permaneceram até a fase de pupa. Posteriormente, as pupas foram transferidas para recipientes plásticos (26 x 17 x 08cm) contendo no fundo papel filtro mais algodão umedecido até a emergência dos adultos. Os adultos foram confinados em gaiolas de PVC, medindo 20x22cm, sendo o seu interior revestido com papel sulfite

como substrato para as posturas, e como alimento, foi usada solução de mel a 5%. Os ovos coletados foram esterilizados com formol e sulfato de cobre e, posteriormente, armazenados em câmara úmida até a eclosão das larvas, sendo então distribuídas sobre a dieta em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm).

Criação de *Cotesia flavipes*. A criação foi realizada, utilizando como hospedeiro padrão lagartas de *D. saccharalis* no terceiro instar. Adultos do parasitoide com 24 h de idade foram confinados em recipientes plásticos (5 x 7cm), contendo na tampa de cada recipiente um pequeno orifício para a saída dos adultos. Em seguida, as lagartas foram colocadas próximas ao orifício, visando à deposição dos ovos do parasitoide no seu interior. Após o parasitismo, as lagartas foram transferidas para caixas plásticas com 19 divisórias (30 x 18 x 04cm), contendo dieta artificial, onde permaneceram até a formação das pupas do parasitoide. As massas de casulos (pupas) foram retiradas e transferidas novamente para a gaiola de inoculação, onde permaneceram até a emergência dos adultos.

Obtenção e Produção de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Foram utilizados os isolados de *M. anisopliae* PL-43 e *B. bassiana* ESALQ 447, obtidos da coleção do Laboratório de Patologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE. O primeiro isolado foi escolhido devido à sua utilização em cana-de-açúcar para o controle da cigarrinha da folha *M. posticata*, e o segundo, com base em testes preliminares. Os isolados foram revigorados em lagartas de 3º instar de *D. saccharalis*. Para o bioensaio, os fungos foram repicados em BDA+A (batata-dextrose-ágar + sulfato de streptomina) e após sete dias, o isolado de *M. anisopliae* foi novamente repicado em BDA + A, e o de *B. bassiana*, em meio completo (MC), ambos foram incubados em câmara climatizada tipo B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h, onde permaneceram por dez dias. A avaliação da viabilidade dos isolados foi determinada pela contagem dos conídios germinados e

não germinados em microscópio óptico, 24 horas após o plaqueamento em BDA + A, sendo tomados 100 conídios por placa para obtenção da porcentagem de germinação.

Efeito dos Fungos na Fase Larval do Parasitoide. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constando de dez tratamentos com oito repetições, sendo cada repetição constituída por cinco lagartas, totalizando 40 lagartas por tratamento. Tratamentos: 1- Lagartas pulverizadas apenas com o fungo *M. anisopliae*; 2- Lagartas pulverizadas apenas com o fungo *B. bassiana*; 3- Lagartas inoculadas apenas com *C. flavipes*; 4- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e após um dia tratadas com suspensão de conídios de *M. anisopliae*; 5- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e após três dias tratadas com suspensão de conídios de *M. anisopliae*; 6- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e após seis dias tratadas com suspensão de conídios de *M. anisopliae*; 7- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e após um dia tratadas com suspensão de conídios de *B. bassiana*; 8- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e após três dias tratadas com suspensão de conídios de *B. bassiana*; 9- Lagartas inoculadas com *C. flavipes* e após seis dias tratadas com suspensão de conídios de *B. bassiana*; 10- Testemunha.

As suspensões fúngicas foram obtidas mediante adição de 10 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween[®] 80 a 0,01% (ADE + A), em placas contendo meio de cultura e o fungo, aferidas mediante quantificação em câmara de Neubauer com o auxílio de um microscópio óptico, sendo posteriormente ajustadas para a concentração de 10^7 conídios mL⁻¹. Lagartas de *D. flavipennella* de quarto instar, foram separadas e pulverizadas com 1mL da suspensão fúngica na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹ em cada tratamento, com auxílio de um microatomizador marca Paasche[™] “VL”, com uma pressão de 15 libras. Para realização do parasitismo, adultos com 24 h de idade foram confinados em recipientes plásticos (5 x 7cm), com pequeno orifício na tampa para a saída dos adultos. Em seguida, as lagartas foram colocadas próximas ao orifício, visando à deposição dos ovos do parasitoide no seu interior. Após a

oviposição do parasitoide e a aplicação dos fungos, as lagartas foram transferidas com auxílio de uma pinça para potes plásticos, contendo pedaços de cana e mantidas em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $70 \pm 10\%$. A testemunha foi tratada com ADE + A. Os efeitos dos inimigos naturais foram avaliados diariamente, observando-se o parasitismo e a mortalidade das lagartas, as quais foram transferidas para câmaras úmidas e mantidas à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12h para confirmação do agente causal.

Os parâmetros avaliados foram: mortalidade pelos fungos, mortalidade pelo parasitoide; mortalidade causada pelos fungos por dia, após o parasitismo; razão sexual, número de adultos emergidos e período ovo-adulto. Os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o programa SAS (SAS Institute 1999-2001), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

Efeito dos Fungos sobre Pupas do Parasitoide. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constando de três tratamentos com 15 repetições, sendo cada repetição composta por uma massa de casulos. Tratamentos: 1- Massas pulverizadas apenas com o fungo *M. anisopliae*; 2- Massas pulverizadas apenas com o fungo *B. bassiana*, 3- Testemunha. Lagartas de *D. flavipennella* no quarto instar foram parasitadas por *C. flavipes* e, posteriormente, transferidas com auxílio de uma pinça para potes plásticos contendo dieta artificial e mantidas em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $70 \pm 10\%$ até a formação das massas do parasitoide. Estas massas foram separadas e pulverizadas com 1mL da suspensão fúngica na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} em cada tratamento, com auxílio de um microatomizador marca Paasche™ “VL”, com uma pressão de 15 libras. A testemunha foi tratada com ADE + A. Após a aplicação dos fungos, as massas foram transferidas com auxílio de uma pinça e mantidas em câmara climatizada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $70 \pm 10\%$. A testemunha foi tratada com ADE + A. As avaliações foram feitas diariamente até a emergência dos adultos.

Os parâmetros avaliados foram a viabilidade pupal e o número de adultos. Os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o programa SAS (SAS Institute 1999-2001), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey (P=0,05).

Efeito dos Fungos sobre Adultos do Parasitoide. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constando de três tratamentos com 10 repetições, sendo cada repetição composta por 10 adultos. Tratamentos: 1- Adultos pulverizados apenas com o fungo *M. anisopliae*; 2- Adultos pulverizados apenas com o fungo *B. bassiana*, 3- Testemunha. Gaiolas plásticas circulares (6,5cm de diâmetro x 7,5cm de altura), com duas aberturas laterais (2,5cm de diâmetro) vedadas com tecido 'voil', foram pulverizadas internamente com 2ml da suspensão fúngica na concentração de 10^7 conídios mL⁻¹, com auxílio de um microatomizador da marca Paasch™ "VL", com uma pressão de 15 libras e colocadas para secar na câmara de fluxo laminar. Posteriormente, 10 adultos do parasitoide com um dia de idade foram introduzidos em cada gaiola e alimentados com gotículas de mel, dispostas na parte lateral interna da gaiola. Em seguida, as gaiolas plásticas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D. a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 12h de fotofase e UR de $70 \pm 10\%$. A testemunha foi tratada com ADE + E. As avaliações foram feitas diariamente até a morte dos adultos. Os insetos mortos foram transferidos para câmaras úmidas e mantidos à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12 horas para confirmação do agente causal.

Os parâmetros avaliados foram: mortalidade confirmada, correspondente à mortalidade ocasionada pela colonização dos fungos, e longevidade dos adultos. Os dados foram submetidos à análise de variância, empregando-se o programa SAS (SAS Institute 1999-2001), e as médias, comparadas pelo teste de Tukey (P=0,05).

Resultados e Discussão

Efeito dos Fungos na Fase Larval do Parasitoide. As mortalidades das lagartas de *D. flavipennella* nos tratamentos apenas com aplicação dos fungos apresentaram respectivamente, médias de 90% a 87,5%, referentes ao isolado de *M. anisopliae* PL 43 e *B. bassiana* ESALQ 447. Nos tratamentos em que as lagartas foram submetidas apenas ao parasitoide, a mortalidade foi de 72,5% (Tabela1).

Quando se avaliou o efeito dos fungos sobre o parasitoide, observou-se um aumento na mortalidade das lagartas de *D. flavipennella* nos tratamentos com os fungos mais o parasitoide, em relação àqueles em que esses agentes foram aplicados isoladamente. Os resultados mostraram um aumento na mortalidade em quase todos os tratamentos, com exceção daquele em que se aplicou o fungo *M. anisopliae* um dia após o parasitismo, não permitindo o desenvolvimento de *C. flavipes*. Observou-se ainda que a mortalidade ocasionada pelos fungos foi reduzida à medida que se aumentou seu tempo de aplicação após a inoculação do parasitoide. Entretanto, as mortalidades ocasionadas pelo parasitoide foram crescentes com o aumento do tempo de aplicação do fungo após a inoculação com o parasitoide. Folegatti & Alves (1987), também observaram que, com o aumento dos dias após a inoculação com *C. flavipes*, a mortalidade provocada por *M. anisopliae* sobre *D. saccharalis* foi diminuindo, à medida que a mortalidade causada pelo parasitoide aumentava. Resultado semelhante foi obtido por Rashki, *et al.* (2009) em relação à *B. bassiana*, com o parasitoide *Aphidius matricariae* Haliday parasitando *Myzus persicae* (Sulzer).

Ao utilizar os dois agentes conjuntamente, Folegatti & Alves (1987) também observaram um efeito aditivo, exceto no tratamento de aplicação do fungo após um dia da inoculação com o parasitoide, não tendo o fungo permitido seu desenvolvimento. Além disso, foram relatados sintomas de infecção pelo fungo *M. anisopliae* em *Apanteles flavipes* (Cam.), confirmando os

resultados encontrados nesta pesquisa, ou seja, apesar de o parasitoide ter completado seu desenvolvimento na lagarta hospedeira, também foram encontrados sintomas de infecção em adultos de *C. flavipes* pelo fungo *B. bassiana*.

Avaliando o efeito dos fungos aplicados sobre lagartas em diferentes períodos após no parasitismo, observou-se que as mortalidades referentes ao fungo *M. anisopliae* não apresentaram diferença, independentemente dos dias de aplicação. Já o fungo *B. bassiana* causou mortalidade decrescente, ou seja, com o aumento dos dias após o parasitismo, a mortalidade causada pelo fungo foi reduzindo, chegando a 37,5%, permitindo, assim, o desenvolvimento do parasitoide (Tabela 2). Canini *et al.* (2009), avaliando o efeito de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre *C. flavipes*, em *D. saccharalis*, observaram que ao aplicar o fungo um dia após o parasitismo, estes não afetaram a biologia do parasitoide. Com relação à mortalidade causada pelos fungos em cada dia, foi observado que no primeiro dia não houve diferença entre os tratamentos, porém o fungo *M. anisopliae* causou maior mortalidade de 90,0% no terceiro e 82,5% no sexto dia, em comparação ao fungo *B. bassiana*.

A razão sexual foi de 0,69 no tratamento em que as lagartas foram submetidas apenas ao parasitismo. Nos tratamentos em que foi utilizado o parasitoide juntamente com *B. bassiana*, as médias desse parâmetro foram crescentes no decorrer do tempo, apresentando maiores valores onde foi aplicado o fungo, após três (0,67) e seis (0,68) dias da inoculação. Nos demais tratamentos, a razão sexual foi baixa, variando de 0,11 a 0,35, apresentando efeito negativo dos fungos sobre o parasitoide. Este mesmo efeito pôde ser observado no parâmetro número de adultos, nos tratamentos em que os dois agentes foram utilizados juntos, tendo havido redução na maioria dos tratamentos variando de 6,12 a 36,75 adultos, exceto naquele em que se aplicou *B. bassiana* seis dias após a inoculação com o parasitoide (43,98) (Tabela 3). Assim, pode-se inferir que a utilização de *B. bassiana* e *M. anisopliae* no controle de *Diatraea* spp, deve ser feita com

critério para evitar interferência no desenvolvimento do parasitoide. Desta forma, estudos de campo poderão comprovar de forma mais precisa o impacto desses agentes microbianos sobre o parasitoide, considerando que testes de laboratório são mais impactantes por serem conduzidos em condições controladas, o que não ocorre em campo ou semicampo.

Com relação ao período ovo-adulto, os resultados demonstraram que os fungos podem prolongar o desenvolvimento do parasitoide. Contudo, observou-se que o tratamento com *B. bassiana*, quando aplicado seis dias após a inoculação do parasitoide, não apresentou efeito negativo no desenvolvimento do parasitoide, permitindo que ele completasse seu ciclo. O resultado confirma que esses dois agentes podem ser utilizados conjuntamente, porém no momento mais adequado.

Efeito dos Fungos sobre Pupas do Parasitoide. *M. anisopliae* e *B. bassiana* não provocaram mortalidade de pupas, confirmando os resultados obtidos por Folegatti *et al.* (1990) em relação à *M. anisopliae*. Entretanto, observou-se efeito negativo dos fungos na redução da viabilidade pupal, principalmente pela aplicação de *B. bassiana* (72,20%). O número de adultos emergidos também foi afetado pelos fungos, com médias de 29,80, 33,20 e 52,20 adultos, respectivamente, para *B. bassiana*, *M. anisopliae* e testemunha (Tabela 4).

Efeito de Fungos sobre Adultos do Parasitoide. No experimento em que foi avaliado o efeito da exposição de adultos de *C. flavipes* aos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, verificou-se alta mortalidade causada pelo fungo *B. bassiana* (76,0%), diferentemente do fungo *M. anisopliae*, que apresentou baixa mortalidade dos adultos (9,0%) (Tabela 5). Folegatti *et al.* (1990), avaliando a patogenicidade do fungo *M. anisopliae* sobre adultos de *A. flavipes*, estes verificaram que o fungo causou mortalidades baixa. Resultado semelhante também foi observado por Hayashida *et al.* (2012), que, testando altas concentrações do fungo *M. anisopliae* sobre adultos *C. flavipes*, constataram baixa patogenicidade.

Com relação à longevidade dos adultos, não houve efeito dos fungos, pois as longevidades dos tratamentos com os fungos não diferiram da testemunha (Tabela 5).

Os isolados ESALQ 447 e PL 43 de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, respectivamente, apresentam efeito aditivo quando utilizados juntamente com *C. flavipes* sobre lagartas de *D. flavipennella*. E estes fungos não apresentaram-se patogênicos a pupas de *C. flavipes*. Entretanto, *B. bassiana* provoca elevada mortalidade em adultos. Contudo, os fungos podem apresentar efeitos negativos quando aplicados em determinado período de desenvolvimento do parasitoide, necessitando de estudos visando a determinar o momento mais adequado para sua utilização em programas de manejo integrado de pragas da cana-de-açúcar.

Agradecimentos

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (Reuni), pela concessão da bolsa de estudo a primeira autora deste trabalho.

Literatura citada

- Alves, S.B. 1998.** Fungos Entomopatogênicos, p. 289-381. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B. & R.B. Lopes. 2008.** Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e Desafios. Piracicaba, FEALQ, 414p.
- Araújo, J.R., P.S.M. Botelho, S.M.S.S. Araújo, L.C. Almeida & N. Degaspari. 1985.** Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Saccharum APC, Rev. Tecnol. Indúst. Açúc. Alcool 36: 45-48.
- Canini, F.L.S., A.S. Pinto & M.A.V Cano. 2009.** Efeito da aplicação de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre lagartas de *Diatraea saccharalis* um dia após o parasitismo por *Cotesia flavipes*. Bento Gonçalves, Porto Alegre. (Simpósio de Controle Biológico).
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2012.** Safra da cana-de-açúcar. Fonte consultada: www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t= . Acesso dia 25/10/2012.

- Folegatti, M.E.G. & S.B. Alves. 1987.** Interação entre o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., e os principais parasitóides da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). An. Soc. Entomol. Brasil 16: 351-362.
- Folegatti, M.E.G., S.B. Alves & P.S.M. Botelho. 1990.** Patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para pupas e adultos de *Apanteles flavipes* (Cam.). Pesqu. Agropecu. 25: 247-251.
- Hayashida, E.K., S.O. Kassab, P.R.B. Fonseca, C. Rossoni, E.S. Loureiro & L.G.P. Amorim. 2012.** Efeito dos isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) sobre parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Nucleus 9: 73-78.
- Hensley, S.D. & A.M. Hammond Jr. 1968.** Laboratory technique for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. J. Econ. Entomol. 61: 1742-1743.
- Mendonça, A.F. 1996.** Guia das principais pragas da cana-de-açúcar, p. 3-48. In A. F. Mendonça (ed.), Pragas da cana-de-açúcar. Maceió, Insetos & Cia, 239p.
- Magalhães, B.P., R. Monnerat & S.B. Alves. 1998.** Interações entre entomopatógenos, parasitóides e predadores. p. 195-216. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Pinto, A.S., J.F. Garcia & P.S.M. Botelho. 2006.** Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, p. 65-74. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (org), Controle biológico de pragas: na prática. Piracicaba, FEALQ, 287p.
- Rashki, M., A. Kharazi-padkdel, H. Allahyari & J.J.M. Van Alphen. 2009.** Interactions among the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Ascomycota:Hypocreales), the parasitoid, *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Braconidae), and its host, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). Biol. Control 50: 324-328.
- Rossi-Zalaf, L.S., S.B. Alves, R.B. Lopes, S. Silveira Neto & M.R. Tanzini. 2008.** Interações de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. p. 270-302. In S.B. Alves & R.B. Lopes (eds.), Controle microbiano de pragas na América latina: avanços e desafios. Piracicaba, FEALQ, 414p.
- Valente, E.C.N. 2011.** Efeito de Fungos Entomopatogênicos sobre formas imaturas de *Diatraea flavipennella* (BOX) (Lepidoptera: Crambidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 34p.

Tabela 1. Mortalidade (Média \pm EP) de lagartas de *Diatraea flavipennella* parasitadas por *Cotesia flavipes* e pulverizadas com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} , em diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide.

Tratamentos ¹	Fungos	Parasitoide	Total
<i>C. flavipes</i>	-	72,5 \pm 4,78 a	-
<i>M. anisopliae</i>	90,0 \pm 5,77 a	-	-
<i>B. bassiana</i>	87,5 \pm 4,78 ab	-	-
<i>M. anisopliae</i> (1dia)	92,5 \pm 4,33 a	-	-
<i>M. anisopliae</i> (3 dias)	90,0 \pm 4,08 ab	5,0 \pm 2,88 c	95,0 \pm 2,04 a
<i>M. anisopliae</i> (6 dias)	82,5 \pm 7,50 ab	12,5 \pm 4,78 c	95,0 \pm 2,04 a
<i>B. bassiana</i> (1 dia)	85,0 \pm 6,45 ab	5,0 \pm 5,00 c	90,0 \pm 3,74 ab
<i>B. bassiana</i> (3 dias)	77,5 \pm 11,08 ab	22,5 \pm 6,29 bc	90,0 \pm 3,74 ab
<i>B. bassiana</i> (6 dias)	45,0 \pm 5,00 b	55,0 \pm 2,88 ab	92,5 \pm 3,22 a
Testemunha	-	-	-

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Mortalidade (Média \pm EP) de lagartas de *Diatraea flavipennella* parasitadas por *Cotesia flavipes* e pulverizadas com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} , em diferentes dias após o parasitismo.

Dias ¹	<i>M. anisopliae</i>	<i>B. bassiana</i>	Estatística
1 dia	92,5 \pm 2,50 a	85,0 \pm 8,66 a	0,83 ^{0,4584}
3 dias	90,0 \pm 3,77 a	67,5 \pm 3,65 a	4,28 ^{0,0008}
6 dias	82,5 \pm 4,53 a	37,5 \pm 4,50 b	7,02 ^{0,0001}
Estatística	F= 1,30 ^{0,3192}	F=23,65 ^{0,0001}	-

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Razão sexual, número de adultos emergidos e período médio de ovo-adulto (dias \pm EP) de *Cotesia flavipes*, parasitando lagartas de *Diatraea flavipennella*, que também foram pulverizadas com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml⁻¹ em diferentes fases de desenvolvimento do parasitoide.

Tratamentos ¹	Razão sexual	Número de adultos	Período ovo-adulto
<i>C. flavipes</i>	0,7 \pm 0,02 a	47,7 \pm 2,68 a	17,2 \pm 1,30 a
<i>M. anisopliae</i> (3 dias)	0,1 \pm 0,01 b	6,1 \pm 4,48 c	18,0 \pm 2,0 ab
<i>M. anisopliae</i> (6 dias)	0,3 \pm 0,06 ab	15,2 \pm 9,45 bc	17,0 \pm 1,58 b
<i>B. bassiana</i> (1 dia)	0,2 \pm 0,11 b	8,5 \pm 5,57 c	24,5 \pm 0,50 a
<i>B. bassiana</i> (3 dias)	0,7 \pm 0,11 a	32,2 \pm 10,20 abc	16,2 \pm 1,22 b
<i>B. bassiana</i> (6 dias)	0,7 \pm 0,07 a	43,9 \pm 3,74 ab	17,0 \pm 0,68 b

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 4. Viabilidade pupal e número de adultos emergidos de pupas de *Cotesia flavipes* após a exposição a *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} .

Tratamentos ¹	Viabilidade pupal	Número de adultos
<i>B. bassiana</i>	72,2 ± 11,54 b	29,8 ± 10,80 b
<i>M. anisopliae</i>	76,4 ± 9,91 ab	33,2 ± 9,10 b
Testemunha	89,0 ± 3,16 a	52,2 ± 8,60 a
Estatística	F= 4,75 ^{0,0303}	F= 7,89 ^{0,0065}

¹Médias (±EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Mortalidade (Média \pm EP) e longevidade de adultos de *Cotesia flavipes* após a exposição a *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml⁻¹.

Tratamentos ¹	Mortalidade	Longevidade
<i>B. bassiana</i>	76,0 \pm 2,91a	4,7 \pm 0,83 a
<i>M. anisopliae</i>	9,0 \pm 6,0 b	4,8 \pm 0,44 a
Testemunha	-	4,6 \pm 1,08 a
Estatística	F=10,04 ^{<0,0001}	F= 0,07 ^{0,9307}

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5%, pelo teste de Tukey.