INTERAÇÃO ENTRE O FUNGO *Metarhizium anisopliae*
(METSCH.) SOROK., 1883 E OS PRINCIPAIS PARASITÓIDES
DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR *Diatraea saccharalis*
(FABRICIUS, 1794)

MARIA ELISABETE GERALDI FOLEGATTI

Engenheiro Agrônomo

Orientador : Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Área de Concentração: Entomologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Setembro - 1985

À minha família,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

- . Ao Dr. Sérgio Batista Alves, Professor Adjunto do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), pelo incentivo e orientação segura na condução deste trabalho;
- . Aos Docentes do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pelos ensinamentos transmitidos e atenção dispensada;
- . À EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) pela concessão da bolsa de estudos para realização do curso de Mestrado em Entomologia;
- . Ao IAA/PLANALSUCAR, nas pessoas do Dr. Paulo Sérgio Botelho e Luiz Carlos de Almeida, pelo fornecimento do material biológico;
- . À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte econômico da pesquisa;
- . À bióloga Vera Aun, pelas sugestões valiosas e acima de tudo, pela amizade sincera e estímulos durante o decorrer da pesquisa;

- . À Dr^a Clarice Garcia Borges Demétrio, pela orientação das análises estatísticas e atenção dispensada;
- . À Sr^a Áurea B. Michelotto pela versão do Summary;
- . Ao Paulo José Costa pela realização dos serviços datilográficos;

Finalmente, mas não por último, aos colegas do curso e as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Í N D I C E

	Página
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok.....	4
2.1.1. Classificação.....	4
2.1.2. Utilização do <i>M. anisopliae</i> para o con- trole das cigarrinhas.....	5
2.1.3. Utilização do <i>M. anisopliae</i> para o con- trole de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.)	10
2.2. Interação entre patógenos e inimigos natu- rais.....	11
2.2.1. Interação entre fungos e parasitos...	11
2.2.2. Interação entre outros tipos de pató- genos e parasitos.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1. Material.....	21
3.1.1. Isolado do fungo <i>Metarhizium aniso- pliae</i> (Metsch.) Sorok.....	21
3.1.2. Meio de cultura.....	22

Página

3.1.3. Insetos utilizados nos bioensaios..	23
3.1.4. Equipamentos.....	24
3.2. Métodos.....	26
3.2.1. Bioensaios com lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.) parasitada por <i>Metagonistylum minense</i> (Townsend.), <i>Paratheresia claripalpis</i> (Wulp.) e <i>Apanteles flavipes</i> (Cam.).....	26
3.2.2. Infestação das lagartas com os insetos parasitos.....	30
3.2.2.1. Exposição das lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.) à oviposição de <i>Apanteles flavipes</i> (Cam.).....	31
3.2.2.2. Infestação das lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.) com larvas das moscas <i>Metagonistylum minense</i> (Townsend.) e <i>Paratheresia claripalpis</i> (Wulp.).....	32
3.2.3. Obtenção do inóculo utilizado nos bioensaios.....	32
3.2.4. Preparação da suspensão de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok.....	33

3.2.5. Inoculação das lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.) com o fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok.	34
3.2.6. Bioensaios com adultos dos parasitos da broca da cana.....	35
3.2.6.1. Experimento II: Inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em adultos de <i>Apanteles flavipes</i> (Cam.).....	35
3.2.6.2. Experimento III: Inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em adultos de <i>Metagonistylum minense</i> (Townsend) e <i>Paratherebia claripalpis</i> (Wulp.)...	36
3.2.7. Bioensaios com pupas dos parasitos da broca da cana.....	38
3.2.7.1. Experimento IV: Inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) em massas de <i>Apanteles flavipes</i> (Cam.)..	38

3.2.7.2. Experimento V: Inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em pupas de <i>Metagonistylum minense</i> (Townsend.) e <i>Paratheresia claripalpis</i> (Wulp.)	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1. Experimento I: interação entre os principais parasitos da broca da cana-de-açúcar <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.) e o fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok.....	41
4.2. Experimento II: inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em adultos de <i>Apantheles flavipes</i> (Cam.).....	76
4.3. Experimento III: Inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em adultos de <i>Metagonistylum minense</i> (Townsend.) e <i>Paratheresia claripalpis</i> (Wulp.).....	77
4.4. Experimento IV: inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em massas de <i>Apantheles flavipes</i> (Cam.).....	79
4.5. Experimento V: inoculação do <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. em pupas de <i>Metagonistylum minense</i> (Townsend.) e <i>Paratheresia claripalpis</i> (Wulp.).....	80

Página

5. CONCLUSÕES.....	84
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

INTERAÇÃO ENTRE O FUNGO *Metarhizium anisopliae*
(METSCH.) SOROKI E OS PRINCIPAIS PARASITÓIDES
DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR *Diatraea saccharalis* (FABR.)

Autor: MARIA ELISABETE
GERALDI FOLEGATTI

Orientador: Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

RESUMO

A presente pesquisa visou determinar as possíveis interações entre o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. var. *minor* (Padrão A), isolado PL-43, e os principais inimigos naturais da broca da cana-de-açúcar representados por *Apanteles flavipes* (Cam.), *Metagonistylum minense* (Townsend) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp.), já que ambos, patógeno e parasitos, vêm sendo utilizados conjuntamente nas regiões canavieiras, do Nordeste do país.

Para se verificar a natureza dessas interações, a praga foi submetida a 8 diferentes condições, combinando-se a inoculação pelo fungo com as inoculações pelos parasitos em três fases de seu desenvolvimento, nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Os parâmetros avaliados nesse experimento foram a porcentagem de mortalidade da praga em cada condição, período de desenvolvimento dos parasitos em lagartas de *D. saccharalis*, período pupal dos parasitos e porcentagem de emergência dos mesmos.

Constatou-se que a aplicação conjunta do *M. anisopliae* associado aos parasitos da broca da cana foi mais eficiente que a aplicação do fungo isoladamente e também que a inoculação do fungo não foi prejudicial aos parasitos quando este foi inoculado 1, 3 e 6 dias após a inoculação das lagartas com os parasitos.

A ação direta do fungo sobre pupas e adultos dos parasitos foi também avaliada nas temperaturas de 22, 26 e 30°C, aplicando-se o patógeno na concentração de 10^7 conídios/ml de suspensão. As pupas dos três parasitos foram inoculadas por imersão e os adultos foram inoculados através do contato com recipientes infestados pelo fungo, não tendo sido observado casos de infecção desses estágios pelo *M. anisopliae*.

Concluiu-se finalmente, que é possível a utilização conjunta do *M. anisopliae* e os parasitos da broca dentro de um esquema de manejo integrado das pragas da cana-de-açúcar.

INTERACTION BETWEEN THE FUNGUS *Metarhizium anisopliae*
(METSCH.) SOROK. AND THE MAIN PARASITOIDS OF THE
SUGARCANE BORER *Diatraea saccharalis* (FABR.)

Author: MARIA ELISABETE
GERALDI FOLEGATTI

Adviser: Dr. SÉRGIO
BATISTA ALVES

SUMMARY

The present research was aimed at determining the possible interactions between the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. var. *minor* (Standard A), isolate PL-43, and the main natural enemies of the sugarcane borer, represented by *Apanteles flavipes* (Cam.), *Metagonistylum minense* (Townsend) and *Paratheresia claripalpis* (Wulp.) since pathogen and parasites have both been simultaneously used in the sugarcane-growing regions of Northeast Brazil.

In order to assess the nature of these interactions, the pest was subjected to eight different conditions, combining the inoculation by the fungus with the inoculation by the parasites in three different development stages, at the temperatures of 22, 26 and 30°C.

The parameters evaluated in this experiment were: mortality percentage for the pest under each condition, period of development of the parasites on larvae of *D. saccharalis*, pupal period of parasites and their emergence percentage.

It was found that the simultaneous application of *M. anisopliae* associated with the parasites of the sugarcane borer was more effective than the sole application of the fungus, and also that the inoculation of the fungus was not harmful to the parasites when these were inoculated 1, 3 and 6 days after inoculation of the larvae with parasites.

The direct action of the fungus on pupae and adult parasites was also evaluated at the temperatures of 22, 26 and 30°C, applying the pathogen in a concentration of 10^7 conidia/ml suspension. The pupae of the three parasites were inoculated by immersion and the adults were inoculated by contact with fungus-infected containers, and no cases were observed of infection by *M. anisopliae* in these stages.

Finally, it was concluded that it is possible to simultaneously use *M. anisopliae* and parasites of the sugarcane borer within a program of integrated management of the sugarcane pests.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a cultura da cana-de-açúcar vem assumindo posição de destaque no Brasil, devido ao grande incentivo governamental visando a diversificação das fontes energéticas.

À medida que as áreas de cana-de-açúcar vêm aumentando é de se esperar um crescimento proporcional da população das pragas chaves da cultura representadas pelas cigarrinhas e brocas, as quais constituem fatores limitantes da produção agrícola e industrial resultando em consideráveis prejuízos econômicos.

Atualmente, para o controle da broca da cana *Diatraea saccharalis* (Fabr.), vêm sendo utilizados os parasitos de lagartas *Apanteles flavipes* (Cam.), *Metagonistylum minense* (Townsend.) e *Paratheresia claripalpis* Wulp, os quais são produzidos em laboratórios e liberados no campo.

Além desses parasitos ocorrem também, em condições naturais, inimigos de ovos da broca da cana como os tricogramatídeos, forficulídeos, carabídeos e outros.

Também, o controle da broca grande da cana *Castnia lícus* (Drury) tem sido tentado nas condições do Nordeste brasileiro com a utilização das duas espécies do fungo *Beauveria*.

Com relação ao controle da cigarrinha *Mahanarva posticata* Stal, considerada uma das pragas chaves da cana, tem sido utilizado o controle microbiano com o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Esse tipo de controle vem sendo aplicado em mais de 100.000 ha de cana nas condições do Nordeste brasileiro.

Da mesma maneira, os inimigos naturais de cigarrinhas representados por *Salpingogaster nigra* (Schin.) e *Acmonynema hervali* Gomes, são comumente observados atacando ninfas e ovos.

Como a tendência moderna é da utilização do manejo de pragas, o qual visa a associação de diferentes métodos de controle, o emprego dos entomopatógenos deverá ser compatível com os inimigos naturais das diversas pragas da cana.

Apesar da grande utilização do *M. anisopliae* em programas de controle de pragas da cana-de-açúcar e principalmente, da cigarrinha das folhas no Nordeste, pouco se conhece sobre as possíveis interações desse patógeno com os inimigos naturais das cigarrinhas e parasitos da broca dentro do a-

groecossistema da cana-de-açúcar.

Sendo assim, a presente pesquisa teve por objetivo determinar as possíveis interações entre o fungo *M. anisopliae* var. *minor* (Padrão A) e os principais inimigos naturais da broca da cana-de-açúcar, representados por *A. flavipes*, *M. minense* e *P. claripalpis*, já que ambos, patógeno e parasitos vêm sendo utilizados conjuntamente na região canavieira do Nordeste.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.

2.1.1. Classificação

O fungo *Metarhizium anisopliae* é um patógeno da classe Hyphomycetes, ordem Moniliales, família Moniliaceae. Foi descrito por Metschnikoff em 1879 como *Entomophthora anisopliae* Metschnikoff, infectando larvas do besouro *Anisopliae austriaca*. O autor descreveu a espécie desenhando conídios de comprimentos variáveis, porém no trabalho descreve conídios de 4,8 micrômetros de comprimento. Sorokin, em 1883, estudando a mesma espécie, incluiu-a no gênero *Metarhizium* citando as dimensões de 4,8 por 1,6 micrômetros. Assim, o patógeno passou a ser designado como *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin.

Johnson, em 1915, diferenciou as formas *major* com conídios de 11,9 por 3,0 micrômetros e a *minor* com conídios de 3,5 por 2,0 a 3,0 micrômetros, as quais ocorrem sobre diferentes

hospedeiros (PETCH, 1931; STEINHAUS, 1949; KENDRICK, 1971 e TULLOCH, 1976).

TULLOCH (1976) revisou a taxonomia do gênero *Metarhizium* e manteve duas espécies: *Metarhizium flavoviride* (Gams Rozsypal), *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. var. *anisopliae* (também referida como *minor*) e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. var. *major* (Johnston). O autor considerou sinonímia da espécie *M. anisopliae* duas outras: (1) *M. album*, por entender que a forma descrita correspondia a um isolado imaturo de *M. anisopliae*; (2) *M. brunneum*, porque a julgou um mutante natural cor marrom da forma selvagem de *M. anisopliae* que é verde-oliva.

2.1.2. Utilização do fungo *M. anisopliae* para o controle de cigarrinhas

Quanto ao uso de *M. anisopliae* nas culturas de cana-de-açúcar, RORER (1910) propôs a produção desse fungo, principalmente, devido à facilidade de obtenção de conídios.

O mesmo autor, em 1913, relatou que, após ter efetuado a aplicação de 2,8 kg de conídios de *M. anisopliae* por ha, conseguiu uma média de 92 insetos mortos por perfilho de cana-de-açúcar após 6 semanas, o que representa aproximadamente 460.000 insetos mortos por hectare.

No Brasil, GUAGLIUMI (1970) executou o primeiro experimento de controle de cigarrinhas da cana-de-açúcar, utilizando o *M. anisopliae*, quando obteve resultados muito promissores. Em 1971 e 1972, continuando seus experimentos, o autor relatou que esse fungo provocou 80% de mortalidade de ninfas e adultos de cigarrinhas após 15 dias da aplicação. Comunicou também que a média de mortalidade dos diversos estágios de desenvolvimento do inseto, após 30 a 60 dias da aplicação, em 26 campos tratados, foi de 35%, sendo a mortalidade de ninfas de 40 a 50%.

Da mesma maneira que no Estado de Pernambuco, o fungo contribui para o controle das cigarrinhas nas regiões canavieiras de Campos (RJ) e do sul do Brasil. Tanto no Estado do Rio de Janeiro, como em Santa Catarina esse patógeno ocorre naturalmente (ALVES, inf. pessoal).

GUAGLIUMI *et alii* (1974) visando o controle de *Mahanarva posticata* com o fungo *Metarhizium anisopliae*, efetuaram aplicações terrestres usando 40 garrafas de Roux do fungo em 400 litros de água/ha e aplicações aéreas com 30 garrafas/80 litros de água/ha obtendo 30 a 40% de mortalidade de ninfas e 20 a 30% de infecção de adultos. Os autores relataram, que nas áreas tratadas, outros insetos foram colonizados pelo fungo, tais como: *Diatraea* spp., *Metamasius hemipterus*, *Sporoptera frugiperda* e *Cirphis* sp.

AQUINO (1974) constatou em um ensaio experimental com *M. anisopliae* em cana-de-açúcar que ocorreu parasitismo

mo de cigarrinhas pelo fungo 5 dias após a sua aplicação, sendo que o patógeno permaneceu no campo por um período de 18 meses, causando diferentes graus de infecção nos diferentes estágios de desenvolvimento do inseto.

MACEDO *et alii* (1977) realizaram, na região de Ribeirão Preto, um trabalho de controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal.) com *M. anisopliae*, obtendo na 4ª e 8ª semanas 23,36 e 41,49% de mortalidade, respectivamente.

No Estado de Pernambuco, entre os anos de 1972 e 1978, a área tratada com Metaquino passou de 500 para 50.000 ha, obtendo-se um controle de cigarrinhas altamente satisfatório. O IAA/PLANALSUCAR adotou um programa similar, na unidade de produção de Maceió (AL), capaz de fornecer material suficiente para tratar diariamente 100 ha de cana-de-açúcar.

Segundo RISCO (1978), para o controle biológico de *Mahanarva posticata* utilizou-se o fungo *Metarhizium anisopliae* em diferentes formulações em 20.000 ha de cana-de-açúcar nos anos 1977/78, obtendo-se uma redução na infestação por ninfas e adultos. Já no ano de 1979, a área tratada com o fungo foi 53.554 ha, só no Estado de Alagoas, sendo 38.994 ha aplicados por via terrestre e 16.610 ha por via aérea, com aproximadamente 33% de infecção de ninfas (MENDONÇA e COSTA, 1980).

Em 1980, a área total de cana-de-açúcar tratada com o fungo *Metarhizium anisopliae* foi de 101.105 ha abrangendo os estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, obtendo-se uma mortalidade média de 23,14% para nin-

fas e 40,39% para adultos de *Mahanarva posticata*. Dessa forma, o fungo entomógeno *Metarhizium anisopliae* é atualmente o mais importante agente de controle da cigarrinha *M. posticata* (MARQUES, 1981).

Atualmente, a ESALQ/IAA/PLANALSUCAR estão executando um projeto que visa estudos básicos e aplicados com o fungo *M. anisopliae* para o controle da cigarrinha *M. posticata*.

Com relação ao controle de cigarrinhas das pastagens o *M. anisopliae* vem sendo muito utilizado nos Estados da Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Paraná, Minas Gerais e São Paulo, obtendo-se resultados bastante contraditórios. Segundo ALVES (1982), isso se deve a alguns aspectos importantes tais como: qualidade do fungo, quantidade do fungo aplicada por unidade de área, seleção de raças e falta de pesquisas básicas.

Dessa forma, PACHECO e BERNARDES (1976), testando três concentrações de *M. anisopliae* contra *Zulia entneriana*, no Espírito Santo, não obtiveram resultados positivos devido à falta de umidade na época da aplicação do fungo e à baixa densidade populacional do hospedeiro. No entanto, VEIGA (1979), em testes de laboratório com *Aeneolamia selecta* e *Deois incompleta*, obteve cerca de 100% de controle para ninfas e adultos. Por outro lado, para condições de campo, o autor constatou a existência de um condicionamento ecológico acentuado em relação à eficiência de controle das cigarrinhas pelo fungo *M. anisopliae* em suspensão aquosa de esporos, já que, das cinco localidades

pulverizadas, em apenas três obteve controle satisfatório.

VILLACORTA (1980) testou diferentes isolados de *M. anisopliae* sobre ninfas de *Deois flavopicta* e observou a existência de uma grande variação no grau de eficiência dos diferentes isolados de *M. anisopliae*, o que indica a existência de especificidade destes isolados, e que os diferentes graus de especificidade estão ligados a determinadas condições de temperatura e umidade relativa.

FERRAZ *et alii* (1980), com o objetivo de avaliar a eficiência do *M. anisopliae* no controle das cigarrinhas das pastagens, testaram as dosagens de 600, 900, 1.200 e 1.500 g/ha. Segundo os autores, embora o ensaio não tenha mostrado diferenças estatísticas entre as dosagens do fungo, foi observada diferença entre a testemunha e os demais tratamentos com relação aos adultos. Por outro lado, não houve diferenças entre os tratamentos para ninfas.

COSENZA *et alii* (1981) fazem referência ao *M. anisopliae* para controle integrado das cigarrinhas das pastagens, ressaltando a necessidade de condições ecológicas favoráveis e do uso de uma cepa selecionada do fungo que possua características adequadas.

Dessa forma, NAVES (1981), testando duas linhagens de *Metarhizium anisopliae* sobre *Deois flavopicta* e *Zulia entreci*na, obteve níveis de infecção variando de 60 a 90%, tendo concluído que a cepa E-9 foi mais virulenta que a cepa E-6. NAVES e TEIXEIRA ALVES (1983) publicaram um procedimento teórico para compara

ção de linhagens e dosagens de *M. anisopliae* em campo.

2.1.3. Utilização do *M. anisopliae* para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.)

Com relação à utilização do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr.), sabe-se que o fungo é patogênico para todos os estágios de desenvolvimento da praga.

GUAGLIUMI *et alii* (1974) fez a primeira referência sobre o *M. anisopliae* colonizando *Diatraea* spp. em áreas de cana-de-açúcar submetidas ao tratamento com o fungo para o controle de cigarrinhas. Posteriormente, ALMEIDA *et alii* (1981a), estudando o efeito de diversas dosagens do *M. anisopliae* isolado SPL-3B em lagartas de *D. saccharalis*, concluíram que 50% da população de lagartas e crisálidas poderiam morrer com dosagens de $4,7 \times 10^5$ a $2,9 \times 10^6$ esporos/gota (aproximadamente 10 microlitros), no 6º dia e de 2×10^5 e $1,6 \times 10^6$ esporos/gota no 9º dia.

ALMEIDA *et alii* (1981b e 1981c) estudaram também em condições de laboratório os efeitos do *M. anisopliae* sobre ovos de *D. saccharalis* obtendo resultados excelentes de controle.

ALMEIDA e ALVES (1982) efetuaram biotestes, vi-

sando provar a patogenicidade do *M. anisopliae* para *D. saccharalis*, obtendo um controle da ordem de 100% para lagartas de broca da cana, quando inoculadas por "rolamento", com potencial de inóculo de 10^6 conídios por larva, caracterizando o *M. anisopliae* como um possível agente controlador e sugerindo o seu uso em programas de controle biológico.

Ainda sobre *Diatraea saccharalis*, ALMEIDA (1983) concluiu que o fungo entomopatôgeno *M. anisopliae* apresenta "in vitro" alta eficiência no controle de ovos e larvas da broca da cana-de-açúcar e que tanto as lagartas provenientes de ovos inoculados com *M. anisopliae* quanto as pupas provenientes de larvas inoculadas, também são colonizadas pelo fungo. O autor concluiu ainda que os ovos de *D. saccharalis* com 1 a 3 dias de idade, inoculados com uma suspensão de aproximadamente $1,0 \times 10^7$ conídios/ml de *M. anisopliae* apresentam taxa de mortalidade superior a 79%.

2.2. INTERAÇÃO ENTRE PATÓGENOS E INIMIGOS NATURAIS

2.2.1. Interação entre fungos e parasitos

É muito provável que alguns entomopatôgenos possam influenciar populações de parasitos e espécies predadoras, porém no geral, muito menos do que os inseticidas químicos. Assim, ROCKWOOD (1950) relatou que o fungo *Metarhizium anisopliae*

(Metsch.) Sorok. foi encontrado em 1928 em larvas de *Porosogrotis vetusta* (Walver) e também em seu parasito do gênero *Amphiteles*.

BELL e HAMALE (1971) demonstraram que quando populações de campo de larvas de *Chalcodermus aeneus*, já estressadas pela bactéria *Serratia marcescens* e o parasito *Myophasia globosa* são tratados com *Metarhizium*, altas concentrações de esporos são menos efetivas do que as concentrações mais baixas. Salientaram também, que com esses patógenos, o nível de atividade antagônica obtido pelo teste estava entre 0,4 e $1,6 \times 10^6$ esporos de *Metarhizium* por grama de solo.

BURLEIGH (1975) relatou que o parasitismo por *Microplitis croceipes* no campo pode ser reduzido pela interferência do fungo *Nomuraea rileyi*.

Nos EUA, estudos de campo mostraram uma relação inversa entre a incidência de doenças fúngicas e o parasitismo por espécies de himenópteros em populações de *Thyridopteryx ephemeraeformis*. Esse fato foi atribuído a diferentes respostas do fungo e do parasito a condições do tempo (BERISFORD e TSAO, 1975).

Por outro lado, SMITH *et alii* (1976) relataram que *Microplitis croceipes* e *Nomuraea rileyi* foram os maiores inimigos naturais de espécies de *Heliothis* no Mississipi, sendo que ambos foram predominantes durante a última estação e *M. croceipes*, ocasionalmente completou seu desenvolvimento na lagarta hospedeira, a qual também mostrou sintomas de infecção por

N. rileyi.

Baseados nesses dados, KING e BELL (1978) investigaram alguns aspectos da interação entre *Microplitis croceipes* e *Nomuraea rileyi* verificando que quando a lagarta hospedeira *Heliothis zea* era parasitada pelo *M. croceipes* e imediatamente após, tratada com o fungo, a taxa de parasitismo normal de *M. croceipes* reduzia e o número infectado com o fungo aumentava. Por esse fato, pode-se concluir que o parasitóide predispõe o hospedeiro à infecção pelo fungo. Contudo, a redução do parasitismo foi atribuída, especialmente quando este foi "inoculado" após 3 e 7 dias da inoculação com o fungo, à diminuição de suscetibilidade das lagartas, devido a sua idade avançada. A diminuição após 1 dia foi relacionada com um possível antagonismo entre patógeno e o desenvolvimento da larva do parasitóide.

Também, EL-SUFTY e FÜHER (1981) estudaram a inter-relação entre *Apanteles glomeratus* e o fungo *Beauveria bas*siana sobre *Pieris brassicae* concluindo que *P. brassicae* se tornou mais sensível ao fungo devido aos efeitos patofisiolôgicos das larvas de *Apanteles* sobre sua cutícula. Contudo, após a penetração, o fungo desenvolveu-se mais vagarosamente em larvas parasitadas do que em larvas não parasitadas, o que significa que as larvas parasitadas teriam uma grande chance de escapar da infecção letal pelo fungo.

McCOY (1981) relatou que apesar dos hospedeiros de *Hirsutella thompsonii* serem principalmente limitados à ordem Acarina, somente *Typhlodromalus peregrinus*, entre os âcaros

predadores, tem sido encontrado infectado por esse fungo. Outros predadores invertebrados e parasitos nunca foram encontrados afetados adversamente em aplicações artificiais de *H. thompsonii*. Porém, ALVES (comunicação pessoal) encontrou um fungo do gênero *Hirsutella* parasitando insetos da ordem Dermaptera.

Segundo IGNOFFO *et alii* (1976) e PHADKE e RAO (1978), três predadores *Hippodamia convergens*, *Chrysopa carnea*, *Podisus maculiventris* e três parasitos *Voria ruralis*, *Apanteles marginiventris* e *Campoletis sonorensis* e um parasito de ovos *Telenomus proditor*, não são suscetíveis ao fungo *Nomuraea rileyi* quando expostos a doses de conídios cerca de 25 vezes maiores do que aquelas usadas em experimentos de campo para induzir epizootias.

2.2.2. Interação entre outros tipos de patógenos e parasitos

KAYA (1978) relatou a interação do nematóide *Neoplectana carpocapsae* com *Apanteles militaris*, um parasitóide das lagartas de cereais *Pseudaletia unipuncta*, ressaltando que a raça DD-136 do nematóide pode afetar indiretamente o parasitóide, matando o hospedeiro antes que *A. militaris* possa completar seu desenvolvimento. Assim, lagartas contendo parasitóides em estágios avançados de desenvolvimento produzem alta porcentagem de casulos normais quando comparadas com aque-

las contendo parasitóides em estágios iniciais de desenvolvimento. O autor concluiu também, que o nematóide é capaz de infectar adultos e pupas cujo casulo não esteja formado por ocasião do contato com o patógeno. No entanto, *A. militaris* parece não ter efeito adverso sobre *N. carpocapsae*, que pode se desenvolver e reproduzir em larvas do hospedeiro de onde o parasitóide tenha emergido.

VAIL *et alii* (1972), estudando o efeito dos defensivos químicos e microbianos sobre dípteros e himenópteros parasitos de lepidópteros pragas da cultura da alface, concluíram que os inseticidas químicos têm um efeito severo sobre esses parasitos (28% das larvas parasitadas na testemunha contra 1,1% nos canteiros tratados com químicos) enquanto que os inseticidas microbianos têm um efeito deletério sobre os mesmos (28% contra 5,2 a 15,4%) o que pode limitar o controle pela combinação de patógenos e parasitos.

BRACKEN e BUCHER (1967), em uma nota sobre a mortalidade de himenópteros parasitos causada por *Serratia marcescens*, relataram que a sobrevivência das larvas do parasito foi em torno de 90% (normal) durante 5 gerações. Contudo, apesar das larvas que ingerem as bactérias do hospedeiro não sofrerem os efeitos deletérios, quando transformam em adultos, são capazes de transmitir o patógeno para outros adultos que sofrem septicemia total.

Da mesma forma, BELL *et alii* (1974), estudando a inter-relação de *Heliothis zea* com *Microplites croceipes* e a bac

téria *Serratia marcescens*, observaram que a alimentação de parasitos adultos com *S. marcescens* resultou em 79% de mortalidade em 7 dias. No entanto, quando o parasito se desenvolve dentro de hospedeiros infectados, essa patogenicidade não é tão evidente. Contudo, a porcentagem de emergência de adultos do parasito, sugeriu uma interação antagônica entre a bactéria e o desenvolvimento do parasito. Com relação ao hospedeiro, os autores concluíram que quando o efeito dos 2 estressores foi combinado, alta mortalidade foi observada.

Também efetiva redução do parasitismo por *Solenotus intermedium* e *Halticoptera aenea* em *Liriomyza* spp. (SHOREY e HALL, 1963) e por *Apanteles glomeratus* e *Phanerotoma flavitestacea* em *Pieris brassicae* e *Ephestia kueniella* (MARCHAL-SEGAULT, 1974) tem sido atribuído ao *Bacillus thuringiensis*. Ingestão de esporos de *B. thuringiensis* reduziu a longevidade de *Cardiochiles nigriceps*, porém a exposição deste parasito ou do predador, *Jalysus spinosus*, ao *B. thuringiensis* não influenciou na longevidade destes (DUNBAR e JOHNSON, 1975).

Por outro lado, JAQUES (1965) relatou que, em um pomar de maçãs no Canadá em que o *B. thuringiensis* foi o único inseticida aplicado por um período de 4 anos, somente um hemíptero predador *Antractonomus mali* foi extingüido.

No entanto, a compatibilidade de *B. thuringien*
sis e espécies predadoras foi adicionalmente indicada por consistente redução das populações de larvas de *Lymanthria dispar* em florestas do nordeste dos U.S.A., tratadas com *B. thuringien*
sis em conjunto com liberação do parasito *Apanteles melonosce-*

lus (WOLLAM e YENDOL, 1976 e AHMAD *et alii*, 1978).

Segundo Forsberg (1976), citado por JAKUES e MORRIS (1981) numa avaliação crítica do impacto de *B. thuringiensis* no ambiente, não houve evidências, de que essa bactéria foi antagônica para parasitos ou predadores.

No tocante aos relatos sobre a diminuição do parasitismo em parcelas tratadas com o *B. thuringiensis*, as causas não foram determinadas, nem testada a infectividade da bactéria para as espécies não visadas, mas é possível que a redução da taxa de parasitismo tenha resultado da diminuição da população do hospedeiro.

Com relação ao uso combinado de parasitóides e viroses, LAIGO e PASCHKE (1968) encontraram que o período para a emergência do adulto do parasito *Pteromalus* sp., foi encurtado por tratamento de larvas do hospedeiro *Pieris rapae* com G.V. Os resultados mostraram que os microrganismos interferem no desenvolvimento dos entomófagos parasitos, quando ambos, microrganismo e parasito estão presentes ao mesmo tempo no hospedeiro.

O parasitóide *Apanteles militaris* é suscetível, em seus estágios embrionário e larval, a uma toxina produzida durante a infecção de G.V. em lagartas de *Pseudaletia unipuncta*. Ovos do parasitóide, quando colocados em lagartas contaminadas pelo vírus, não completam seu desenvolvimento embrionário (KAYA, 1970).

Também KAYA e TANADA (1973) observaram que o desenvolvimento do parasitóide *Apanteles militaris* foi prejudicado quando o plasma não fracionado de lagartas de *Pseudaletia unipuncta* infectadas por uma raça hipertrófica do seu NPV foi injetado dentro do hospedeiro.

Em outro estudo de laboratório, infecções de *Heliothis virescens* com NPV dentro de dois dias após a oviposição por *Campoletis sonorensis* reduziram substancialmente a sobrevivência do parasito (IBARAGON e BROOKS, 1974). Similarmente, o parasito *Hyposoter exiguae* morreu em lagartas de *Trichoplusia ni* expostas a NPV, dois ou mais dias antes e quatro dias após o parasitismo (BEEGLE e OATMAN, 1975).

De acordo com REARDON e PODGWAITE (1976), a incidência de NPV foi positivamente correlacionada com a incidência de parasitóides em populações de *Lymanthria dispar* no leste dos USA indicando ser mutuamente vantajosa a ação conjunta.

Por outro lado, DILAWARI *et alii* (1981), em observações de campo, relataram que durante o pico populacional de *Mythimma separata*, o parasitismo larval por *Apanteles rufri-cus* foi em torno de 95% e que viroses contribuíram para o declínio da praga antes dela atingir o estágio pupal.

TANADA (1955) relatou a interação no campo entre *Apanteles glomeratus* e o protozoário *Perezia mesmeli*, sobre *Pieris rapae*. As larvas do braconídeo encontradas em lagartas infectadas de *Pieris rapae* foram também infectadas, assim como os adultos que desenvolveram-se destas. No entanto, o au-

tor observou que, os ovos depositados por fêmeas infectadas do parasito, eram viáveis.

THOMSON (1958) relatou que o microsporídeo *Perezia fumiferanae* exerce uma influência adversa sobre as larvas dos parasitos *Apanteles fumiferanae* e *Glypta fumiferanae* em lagartas de *Choristoneura fumiferana*.

Da mesma forma, LAIGO e TAMASHIRO (1967) e LAIGO e PASCHKE (1968) concluíram que as larvas de *Apanteles* criadas em lagartas infectadas por *Nosema* apesar de não demonstrarem nenhuma mudança histopatológica, foram menores, viveram menos, e foram fisiologicamente afetadas, tanto que, a eficiência total foi reduzida. No entanto, os autores ressaltaram, que esses efeitos deletérios de redução da população de adultos do parasito, provavelmente são mais do que compensados pela habilidade do parasito em transmitir o patógeno.

Também, HOSTOUNSKÝ (1970) demonstrou histologicamente a infecção de *Apanteles glomeratus*, *Hyposoter ebeninus* e *Pimpla instigator*, todos parasitóides de *Pieris brassicae*, pelo patógeno *Nosema mesnili* com materiais coletados no campo, e concluiu que a infecção ocorre através de diferentes vias, tais como, alimentação do parasitóide em tecidos infectados do hospedeiro; transmissão através de ovos do parasitóide ou através do contato das larvas ou adultos do parasitóide com tecidos infectados do hospedeiro.

BROOKS e CRANFORD (1972) mostraram que *Nosema heliothidis* pode infectar o braconídeo parasito *Campoletis sonorensis* quando este se desenvolve em lagartas infectadas de

Heliothis zea. Todos os estágios de *C. sonorensis* mostraram infecção sistêmica, e o patógeno foi transmitido transovarianamente por fêmeas infectadas do parasito. Apesar de não ter havido efeito substancial sobre o período de desenvolvimento de *C. so*norensis em lagartas infectadas, após a emergência como pré-pupas, 23,1% destas, não atingiram o estágio adulto.

BROOKS (1973) fez uma revisão detalhada sobre os tipos de inter-relação entre hospedeiros-parasitos e protozoários patogênicos sendo a discussão centrada no papel dos insetos parasitos na transmissão mecânica de protozoários, no desenvolvimento do parasito em hospedeiros infectados por protozoários, na transmissão transovariana do protozoário do hospedeiro pelo parasito, além de outros aspectos.

Os protozoários *Glugea gasti* e *Nosema pyrausta* afetaram adversamente o desenvolvimento de *Bracon mellitor* (BELL e McGOVEN, 1975) e *Macrocentrus grandii* (ANDREASIS, 1980) que parasitam *Anthonomus grandis* e *Ostrinia nubilalis*, respectivamente.

Mais recentemente, HAMM *et alii* (1983) concluíram que *Vairimorpha* sp. poderia ser usada em conjunto com *Cotesia* (= *Apanteles*) *marginiventris* ou *Microplitis croceipes* no controle biológico de *Heliothis zea* devido ao fato de que o patógeno não pareceu reduzir a efetividade desses parasitóides.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. Isolado do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.

O presente estudo foi desenvolvido no laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

O patógeno utilizado foi o *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. isolado PL-43, originalmente obtido de cigarinhas *Mahanarva posticata* (Stal.) provenientes da Usina Peixe, Fleixeiras, Estado de Alagoas. Esse isolado apresentou o padrão A, conforme a Figura 1, segundo ALVES *et alii* (1983).

PL - 43

Figura 1 - Zimograma para α -esterase do fungo *M. anisopliae* var. *minor*, isolado PL-43 (Padrão A).

3.1.2. Meio de cultura

Meio: Ágar-batata-dextrose + antibiótico (ABD + antibiótico) cuja fórmula é a seguinte:

. batata sem casca.....	200 g
. dextrose.....	15 g
. ágar.....	20 g
. Streptoduocin veterinário.....	0,5 g
. água destilada, completar até.....	1000 ml

3.1.3. Insetos utilizados nos bioensaios

Broca da cana-de-açúcar: *Diatraea saccharalis*

(Fabr., 1794)

Provenientes da criação do laboratório de Controle Biológico do IAA/PLANALSUCAR, criadas em dieta artificial de HENSLEY e HAMMOND, modificada pelo IAA/PLANALSUCAR (MENDES *et alii*, 1980). As lagartas utilizadas no ensaio, foram na maioria do 4º ínstar.

Mosca do Amazonas: *Metagonistylum minense*

(Townsend., 1926)

Oriundos da criação do laboratório de Controle Biológico do IAA/PLANALSUCAR, criados sobre lagartas de *Diatraea saccharalis*.

Mosca Paratheresia: *Paratheresia claripalpis*

(Wulp., 1896)

Provenientes da criação do laboratório de Controle Biológico do IAA/PLANALSUCAR, criados sobre *Diatraea saccharalis*.

Micro-himenóptero: *Apanteles flavipes*

(Cam., 1891)

Oriundos da criação do laboratório de Controle Biológico do IAA/PLANALSUCAR, criados sobre *Diatraea saccharalis*.

3.1.4. Equipamentos

- . capela de fluxo vertical marca VECO, modelo VLFS-09, que proporcionou as condições de assepsia para os trabalhos de isolamento, purificação e inoculação.
- . estufa incubadora BOD, marca FANEM, modelo 347-G, equipada com lâmpada fluorescente modelo F 15-T 12/LD.
- . balança marca METTLER, com indicadores digitais, modelo PB-300 e balança analítica marca BOSCH, modelo S-2000.
- . agitador elétrico, marca ETICA, para homogeneização da suspensão do inóculo (com capacidade de 108 rotações/min até 310 rotações/min).
- . microscópio comum OLYMPUS.
- . câmara de Neubauer destinada a quantificação do inóculo.

- . câmara de inoculação de plástico, de 6 cm de diâmetro por 2 cm de altura (Figura 2).

Figura 2 - Câmara de inoculação de plástico:

- a) suporte de arame;
- b) tampa desmontável;
- c) base.

- . gaiolas teladas para a inoculação dos adultos dos parasitos.
- . outros materiais: estufa para esterilizar a seco, autoclave, placas de Petri, alça de Drigalsky, alça de platina, algodão, álcool, solução de hipoclorito de sódio 5%, água destilada esterilizada com espalhante adesivo Agral 1%, pinças, papel de alumínio, papel filtro, lâminas, erlenmeyer, becker, pipeta automática de duplo estágio modelo pipemat de 5 e 10 microlitros e bisturis.

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Bioensaios com lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) parasitada por *Metagonistylum minense* (Townsend.), *Paratheresia claripalpis* (Wulp.) e *Apanteles flavipes* (Cam.)

Para se verificar a possível interação entre os parasitos e o fungo *M. anisopliae* efetuou-se o seguinte bioensaio que foi denominado de Experimento I.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, esquema fatorial com 8 condições da praga e 3 fases de aplicação do fungo totalizando 24 tratamentos.

Foram utilizadas 20 lagartas por parcela, perfazendo um total de 480 lagartas no experimento.

Esse experimento foi realizado seis vezes na temperatura de 26°C e três vezes nas temperaturas de 22 e 30°C, sendo cada montagem considerada um bloco.

Os tratamentos foram os seguintes:

- . FASE 1: lagartas de 4º ínstar de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) parasitadas por *Metagonistylum minense* (Townsend.), *Paratheresia claripalpis* (Wulp.) e *Apanteles flavipes* (Cam.) e após 1 dia inoculadas com o fungo *Metarhizium anisopliae*.

- Condição I: lagartas do 4º ínstar de *D. saccharalis* criadas normalmente em dieta natural (pedaços de colmo de cana-de-açúcar).
- Condição II: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* inoculadas com a suspensão de conídios de *M. anisopliae*.
- Condição III: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à oviposição de *A. flavipes*.
- Condição IV: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à oviposição de *A. flavipes* e após um dia, inoculadas com *M. anisopliae*.
- Condição V: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição de *M. minense*.
- Condição VI: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição de *M. minense* e após um dia, inoculadas com *M. anisopliae*.
- Condição VII: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição de *P. claripalpis*.
- Condição VIII: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* subl

metidas à larviposição de *P. claripalpis* e após um dia, inoculadas com *M. anisopliae*.

- . FASE 2: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* parasitadas por *M. minense*, *P. claripalpis* e *A. flavipes* e após 3 dias, inoculadas com o fungo *M. anisopliae*.

- Condição I: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* criadas em dieta natural.
- Condição II: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* inoculadas com suspensão de conídios de *M. anisopliae*.
- Condição III: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à oviposição de *Apanteles flavipes*.
- Condição IV: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à oviposição de *A. flavipes* e após 3 dias, inoculadas com *M. anisopliae*.
- Condição V: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis*, submetidas à larviposição por *M. minense*.
- Condição VI: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *M. minense* e após 3 dias, inoculadas com *M. anisopliae*.

- Condição VII: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *P. claripalpis*.
- Condição VIII: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *P. claripalpis* e após 3 dias inoculadas com *M. anisopliae*.
- . FASE 3: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* parasitadas por *M. minense*, *P. claripalpis* e *A. flavipes* e após 6 dias, inoculadas com o fungo *M. anisopliae*.
- Condição I: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* criadas normalmente em dieta natural:
- Condição II: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* inoculadas com suspensão de conídios de *M. anisopliae*.
- Condição III: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à oviposição por *A. flavipes*.
- Condição IV: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à oviposição por *A. flavipes* e após 6 dias, inoculadas com *M. anisopliae*.
- Condição V: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *M. minense*.

- Condição VI: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *M. mínense* e após 6 dias, inoculadas com *M. anisopliae*.
- Condição VII: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *P. claripalpis*.
- Condição VIII: lagartas de 4º ínstar de *D. saccharalis* submetidas à larviposição por *P. claripalpis* e após 6 dias, inoculadas com *M. anisopliae*.

3.2.2. Infestação das lagartas com os insetos parasitos

Essa fase do trabalho foi realizada no laboratório de Controle Biológico do IAA/PLANALSUCAR de Araras, SP. Depois de submetidas ao parasitismo, as lagartas eram transportadas para o laboratório de Patologia de Insetos da ESALQ - USP, em Piracicaba, SP.

As metodologias para o desenvolvimento dessa fase, foram as normalmente utilizadas nos laboratórios de Controle Biológico da ESALQ e IAA/PLANALSUCAR, conforme serão descritas.

3.2.2.1. Exposição das lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) à oviposição de *Apanteles flavipes* (Cam.)

Em uma gaiola de inoculação foram liberados cerca de 500 adultos de *Apanteles flavipes* (Cam.).

As lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) que haviam sido colocadas em contato com a cana triturada foram retiradas dos frascos e colocadas em placas de Petri ($\pm$ 15 lagartas/vez). Posteriormente, uma a uma as lagartas de broca foram retiradas daquelas placas e levadas para o interior da gaiola de "inoculação", procurando-se a fêmea de *A. flavipes* que imediatamente efetua a postura.

A seguir, estas lagartas foram colocadas individualmente em caixas plásticas e realimentadas com tabletes de dieta de realimentação. Todas as etapas descritas neste item foram realizadas manualmente, sem o auxílio de pinças ou instrumentos semelhantes.

Esta operação foi repetida por mais duas vezes em dias diferentes, conforme o delineamento mencionado no item 3.2.1.

3.2.2.2. Infestação das lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) com larvas das moscas *Metagonistylum minense* (Townsend) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp.)

As lagartas de *D. saccharalis* foram retiradas dos tubos de dieta sendo selecionadas pelo tamanho (15 a 20 mm) e pela motilidade.

Essas lagartas foram então colocadas dentro de uma caixa de Petri debaixo de uma lupa e pinceladas com solução fisiológica. Na mesma placa efetuou-se a dissecação de uma fêmea grávida do parasito, retirando-se as larvas de seu abdome e colocando-as em contato com a lagarta. As lagartas foram então acondicionadas individualmente em caixas plásticas de 6 cm de diâmetro por 2 cm de altura e realimentadas com a dieta artificial.

Essa operação foi repetida por mais duas vezes em dias diferentes, perfazendo as 3 fases mencionadas em 3.2.1.

3.2.3. Obtenção do inóculo utilizado nos bioensaios

Lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) mortas pelo fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 5% + espalhante adesivo Agral a 1% e depois lavadas por duas vezes em água

destilada esterilizada. Essas lagartas ainda com conídios superficiais foram então raspadas com bisturi esterilizado, e uma porção desses conídios transferidos para placas com ABD + antibiótico.

Essas placas foram mantidas a 26°C por um período de ± 5 dias até à obtenção de uma colônia pura. A partir dessa colônia eram preparadas as placas para produção dos conídios utilizados nos experimentos.

3.2.4. Preparação da suspensão de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.

Para a preparação da suspensão, a superfície das colônias foram raspadas para obtenção de 0,1 g de conídios. Estes foram suspensos em 100 ml de água destilada estéril contendo espalhante adesivo Agral, na proporção de 1 gota/litro de água. A suspensão obtida foi colocada no agitador por um período de aproximadamente 2 horas para sua homogeneização.

Em seguida foi realizada a quantificação através da contagem de conídios em uma câmara de Neubauer até a obtenção da concentração de 10^7 conídios/ml de suspensão.

Para a determinação do número de conídios por indivíduo, após a inoculação tomaram-se 20 lagartas ao acaso efetuando-se a lavagem das mesmas em 7 ml de água destilada esterilizada. A partir da suspensão obtida realizou-se a contagem dos

conídios em câmara de Neubauer. A média das contagens foi multiplicada pelo fator 0,35, obtendo-se assim o número de conídios por indivíduo.

3.2.5. Inoculação das lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) com o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.

As inoculações das lagartas de broca da cana-de-açúcar com o fungo *M. anisopliae*, foram realizadas em 3 fases distintas ou sejam: 1, 3 e 6 dias após a inoculação com os parasitos.

Para inoculação das 20 lagartas componentes de um tratamento com o patógeno, as mesmas foram retiradas das caixas plásticas onde eram mantidas após a inoculação com os insetos parasitos. A seguir foram colocadas em uma câmara de inoculação telada de 6 cm de diâmetro por 2 cm de altura, e imersas na suspensão de conídios previamente quantificada, sendo posteriormente recolocadas nas caixas plásticas e alimentadas com pedaços de colmo de cana-de-açúcar. Depois foram transferidas para câmaras do tipo BOD e mantidas na temperatura de $26 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Os insetos foram observados diariamente, anotando-se o número de lagartas mortas pelo fungo, número de crisálidas, número de lagartas mortas por outras causas, número de pupas dos

taquinídeos, massas de *Apanteles*, além de qualquer outra ocorrência de interesse para o trabalho.

Os parasitos que emergiram como pupas foram acondicionados em caixas plásticas até a emergência dos adultos. As observações foram feitas durante o período de 30 dias.

3.2.6. Bioensaios com adultos dos parasitos da broca da cana

Os dois experimentos relacionados a seguir foram realizados para se determinar a possível ação do *M. anisopliae* sobre os adultos dos parasitos da broca.

3.2.6.1. Experimento II: Inoculação do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em adultos de *Apanteles flavipes* (Cam.)

Para se testar a patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. ao braconídeo *Apanteles flavipes* (Cam.), procedeu-se da seguinte forma:

Placas de cristalização de 10 cm de diâmetro por 5 cm de altura foram tratadas com uma suspensão de conídios contendo 10^7 conídios/ml. Depois de secas, uma caixa plástica contendo 2 massas de casulos com mais ou menos 50 parasitos re

cêm-emergidos, foram introduzidas dentro desse recipiente que foi fechado com o plástico Magipac. Os parasitos liberados dentro dessa placa andavam pelas paredes da placa de cristalização entrando em contato com os conídios do fungo, sendo dessa maneira inoculados.

Foram utilizadas 6 dessas placas de cristalização, sendo que as placas I, II e III correspondiam às temperaturas de 22, 26 e 30°C, respectivamente. As placas IV, V e VI representavam as testemunhas, as quais foram tratadas apenas com água esterilizada.

Dentro de cada placa foi colocado um chumaço de algodão molhado com água esterilizada para manter a umidade.

Os insetos foram observados diariamente contando-se o número de mortos. Os insetos mortos eram retirados, desinfestados com solução de hipoclorito a 5%, lavados com água destilada estéril e colocados em placas de Petri contendo meio de cultura ABD, para se verificar o possível desenvolvimento do patógeno.

3.2.6.2. Experimento III: Inoculação do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em adultos de *Metagonistylum minense* (Townsend) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp.)

Para se testar a patogenicidade do fungo *Meta-*

rhizium anisopliae sobre os adultos dos dípteros *Metagonistylum minense* e *Paratheresia claripalpis*, procedeu-se da seguinte maneira:

Uma tira de papel filtro de 36x16 cm que foi banhada em uma suspensão de conídios, contendo 10^7 conídios / ml, foi colocada no interior de gaiolas teladas de 13 cm de diâmetro por 16 cm de altura, facejado as suas paredes. Dentro dessa gaiola foram soltas cerca de 50 moscas, que entravam em contato com os conídios aderidos ao papel quando andavam sobre o mesmo.

Foram utilizadas 12 gaiolas teladas, sendo que nas gaiolas I, II e III foram colocados 50 adultos de *Metagonistylum* em cada uma, e mantidas às temperaturas de 22, 26 e 30°C, respectivamente. As gaiolas IV, V, VI, correspondiam às testemunhas, onde o papel filtro foi banhado apenas com água esterilizada.

Da mesma forma, nas gaiolas VII, VIII e IX foram colocados cerca de 50 adultos de *Paratheresia* em cada uma, e mantidas às temperaturas de 22, 26 e 30°C; sendo que as gaiolas X, XI e XII representaram as testemunhas desse grupo.

Essas gaiolas contendo os insetos foram revisadas diariamente, anotando-se o número de insetos mortos. Estes eram retirados, desinfestados com a solução de hipoclorito, lavados com água destilada estéril e colocados em placa de Petri contendo meio de cultura ABD, para se verificar o possível desenvolvimento do patógeno.

3.2.7. Bioensaios com pupas dos parasitos da broca da cana

Os experimentos relacionados a seguir foram realizados para se determinar a possível patogenicidade do *M. anisopliae* sobre pupas de parasitos da broca da cana.

3.2.7.1. Experimento IV: Inoculação do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em massas de *Apanteles flavipes* (Cam.)

Duas massas de casulos de *Apanteles flavipes* (Cam.) contendo aproximadamente 50 pupas do parasito foram banhadas com uma suspensão de conídios do fungo, contendo 10^7 conídios/ml. As massas após esse tratamento, foram colocadas sobre papel filtro visando absorver o excesso da suspensão de conídios.

Essas massas foram transferidas para uma placa de cristalização de 10 cm de diâmetro por 5 cm de altura e posteriormente mantidas em câmaras BOD sob as temperaturas de 22, 26 e 30°C até a emergência dos micro-himenópteros adultos.

Foram utilizadas no experimento 6 placas de cristalização, sendo que a placa A, recebeu duas massas tratadas e foi colocada à temperatura de 22°C, juntamente com a placa a que recebeu duas massas tratadas com água esterilizada, ao

invés da suspensão de conídios, representando assim a testemu
nha.

Da mesma forma, a placa **B**, que recebeu as massas tratadas foi colocada juntamente com a placa **b** que continha massas não tratadas à temperatura de 26°C e a placa **C** contendo massas tratadas foi colocada juntamente com a placa **c**, com massas não tratadas à temperatura de 30°C.

Após a morte dos insetos estes foram desinfesta
dos com solução de hipoclorito a 5%, lavados por duas vezes em água esterilizada sendo posteriormente transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura ABD, para se verificar o possível desenvolvimento do patógeno.

3.2.7.2. Experimento V: Inoculação do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em pupas de *Metagonistylum minense* (Townsend.) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp.)

Para se testar a patogenicidade do *Metarhizium anisopliae* sobre pupas dos dípteros parasitos, procedeu-se da seguinte forma:

Foram tratadas com uma suspensão contendo 10^7 conídios de *Metarhizium anisopliae*, 50 pupas de cada espécie de mosca. Após o tratamento as pupas foram transferidas para gaiolas teladas.

Foram utilizadas 12 gaiolas, sendo que em cada uma das gaiolas A, B, C, foram colocadas 50 pupas de *Metagonis tylum mínense* inoculadas com *Metarhizium anisopliae*. Nas gaiolas a, b, c, foram colocadas outras 50 pupas da mesma espécie não inoculadas, correspondendo pela ordem às testemunhas. Esses 3 grupos de gaiolas (A,a; B,b; C,c) foram mantidos às temperaturas de 22, 26 e 30°C, respectivamente.

Da mesma forma, em cada uma das gaiolas D, E, F, foram colocadas 50 pupas de *Paratheresia claripalpis* inoculadas com a mesma suspensão de conídios e nas gaiolas d, e, f, foram colocadas outras 50 pupas da mesma espécie não inoculadas, correspondendo pela ordem as testemunhas.

As condições pós-inoculação foram as mesmas já referidas para *M. mínense*.

À medida em que os adultos morriam, os mesmos eram colocados em placas de Petri com ABD + antibiótico para se verificar a possível causa da morte.

Os dados foram referidos em porcentagem de mortalidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. EXPERIMENTO I: INTERAÇÃO ENTRE OS PRINCIPAIS PARASITOS DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR *Diatraea saccharalis* (FABR.) E O FUNGO *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK.

Os resultados do experimento de competição entre os parasitos da *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., desenvolvido nas temperaturas de 22, 26 e 30°C estão relacionados nas Tabelas de 1 a 23, sendo as representações gráficas apresentadas nas Figuras de 3 a 8.

Na Tabela 1 encontram-se os dados de porcentagem média de mortalidade da praga devida aos diferentes tratamentos. A Tabela 2 refere-se à análise estatística do experimento.

Tabela 1 - Porcentagem média de mortalidade de lagartas de *D. saccharalis*, submetidas ao tratamento com *M. anisopliae*, inoculadas com os parasitos isoladamente e pela interação de ambos os agentes, em diferentes temperaturas.

Fases	Tratamentos	Temperaturas		
		22°C	26°C	30°C
1ª (fungo i- noculado 1 dia a- pós a ino- culação - do parasi- to)	C ₁ (normal)	0	0	0
	C ₂ (<i>Metarhizium</i>)	48,33	58,33	18,33
	C ₃ (<i>Apanteles</i>)	63,33	67,50	40,00
	C ₄ (Ap + M.a.)	75,00	80,83	48,33
	C ₅ (<i>Metagonistylum</i>)	63,33	55,83	46,67
	C ₆ (Meta + M.a.)	83,33	80,83	51,67
	C ₇ (<i>Paratheresia</i>)	78,33	81,67	53,33
	C ₈ (Para + M.a.)	81,67	80,83	58,33
2ª (fungo i- noculado 3 dias a- pós a ino- culação - dos para- sitos)	C ₁ (normal)	0	0	0
	C ₂ (<i>Metarhizium</i>)	53,33	70,00	23,33
	C ₃ (<i>Apanteles</i>)	55,00	75,83	48,33
	C ₄ (Ap. + M.a.)	61,67	87,50	61,67
	C ₅ (<i>Metagonistylum</i>)	61,67	53,33	68,33
	C ₆ (Meta + M.a.)	73,33	68,33	61,67
	C ₇ (<i>Paratheresia</i>)	80,00	78,33	60,00
	C ₈ (Para + M.a.)	85,00	82,50	53,33
3ª (fungo i- noculado 6 dias a- pós a ino- culação - dos para- sitos)	C ₁ (normal)	0	0	0
	C ₂ (<i>Metarhizium</i>)	53,33	55,00	25,00
	C ₃ (<i>Apanteles</i>)	78,33	79,17	65,00
	C ₄ (Ap. + M.a.)	76,67	85,83	56,67
	C ₅ (<i>Metagonistylum</i>)	71,67	51,67	58,33
	C ₆ (Meta + M.a.)	76,67	71,67	48,33
	C ₇ (<i>Paratheresia</i>)	73,33	80,83	66,67
	C ₈ (Para + M.a.)	76,67	85,00	73,33

Ap=Apanteles M.a.=Metarhizium anisopliae Meta=Metagonistylum
Para=Paratheresia

Tabela 2 - Resultados da análise estatística para porcentagem média de mortalidade de lagartas de *D. saccharalis* submetidas ao tratamento com *M. anisopliae*, inoculadas com os parasitos e pela interação de ambos os agentes em diferentes temperaturas (dados transformados para arco seno).

	Temperaturas		
	22°C	26°C	30°C
Teste F p/condições	4,32**	9,57**	7,15**
Teste F p/fases	0,04 NS	0,07 NS	2,86 NS
Teste F p/interações	0,57 NS	0,85 NS	0,64 NS
C.V.	17,073400%	17,500400%	20,631900%
Q.M. Res.	99,13790	110,31700	90,57310
Médias das condições			
Condição 2	45,96310 B	52,09710 BC	27,57740 B
Condição 3	54,42270 AB	60,85980 AB	45,86060 A
Condição 4	62,43380 A	68,01600 A	48,68720 A
Condição 5	54,57650 AB	47,44770 C	49,75580 A
Condição 6	62,43380 A	60,38910 AB	47,31440 A
Condição 7	63,47990 A	64,49360 A	51,11700 A
Condição 8	64,91290 A	66,81560 A	52,58010 A
Δ (5%)	14,570100	10,554400	13,926500
Médias de Fases			
Fase 1 (1 dia após)	58,01140	59,86370	42,19840
Fase 2 (3 dias após)	58,10490	60,48840	47,21340
Fase 3 (6 dias após)	58,83620	59,69890	48,97070

Pode-se verificar através da Tabela 1 que o comportamento do fungo ou dos parasitos foi semelhante nas três temperaturas estudadas, ocorrendo na maioria dos casos, uma interação positiva quando os dois agentes foram aplicados juntos. Isto é, observou-se um aumento na porcentagem de mortalidade da praga nos tratamentos em que se aplicou parasito + fungo, quando comparados com os tratamentos em que esses agentes foram aplicados isoladamente. Esses resultados poderiam ser explicados com o trabalho de EL-SUFTY e FÜHER (1981), os quais atribuíram o aumento da mortalidade de lagartas de *P. brassicae* pela interação de um parasito e um patógeno, aos efeitos patofisiológicos das larvas do parasito sobre a cutícula do hospedeiro, facilitando assim a penetração do microrganismo.

A interação positiva foi mais evidente nas temperaturas de 22 e 26°C (Figuras 3, 4 e 5). Na temperatura de 30°C, foi observada, principalmente, para a primeira fase. A inversão de resultados ocorrida na 2ª e 3ª fases, pode ter sido ocasionada por uma maior incidência de contaminação havida nessa temperatura, principalmente nos tratamentos com inoculação de fungo + parasito, devido a uma maior manipulação do material e melhores condições para desenvolvimento de contaminantes representados por *Aspergillus* sp. conforme já foi relatado por ALVES *et alii* (1984a,b). Também, nessas condições ocorre o desenvolvimento de um grande número de bactérias saprófitas.

Figura 3 - Porcentagem de mortalidade de *D. saccharalis* devida ao fungo *M. anisopliae* (C_2), ao parasito *A. flavipes* (C_3) e pela interação de ambos (C_4), nas três fases de inoculação do fungo e em três temperaturas.

Figura 4 - Porcentagem de mortalidade de *D. saccharalis* devida ao fungo *M. anisopliae* (C₂), ao parasito *Metagonistylum minense* (C₅) e pela interação de ambos (C₆), nas três fases de inoculação do fungo e em três temperaturas.

Figura 5 - Porcentagem de mortalidade de *D. saccharalis* devida ao fungo *M. anisopliae* (C₂), ao parasito *P. claripalpis* (C₇) e pela interação de ambos (C₈), nas três fases de inoculação do fungo e em três temperaturas.

Ainda, com relação aos tratamentos onde os dois agentes foram inoculados conjuntamente, nas diferentes fases de aplicação do fungo a análise estatística não acusou nenhuma diferença entre elas (Tabela 2). No entanto, através das Tabelas 3, 4 e 5, onde se pode observar o efeito de cada agente isoladamente, verifica-se que, de maneira geral, apesar da interação ser positiva, o fungo chegou a afetar o desenvolvimento dos parasitos quanto inoculado um dia após o início do parasitismo (Figuras 6, 7 e 8). Esses resultados concordam com os encontrados por KING e BELL (1978), os quais trabalharam com o fungo *Nomuraea rileyi* e o parasito *Microplitis croceipes* em *Heliothis zea*.

Da mesma forma, IBARAGON e BROOKS (1974) e BEEGLE e OATMAN (1975), estudando a interação entre o NPV de *Heliothis* e NPV de *Trichoplusia*, com relação aos parasitos *Campoplex sonorensis* e *Hyposoter exiguae*, respectivamente, verificaram que os vírus podem reduzir a sobrevivência dos parasitos, quando inoculados nas lagartas, logo após o parasitismo.

Para o *A. flavipes* pode-se observar que na temperatura de 26°C o fungo provocou mortalidade equivalente ao parasito quando inoculado três dias após a instalação deste parasito. Os resultados concordam de um modo geral com KAYA (1978) que relacionou o estágio de desenvolvimento do parasitóide dentro do hospedeiro por ocasião da infecção por um nematóide com a porcentagem de casulos normais produzidos pelo parasito.

Tabela 3 - Mortalidade total de lagartas de *D. saccharalis* do Experimento I, devida à ação de *A. flavipes*, do *M. anisopliae* e pela ação de ambos os agentes nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Temp. (°C)	Nº de lagartas por:						Total de insetos utilizados
		<i>A. flavipes</i>		<i>M. anisopliae</i>		Ambos		
		Nº ind.	%	Nº ind.	%	Nº ind.	%	
C ₂ (Fase 1)	22	-		29	48,33	-		60
	26	-		70	58,33	-		120
	30	-		11	18,33	-		60
C ₂ (Fase 2)	22	-		32	53,33	-		60
	26	-		84	70,0	-		120
	30	-		14	23,33	-		60
C ₂ (Fase 3)	22	-		32	53,33	-		60
	26	-		66	55,0	-		120
	30	-		15	25,0	-		60
C ₃ (Fase 1)	22	38	63,33	-		-		60
	26	81	67,50	-		-		120
	30	24	40,00	-		-		60
C ₃ (Fase 2)	22	33	55,0	-		-		60
	26	91	75,83	-		-		120
	30	29	48,33	-		-		60
C ₃ (Fase 3)	22	47	78,33	-		-		60
	26	95	79,17	-		-		120
	30	39	65,00	-		-		60
C ₄ (Fase 1)	22	15	25,0	29	48,33	1	1,67	60
	26	30	25,0	67	55,83	0	-	120
	30	19	31,67	10	16,67	0	-	60
C ₄ (Fase 2)	22	31	51,67	17	28,33	1	1,67	60
	26	50	41,67	49	40,83	6	5,00	120
	30	29	48,33	07	11,67	1	1,67	60
C ₄ (Fase 3)	22	34	56,67	09	15,00	3	5,00	60
	26	71	59,17	20	16,67	12	10,0	120
	30	28	46,67	06	10,0	0	-	60

Tabela 4 - Mortalidade total de lagartas de *D. saccharalis* do Experimento I, devida à ação de *Metagonistylum minense*, do *Metarhizium anisopliae* e pela ação de ambos os agentes nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Temp. (°C)	Nº de lagartas mortas por:						Total de insetos utilizados
		<i>M. minense</i>		<i>M. anisopliae</i>		Ambos		
		Nº ind.	%	Nº ind.	%	Nº ind.	%	
C ₂ (Fase 1)	22	-		29	48,33	-		60
	26	-		70	58,33	-		120
	30	-		11	18,33	-		60
C ₂ (Fase 2)	22	-		32	53,33	-		60
	26	-		84	70,00	-		120
	30	-		14	23,33	-		60
C ₂ (Fase 3)	22	-		32	53,33	-		60
	26	-		66	55,0	-		120
	30	-		15	25,0	-		60
C ₅ (Fase 1)	22	38	63,33	-		-		60
	26	67	55,83	-		-		120
	30	28	46,67	-		-		60
C ₅ (Fase 2)	22	37	61,67	-		-		60
	26	64	53,33	-		-		120
	30	41	68,33	-		-		60
C ₅ (Fase 3)	22	43	71,67	-		-		60
	26	62	51,67	-		-		120
	30	35	58,33	-		-		60
C ₆ (Fase 1)	22	34	56,67	16	26,67	0	-	60
	26	48	40,00	48	40,00	1	0,83	120
	30	24	40,00	7	11,67	0	-	60
C ₆ (Fase 2)	22	38	63,33	6	10,00	0	-	60
	26	67	55,83	12	10,00	3	2,50	120
	30	34	56,67	3	5,00	0	-	60
C ₆ (Fase 3)	22	44	73,33	2	3,33	0	-	60
	26	66	55,00	19	15,83	1	0,83	120
	30	25	41,67	4	6,67	0	-	60

Tabela 5 - Mortalidade total de lagartas de *D. saccharalis* do Experimento I, devida à ação de *P. claripalpis*, do *M. anisopliae* e pela ação de ambos os agentes nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Temp. (°C)	Nº de lagartas mortas por:						Total de insetos utilizados
		<i>P. claripalpis</i>		<i>M. anisopliae</i>		Ambos		
		Nº ind.	%	Nº ind.	%	Nº ind.	%	
C ₂ (Fase 1)	22	-		29	48,33	-		60
	26	-		70	58,33	-		120
	30	-		11	18,33	-		60
C ₂ (Fase 2)	22	-		32	53,33	-		60
	26	-		84	70,00	-		120
	30	-		14	23,33	-		60
C ₂ (Fase 3)	22	-		32	53,33	-		60
	26	-		66	55,00	-		120
	30	-		15	25,00	-		60
C ₇ (Fase 1)	22	47	78,33	-		-		60
	26	98	81,67	-		-		120
	30	32	53,33	-		-		60
C ₇ (Fase 2)	22	48	80,00	-		-		60
	26	94	78,33	-		-		120
	30	36	60,00	-		-		60
C ₇ (Fase 3)	22	44	73,33	-		-		60
	26	97	80,83	-		-		120
	30	40	66,67	-		-		60
C ₈ (Fase 1)	22	44	73,33	4	6,67	1	1,67	60
	26	62	51,67	34	28,33	1	0,83	120
	30	29	48,33	5	8,33	1	1,67	60
C ₈ (Fase 2)	22	50	83,33	1	1,67	0	-	60
	26	86	71,67	13	10,83	0	-	120
	30	29	48,33	3	5,00	0	-	60
C ₈ (Fase 3)	22	44	73,33	2	3,33	0	-	60
	26	93	77,50	8	6,67	1	0,83	120
	30	43	71,67	1	1,67	0	-	60

Figura 6 - Porcentagem de mortalidade dentro da condição 4, devida ao fungo *M. anisopliae*, ao parasito *A. flavipes*, e devida aos dois agentes, nas três fases de inoculação do fungo e em três temperaturas.

Figura 7 - Porcentagem de mortalidade dentro da condição 6, devida ao fungo *M. anisopliae*, ou ao parasito *Metagonistylum minense*, ou devida aos dois agentes, nas três fases de inoculação do fungo e em três temperaturas.

Figura 8 - Porcentagem de mortalidade dentro da condição 8, devida ao fungo *M. anisopliae*, ou ao parasito *P. claripalpis*, ou devida aos dois agentes, nas três fases de inoculação do fungo e em três temperaturas.

Entre os três parasitos, o taquinídeo *P. clari*palpis mostrou-se o menos afetado na interação com o *M. aniso*pliae. Este fato é bastante interessante, uma vez que *P. clari*palpis é o parasito que apresenta o maior período larval, estando assim, teoricamente, mais sujeito aos efeitos deletérios da interação, já que estes, não derivam de uma infecção direta dos parasitos pelo fungo e sim em decorrência da competição pelo alimento. Dessa maneira, um hospedeiro infectado parece ser inadequado ao desenvolvimento do parasito, como já foi relatado por BEEGLE e OATMAN (1975) e constatado no presente estudo de maneira significativa somente para o parasito *A. flavipes*.

Ainda nas Tabelas 3, 4 e 5, verifica-se que, apesar do parasito ter completado seu desenvolvimento na lagarta hospedeira, em alguns casos, ela também mostrou sintomas de infecção por *Metarhizium*, como o observado por SMITH *et alii* (1976) em lagartas de *Heliothis* parasitadas por *M. croceipes* e *N. rileyi*.

As Tabelas 6 a 23 referem-se aos efeitos biológicos no desenvolvimento dos parasitos em hospedeiros infectados pelo patógeno.

Nas Tabelas 6 a 11 pode-se observar que, nas três temperaturas estudadas o período de desenvolvimento dos parasitos dentro do hospedeiro, não foi afetado pela presença do fungo *M. anisopliae* na mesma lagarta, o que foi confirmado pela análise estatística.

Tabela 8 - Duração média da fase larval de *A. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	Nº de indivíduos	Duração da fase larval (dias)	
			Média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₄	1	16	11,527	2,12
	3	32	13,043	2,133
	6	37	11,993	0,740
C ₃	1	38	13,320	3,737
	3	34	13,173	1,627
	6	47	13,407	3,130
Temp. 26°C				
C ₄	1	30	7,973	1,078
	3	57	9,582	1,81
	6	86	9,872	1,248
C ₃	1	81	10,600	2,343
	3	93	9,855	1,873
	6	93	9,878	1,683
Temp. 30°C				
C ₄	1	21	9,492	0,997
	3	31	8,843	1,170
	6	30	8,997	0,707
C ₃	1	25	9,900	1,485
	3	30	9,197	0,880
	6	39	8,667	0,947

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 7 - Resultados da análise estatística para a duração da fase larval de *A. flavipes* em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperatura (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	1,81 NS	2,51 NS	0,15 NS
Teste F p/fases	0,23 NS	0,33 NS	1,99 NS
Teste F p/interações	0,37 NS	1,86 NS	0,41 NS
C.V.	13,764200%	19,042500%	8,598080%
Q.M. Res.	3,0768300	3,3604700	0,6233390
Médias das Condições			
Condição 4 (M.a.+A.f.)	12,18780	9,14222	9,11056
Condição 3 (A.f.)	13,30000	10,11110	9,25444
Médias de Fases			
Fase 1 (1 dia após)	12,42330	9,28667	9,69583
Fase 2 (3 dias após)	13,10830	9,71833	9,02000
Fase 3 (4 dias após)	12,70000	9,87500	8,83167

M.a. = *Metarhizium anisopliae*

A.f. = *Apanteles flavipes*

Tabela 8 - Duração média da fase larval de *Metagonistylum minense* em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	Nº de indivíduos	Duração da fase larval (dias)	
			Média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₆	1	36	7,457	1,267
	3	38	7,235	1,023
	6	45	7,567	1,073
C ₅	1	38	7,803	0,973
	3	37	7,517	0,733
	6	44	7,353	1,377
Temp. 26°C				
C ₆	1	49	6,743	0,788
	3	70	6,672	0,588
	6	67	7,110	0,708
C ₅	1	67	7,265	1,890
	3	64	6,890	0,752
	6	64	7,088	0,908
Temp. 30°C				
C ₆	1	25	6,627	1,237
	3	34	6,890	1,027
	6	25	7,032	1,013
C ₅	1	28	6,770	0,957
	3	41	6,927	1,649
	6	35	7,029	0,664

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 9 - Resultados da análise estatística para a duração da fase larval de *Metagonistylum minense* em lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperatutras (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	0,13 NS	1,72 NS	0,06 NS
Teste F p/fases	0,16 NS	1,06 NS	0,74 NS
Teste F p/interações	0,23 NS	0,74 NS	0,04 NS
C.V.	10,669900%	7,878240%	6,984370%
Q.M. Res.	0,6387260	0,3007810	0,2307920
Médias das Condições			
Condição 6 (M.m.+M.a.)	7,42278	6,84167	6,85000
Condição 5 (M.m.)	7,55778	7,08111	6,90667
Médias das Fases			
Fase 1 (1 dia após)	7,63000	7,00417	6,69833
Fase 2 (3 dias após)	7,37583	6,78083	6,90500
Fase 3 (6 dias após)	7,46500	7,09917	7,03167

M.m.=*Metagonistylum minense*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Tabela 10 - Duração média da fase larval de *P. claripalpis* em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	Nº de indiv.	Duração da fase larval (dias)	
			Média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₈	1	50	8,257	1,977
	3	51	7,453	0,890
	6	49	8,717	1,807
C ₇	1	51	8,413	2,200
	3	50	7,663	0,887
	6	44	8,237	1,447
Temp. 26°C				
C ₈	1	65	6,813	1,390
	3	88	6,640	0,950
	6	97	7,272	1,163
C ₇	1	99	7,113	2,080
	3	95	7,002	0,973
	6	98	7,698	1,280
Temp. 30°C				
C ₈	1	30	6,533	1,843
	3	32	6,600	1,347
	6	49	6,557	0,703
C ₇	1	33	6,953	1,287
	3	38	6,727	1,943
	6	44	6,583	0,627

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 11 - Resultados da análise estatística para a duração da fase larval de *P. claripalpis* em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperaturas (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	0,01 NS	2,62 NS	0,33 NS
Teste F p/fases	2,26 NS	3,24 NS	0,09 NS
Teste F p/interações	0,34 NS	0,03 NS	0,13 NS
C.V.	9,925090%	9,486580%	10,565100%
Q.M. Res.	0,6500360	0,4523530	0,4949400

Médias das Condições

Condição 8 (P.c.+M.a.)	8,14222	6,90833	6,56333
Condição 7 (P.c.)	8,10445	7,27111	6,75445

Médias das Fases

Fase 1 (1 dia após)	8,33500	6,96333	6,74333
Fase 2 (3 dias após)	7,55833	6,82083	6,66333
Fase 3 (6 dias após)	8,47667	7,48500	6,57000

P.c.=*Paratheresia claripalpis*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Esses dados discordam dos encontrados por LAIGO e TAMASHIRO (1967) e BROOKS e CRANFORD (1972) para outras espécies de patógenos e de parasitos.

O parasito *A. flavipes* novamente pode ser considerado um pouco mais sensível, já que, nas fases em que ocorre maior competição (1 e 2), verifica-se uma pequena diminuição no seu período de desenvolvimento.

Com relação às diferentes temperaturas deve-se salientar que as análises estatísticas foram feitas separadamente, como se cada temperatura correspondesse a um experimento distinto. Dessa maneira, o alongamento dos estágios de desenvolvimento dos parasitos nas temperaturas mais baixas não foi detectado pela análise estatística.

Nas Tabelas 12 a 17 referentes à duração média do estágio pupal dos parasitos e aos resultados da análise estatística, verifica-se um comportamento semelhante para os três parasitos, isto é, observa-se uma variação maior dos dados nos tratamentos em que a interação está presente.

No que se refere ao *A. flavipes*, essa variação não foi acusada pela análise estatística, o que se explica pela ocorrência de um maior coeficiente de variação.

Através das médias dos tratamentos verificou-se que de modo geral, ocorreu um pequeno encurtamento no período pupal dos insetos pertencentes aos tratamentos onde o fungo estava presente, concordando com o relatado por LAIGO e PASCHKE (1968). Porém, de acordo com HAMM *et alii* (1983), isso não po

Tabela 12 - Duração média da fase pupal de *A. flavipes* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	Duração da fase pupal (em dias)		
		Nº de massas viáveis	Média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₄	1	15	8,477	1,493
	3	31	7,820	0,843
	6	35	6,767	0,793
C ₃	1	31	7,750	1,138
	3	30	7,650	0,847
	6	45	7,383	1,317
Temp. 26°C				
C ₄	1	23	4,767	0,400
	3	51	5,677	0,720
	6	77	5,253	0,860
C ₃	1	77	5,257	0,713
	3	86	5,503	0,717
	6	92	5,662	0,756
Temp. 30°C				
C ₄	1	16	5,100	0,980
	3	27	4,477	0,550
	6	19	5,158	0,877
C ₃	1	22	5,136	0,873
	3	23	4,777	0,570
	6	32	4,863	0,713

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 13 - Resultados da análise estatística para duração média da fase pupal do parasito *A. flavipes* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperaturas (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	0,06 NS	0,58 NS	0,00 NS
Teste F p/fases	2,64 NS	1,21 NS	1,07 NS
Teste F p/interações	1,09 NS	0,43 NS	0,35 NS
C.V.	10,372900%	17,793100%	12,496600%
Q.M. Res.	0,628222	0,907207	0,377932

Médias das Condições

Condição 4 (A.f.+M.a.)	7,68778	5,23222	4,91222
Condição 3 (A.f.)	7,59445	5,47389	4,92667

Médias das Fases

Fase 1 (1 dia após)	8,11333	5,01167	5,12000
Fase 2 (3 dias após)	7,73500	5,59000	4,62667
Fase 3 (6 dias após)	7,07500	5,45750	5,01167

A.f.=*Apanteles flavipes*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Tabela 14 - Duração média da fase pupal de *Metagonistylum minense* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *Metarhizium anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	Duração da fase pupal (em dias)		
		Nº de pupas viáveis	Média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₆	1	28	12,003	1,017
	3	32	9,627	1,560
	6	40	11,020	1,187
C ₅	1	33	10,677	1,317
	3	36	11,042	0,973
	6	33	11,193	0,403
Temp. 26°C				
C ₆	1	37	8,730	0,618
	3	59	9,328	0,562
	6	53	9,050	0,697
C ₅	1	60	8,753	0,650
	3	56	9,268	0,427
	6	55	9,323	0,680
Temp. 30°C				
C ₆	1	12	7,917	0,320
	3	11	7,167	0,520
	6	15	7,037	0,770
C ₅	1	18	7,453	0,733
	3	19	7,660	0,760
	6	17	7,397	1,127

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 15 - Resultados da análise estatística para duração média da fase pupal do parasito *Metagonistylum minense* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *Metarhizium anisopliae* e em diferentes temperaturas.

	Temperaturas (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	0,02 NS	0,43 NS	0,61 NS
Teste F p/fases	0,87 NS	6,93**	2,65 NS
Teste F p/interação	1,48 NS	0,56 NS	3,21 NS
C.V.	12,663400%	4,383820%	4,760890%
Q.M. Res.	1,9152800	0,1580860	0,1254080

Médias das Condições

Condição 6 (M.m.+M.a.)	10,88670	9,02611	7,37333
Condição 5 (M.m.)	10,97060	9,11333	7,50333

Médias das Fases

Fase 1 (1 dia após)	11,34000	8,72667 B	7,68500
Fase 2 (3 dias após)	10,33420	9,29583 A	7,41333
Fase 3 (6 dias após)	11,11170	9,18667 A	7,21667
Δ (5%)	-	0,404398	-

M.m.=*Metagonistylum minense*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Tabela 16 - Duração média da fase pupal de *P. claripalpis* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	Duração da fase pupal (em dias)		
		Nº de pupas viáveis	Média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₈	1	34	23,600	1,323
	3	33	23,903	1,383
	6	30	23,040	1,330
C ₇	1	35	21,527	1,560
	3	38	21,363	0,783
	6	37	23,487	1,453
Temp. 26°C				
C ₈	1	50	16,903	1,065
	3	64	17,365	0,918
	6	67	18,208	1,360
C ₇	1	74	17,270	1,033
	3	74	18,406	1,150
	6	76	17,870	0,745
Temp. 30°C				
C ₈	1	21	14,173	1,347
	3	21	14,952	1,040
	6	27	15,583	1,040
C ₇	1	22	14,370	1,760
	3	23	14,480	1,180
	6	23	14,700	0,550

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 17 - Resultados da análise estatística para duração média da fase pupal do parasito *P. claripalpis* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperaturas (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	2,15 NS	2,90 NS	0,83 NS
Teste F p/fases	0,22 NS	6,63**	1,41 NS
Teste F p/interações	0,95 NS	3,27 NS	0,55 NS
C.V.	8,810660%	3,754430%	6,116290%
Q.M. Res.	4,0422900	0,4406640	0,8094720

Médias das Condições

Condição 8 (P.c.+M.a.)	23,51450	17,49220	14,90330
Condição 7 (P.c.)	22,12440	17,87000	14,51670

Médias de Fases

Fase 1 (1 dia após)	22,56330	17,11830 B	14,27170
Fase 2 (3 dias após)	22,63330	17,88580 A	14,71670
Fase 3 (6 dias após)	23,26170	18,03920 A	15,14170
Δ (5%)	-	0,675176	-

P.c.=*Paratheresia claripalpis*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

de ser considerado ecologicamente importante.

Ainda, com relação a esse parâmetro, BROOKS e CRANFORD (1972), estudando a interferência de um protozoário sobre um braconídeo que se desenvolviam em lagartas de *Heliothis*, observaram que apesar de não ter ocorrido efeito substancial sobre o período de desenvolvimento do parasito, houve uma diminuição na porcentagem de emergência de pré-pupas do braconídeo.

O último parâmetro estudado, representado pela porcentagem de emergência de adultos dos parasitos em lagartas infectadas e não infectadas, está relacionado nas Tabelas 18 a 23. Nas Tabelas 19, 21 e 23 referentes aos resultados da análise estatística, os dados foram transformados para arco seno (SQR%).

Verifica-se pela Tabela 19 referente ao *A. fla-vípes*, que houve diferença estatística entre o tratamento onde ocorreu interação e o tratamento onde o parasito atuou isoladamente na temperatura de 26°C. No entanto, a diminuição da porcentagem de emergência não revelou uma tendência, já que nas outras duas temperaturas estudadas, houve uma inversão de resultados. Também, pode-se verificar que os dados são muito variáveis sendo difícil de se concluir a respeito dessa análise.

Tabela 18 - Porcentagem média de emergência de adultos de *A. flavipes* com desenvolvimento em lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C (dados transformados em arco seno).

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	% de emergência de adultos		
		Nº total de massas	% média	Desvio padrão médio
Temp. 22°C				
C ₄	1	16	94,44	9,62
	3	32	97,62	4,12
	6	37	95,00	4,41
C ₃	1	38	79,74	17,55
	3	33	90,86	0,83
	6	47	95,24	8,25
Temp. 26°C				
C ₄	1	30	78,05	18,49
	3	56	91,81	10,16
	6	84	90,84	8,83
C ₃	1	81	95,21	7,92
	3	91	95,14	7,64
	6	94	97,21	4,83
Temp. 30°C				
C ₄	1	19	81,11	20,09
	3	30	87,50	21,65
	6	28	70,00	12,02
C ₃	1	25	86,67	5,77
	3	29	78,04	11,12
	6	37	86,35	0,55

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 19 - Resultados da análise estatística para porcentagem média de emergência de adultos de *A. flavipes* com desenvolvimento em lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperaturas (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	1,63 NS	8,95**	0,04 NS
Teste F p/fases	0,34 NS	2,92 NS	0,47 NS
Teste F p/interação	0,81 NS	2,58 NS	1,30 NS
C.V.	16,683200%	18,050700%	20,850500%
Q.M. Res.	170,00900	189,97300	196,30300

Médias das Condições

Condição 4 (A.f.+M.a.)	82,07360	69,48670 B	67,81320
Condição 3 (A.f.)	74,23670	83,22880 A	66,57970

Médias de Fases

Fase 1 (1 dia após)	74,83350	68,50640	68,87270
Fase 2 (3 dias após)	78,62410	80,41310	69,98840
Fase 3 (6 dias após)	81,00780	80,15380	62,72830

A.f.=*Apanteles flavipes*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Tabela 20 - Porcentagem média de emergência de adultos de *Metagonistylum minense* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	% de emergência de adultos		
		Nº total de pupas	% média	Desvio padrão médio
Temp. 22°C				
C ₆	1	34	85,56	13,47
	3	38	84,23	11,51
	6	44	90,29	10,85
C ₅	1	38	85,08	8,31
	3	37	96,67	5,77
	6	43	76,31	21,41
Temp. 26°C				
C ₆	1	49	73,11	17,20
	3	70	83,98	13,28
	6	67	80,54	13,96
C ₅	1	67	89,73	9,30
	3	64	89,80	10,64
	6	64	85,21	5,69
Temp. 30°C				
C ₆	1	24	55,00	18,03
	3	34	30,78	10,76
	6	25	60,18	25,32
C ₅	1	28	65,32	9,36
	3	41	46,15	9,77
	6	35	49,22	12,51

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 21 - Resultados da análise estatística para porcentagem de emergência de adultos de *Metagonistylum minense* com desenvolvimento em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *Metarhizium anisopliae* em diferentes temperaturas.

	Temperaturas (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	0,03 NS	4,13 NS	0,36 NS
Teste F p/fases	0,37 NS	0,77 NS	3,09 NS
Teste F p/interações	1,68 NS	1,07 NS	1,27 NS
C.V.	17.959300%	14,775500%	20,631200%
Q.M. Res.	167,17900	104,17400	89,22460
Médias das Condições			
Condição 6 (M.m.+M.a.)	71,51570	65,62180	44,44220
Condição 5 (M.m.)	72,47380	72,53350	47,12680
Médias das Fases			
Fase 1 (1 dia após)	69,75920	68,11340	51,05340
Fase 2 (3 dias após)	75,67870	72,01070	38,13790
Fase 3 (6 dias após)	70,54640	67,10940	48,16220

M.m.=*Metagonistylum minense*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Tabela 22 - Porcentagem média de emergência de adultos de *P. claripalpis* em desenvolvimento sobre lagartas de *D. saccharalis*, infectadas e não infectadas por *M. anisopliae* nas temperaturas de 22, 26 e 30°C.

Condições	Dias do parasitismo até a exposição ao fungo* (fases)	% de emergência de adultos		
		Nº total de pupas	% média	Desvio padrão
Temp. 22°C				
C ₈	1	45	75,37	6,81
	3	50	65,58	23,87
	6	44	68,38	15,46
C ₇	1	47	74,66	3,53
	3	48	79,32	5,67
	6	44	85,18	16,97
Temp. 26°C				
C ₈	1	63	81,60	17,60
	3	86	75,51	13,54
	6	94	71,72	13,29
C ₇	1	98	75,13	9,77
	3	94	79,16	19,67
	6	97	76,86	18,61
Temp. 30°C				
C ₈	1	30	70,35	13,10
	3	29	73,06	8,16
	6	43	60,90	13,52
C ₇	1	32	77,14	20,60
	3	36	60,31	16,01
	6	40	61,56	24,20

* 1×10^7 conídios/ml

Tabela 23 - Resultados da análise estatística para porcentagens de emergência de adultos de *P. claripalpis* com desenvolvimento em lagartas de *D. saccharalis* infectadas e não infectadas por *M. anisopliae*, em diferentes temperaturas.

	Temperatura (°C)		
	22	26	30
Teste F p/condições	3,00 NS	0,03 NS	0,02 NS
Teste F p/fases	0,47 NS	0,53 NS	1,06 NS
Teste F p/interações	1,11 NS	1,67 NS	0,73 NS
C.V.	15,317500%	17,340400%	20,995500%
Q.M. Res.	87,48670	120,34100	139,68100

Médias das Condições

Condição 8 (P.c.+M.a.)	57,24510	62,94820	55,90220
Condição 7 (P.c.)	64,88230	63,57760	56,68080

Médias de Fases

Fase 1 (1 dia após)	60,09980	64,83130	61,77070
Fase 2 (3 dias após)	59,07190	64,35050	55,03770
Fase 3 (6 dias após)	64,01920	60,60700	52,06610

P.c.=*Paratheresia claripalpis*

M.a.=*Metarhizium anisopliae*

Para os outros dois parasitos estudados, *M. minense* e *P. claripalpis*, apesar dos dados não revelar m nenhuma diferença significativa nas três temperaturas, observou-se uma tendência geral de diminuição da porcentagem de emergência nos tratamentos onde os dois agentes estavam presentes, sugerindo uma interação antagônica entre o desenvolvimento do fungo e do parasito, como observado por BELL *et alii* (1984). Porém, os mesmos autores concluíram que quando o efeito dos dois estressores foi combinado, uma alta mortalidade da praga foi observada, como na presente pesquisa.

4.2. EXPERIMENTO II: INOCULAÇÃO DO *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. EM ADULTOS DE *Apanteles flavipes* (CAM.)

O efeito da exposição de adultos de *Apanteles flavipes* (Cam.) ao fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. na concentração de 10^7 conídios/ml está representado na Tabela 24. Verifica-se por esta tabela que o contato direto dos adultos de *A. flavipes* com os conídios do *M. anisopliae* não foi suficiente para provocar infecção nos parasitóides, o que seria uma situação comum num campo onde ambos fossem liberados. A concentração utilizada no teste é altamente eficaz contra lagartas de *D. saccharalis* e outros insetos (ALMEIDA *et alii*, 1984; SOSA GOMEZ, 1983).

Tabela 24 - Efeito das exposição de adultos de *A. flavipes* ao fungo *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/ml.

Temp. (°C)	Condições	Nº insetos expostos	% mortalidade acumulada após				Nº total insetos infectados
			1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	
22	I	99	12,12	72,72	77,77	100	0
	IV (testem.)	123	8,94	86,18	100	-	0
26	II	96	54,17	68,75	100	-	0
	V (testem.)	147	44,90	89,80	100	-	0
30	III	134	47,01	74,63	100	-	0
	VI (testem.)	115	64,35	73,91	100	-	0

4.3. EXPERIMENTO III: INOCULAÇÃO DO *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. EM ADULTOS DE *Metagonistylum minense* (TOWNS.) E *Paratheresia claripalpis* (WULP.)

O efeito da exposição de adultos de *Metagonistylum minense* (Towns.) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp.) ao fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. na concentração de 10^7 conídios/ml de suspensão encontra-se representado nas Tabelas 25 e 26, respectivamente.

Estes inimigos naturais de *D. saccharalis*, no estágio adulto, também não se mostraram suscetíveis ao fungo.

Tabela 25 - Efeito da exposição de adultos de *M. minense* ao fungo *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/ml.

Temp. (°C)	Condições	Nº inse- tos	% mortalidade acumulada após					Nº total insetos infectados
			1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	
22	I	52	-	-	1,92	80,77	100	0
	IV (testem.)	55	-	1,82	9,09	78,18	100	0
26	II	52	1,91	23,08	82,69	100	-	0
	V (testem.)	50	6,00	26,00	90,00	100	-	0
30	III	51	11,76	37,25	96,08	100	-	0
	VI (testem.)	53	5,66	33,96	86,79	100	-	0

Tabela 26 - Efeito da exposição de adultos de *Paratheresia claripalpis* ao fungo *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/ml.

Temp. (°C)	Condições	Nº insetos expostos	% mortalidade acumulada após					Nº total insetos infectados
			1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	
22	VII	50	-	-	6,00	52,00	100	0
	X	54	-	-	0	37,04	100	0
26	VIII	51	-	39,22	50,20	100	-	0
	XI	53	-	52,83	100	0	-	0
30	IX	54	-	7,41	50,60	96,30	100	0
	XII	51	-	-	37,25	80,39	100	0

4.4. EXPERIMENTO IV: INOCULAÇÃO DO *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. EM MASSAS DE *Apanteles flavipes* (CAM.)

O efeito da exposição de massas de *Apanteles flavipes* (Cam.) ao fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. na concentração de 10^7 conídios/ml de suspensão pode ser observado na Tabela 27, onde se verifica que o fungo não tem nenhuma ação sobre as pupas do parasito. Apesar da inoculação ter sido

feita por imersão, as pupas encontram-se naturalmente envolvidas por um casulo de seda que as protege do contato direto com os patógenos e dos outros inimigos naturais.

Tabela 27 - Efeito da exposição de pupas de *A. flavipes* ao fungo *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/ml.

Temp. (°C)	Condições	Nº casulos expostos	Total de pupas viáveis	% emergência	Total de insetos infectados
22	A	85	75	88,24	0
	a	93	85	91,40	0
26	B	98	90	91,84	0
	b	101	90	89,11	0
30	C	87	75	86,21	0
	c	83	71	85,54	0

4.5. EXPERIMENTO V: INOCULAÇÃO DO *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. EM PUPAS DE *Metagonistylum minense* (TOWNS.) E *Paratheresia claripalpis* (WULP.)

O efeito da exposição de pupas de *Metagonistylum minense* (Townsend.) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp.) ao fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. na concentração de

10^7 conídios/ml, pode ser observado nas Tabelas 28 e 29, respectivamente.

Tabela 28 - Efeito da exposição de pupas de *Metagonistylum minense* ao fungo *Metarhizium anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/ml.

Temp. (°C)	Condições	Nº pupas expostas	Total de pupas viáveis	% emergência	Total de insetos infectados
22	A	50	45	90	0
	a	50	43	86	0
26	B	50	41	82	0
	b	50	41	82	0
30	C	50	38	76	0
	c	50	43	86	0

Tabela 29 - Efeito da exposição de pupas de *P. claripalpis* ao fungo *M. anisopliae* na concentração de 10^7 conídios/ml.

Temp. (°C)	Condições	Nº pupas expostas	Total de pupas viáveis	% emergência	Total insetos infectados
22	D	50	48	96	0
	d	50	45	90	0
26	E	50	44	88	0
	e	50	45	90	0
30	F	50	41	82	0
	f	50	43	86	0

Também por essas tabelas observa-se que não houve ação do fungo *M. anisopliae* sobre esse estágio dos parasitos.

Com relação a interações de entomopatógenos com insetos parasitos existem muitos relatos contraditórios. Também, observou-se que a maioria dos trabalhos que relacionam as desvantagens das interações se referem a outros tipos de patógenos tais como bactérias, vírus e protozoários, cujo principal meio de inoculação é através da ingestão por via oral.

No tocante ao *M. anisopliae* a penetração inicia-se, freqüentemente, através do tegumento do inseto e este

fato aliado, provavelmente, a uma maior especificidade do fungo ao inseto praga, parece ser vantajoso para os parasitos, diminuindo as possibilidades de infecção das larvas.

Segundo GUAGLIUMI (1974) e ALMEIDA *et alii* (1984) o fungo *M. anisopliae* é um importante inimigo de cigarrinhas e brocas da cana, como também os parasitos estudados (ROCCIA, 1982; RISCADO, 1982 e PÁDUA, 1983). Por outro lado, a interação entre parasitos e fungos seria muito aconselhável, já que os mesmos poderiam atuar sobre as pragas em épocas diferentes, devido a prováveis preferências de condições climáticas.

Assim, a ocorrência natural ou a liberação desses agentes em um programa de manejo integrado de pragas de cana pode ser recomendada como prática eficiente e compatível.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos na pesquisa podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1. A aplicação conjunta do *Metarhizium anisopliae* associado aos parasitos da broca é mais eficiente que a aplicação do fungo isoladamente.
2. A inoculação do fungo *Metarhizium anisopliae* não foi prejudicial aos parasitos nas diferentes fases (1, 3 e 6 dias após a inoculação dos parasitos).
3. O fungo *Metarhizium anisopliae* não se mostrou patogênico aos diferentes estágios de desenvolvimento dos parasitos da broca da cana-de-açúcar.

4. A utilização conjunta do fungo *Metarhizium anisopliae* e dos parasitos da broca é compatível dentro do esquema de manejo integrado de pragas da cana-de-açúcar.

6. LITERATURA CITADA

AHMAD, S.; J.R. O'NEIL; D.L. MAGUE e R.K. NOWALK, 1978.

Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to gypsy moth larvae parasitized by *Apanteles melanoscelus*. Environ. Entomol. Maryland, 7(1): 73-76.

ALMEIDA, L.C.; S.B. ALVES; P.S.M. BOTEHO; N. DEGASPARI; J.R.

ARAUJO, 1981a. Efeito de diferentes dosagens do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, isolado SPL, sobre larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Araras, IAA/PLANALSUCAR, COSUL. 10p.

- ALMEIDA, L.C.; P.S.M. BOTELHO; S.B. ALVES; N. DEGASPARI; J.R. ARAUJO, 1981b. Efeito do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin; sobre ovos da broca da cana, *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Araras, IAA/PLANALSUCAR, COSUL. 13p.
- ALMEIDA, L.C.; S.B. ALVES; P.S.M. BOTELHO; N. DEGASPARI; J.B. PINHEIRO, 1981c. Determinação da patogenicidade do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, sobre ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.), de diferentes idades. Araras, IAA/PLANALSUCAR, COSUL. 12p.
- ALMEIDA, L.C. e S.B. ALVES, 1982. Testes preliminares de dosagens de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., para o controle da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.). Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 99(2): 35-38.
- ALMEIDA, L.C., 1983. Efeito das radiações gama e ultravioleta em isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, 1883 e sua utilização visando o controle da *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). Piracicaba, ESALQ/USP, 109p. [Dissertação de Mestrado].

ALMEIDA, L.C.; S.B. ALVES; N. DEGASPARI; J.R. de ARAUJO, 1984.

Efeito "in vitro" de diferentes dosagens do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. isolado SPL, sobre larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabr.). STAB. Rio de Janeiro, 2(3): 49-53.

ALVES, S.B., 1982. Caracterização, padronização e produção do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Piracicaba, ESALQ/USP, 95p. [Tese de Livre Docência].

ALVES, S.B. e J.W.N. CHAVES, 1984a. Efeito de diferentes temperaturas no desenvolvimento e esporulação do *Aspergillus* sp. Ecossistema. Espírito Santo do Pinhal, 9: 84-86.

ALVES, S.B.; S.H. RISCO e L.C. ALMEIDA, 1984b. Influence of photoperiod and temperature on the development and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Zeitschrift für angewandte Entomologie. Hamburgo, 2: 127-129.

ANDREASIS, T.G., 1980. *Nosema pyrausta* infection in *Macrocentrus grandii*, a braconid parasite of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. J. Invertebr. Pathol. New York, 33: 229-233.

- AQUINO, M.L.N., 1974. O fungo entomôgeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no Estado de Pernambuco. Boletim Técnico do Instituto de Pesquisas Agronômicas. Recife, 72: 1-26.
- BEEGLE, C.C. e E.R. OATMAN, 1975. Effect of a nuclear polyhedrosis virus on the relationship between *Trichoplusia ni* (Lepidoptera:Noctuidae) and the parasite, *Hyposoter exiguae* (Hymenoptera:Ichneumonidae). J. Invertebr. Pathol. New York, 25: 59-71.
- BELL, J.V. e R.J. HAMALLE, 1971. A bacterium and dipterous parasite in wild populations of cowpea *Curculio* larvae: effects of treatment with spores of *Metarhizium anisopliae*. J. Invertebr. Pathol. New York, 17: 256-259.
- BELL, J.V.; E.G. KING e R.J. HAMALLE, 1974. Interactions between bollworms, a braconid parasite and the bacterium *Serratia marcescens*. Ann. Entomol. Soc. Am. Columbus, 67(4): 712-714.
- BELL, M.R. e W.L. MCGOVERN, 1975. Susceptibility of the ectoparasite, *Bracon mellitor*, to infection by microsporidan pathogens in its host, *Anthonomus grandis*. J. Invertebr. Pathol. New York, 25: 133-134.

- BERISFORD, Y.C. e TSAO, C.H., 1975. Parasitism, predation, and disease in the bagworm, *Thyridopteryx ephemeraeformis* (Haworth) (Lepidoptera:Psychidae). Environ. Entomol. Maryland, 4(4): 549-554.
- BRACKEN, G.K. e G.E. BUCHER, 1967. Mortality of Hymenopterous parasite caused by *Serratia marcescens*. J. Invertebr. Pathol. New York, 9: 130-132.
- BROOKS, W.M. e J.D. CRANFORD, 1972. Microsporidoses of the hymenopterous parasites, *Campoletis sonorensis* and *Cardiochiles nigriceps*, larval parasites of *Heliothis* species. J. Invertebr. Pathol. New York, 20: 77-94.
- BROOKS, W.M., 1973. Protozoa: Host-parasite-pathogen interrelationships. Misc. Publ. Entomol. Soc. Am., 9: 105-111.
- BURLEIGH, J.G., 1975. Comparison of *Heliothis* spp. larval parasitism and *Spicaria* infection in closed and open canopy cotton. Environ. Entomol. Maryland, 4: 574-576.
- COSENZA, G.W.; R.P. ANDRADE; D.T. GOMES; C.M. CAMPOS da ROCHA, 1981. O controle biológico das cigarrinhas das pastagens. Comunicado Técnico, EMBRAPA - Planaltina, (17): 1-6.

- DILAWARI, J.K.; M.S. MAHAL e S.S. BAINS, 1981. Role of a braconid parasite and a viral disease in the population decline of armyworm, *Mythimna separata* during and outbreak. Indian J. Ecol. Ludhiana, 8(1): 65-73. Apud: Abstr. Entomol., 13(7): 8.
- DUNBAR, J.P. e A.W. JOHNSON, 1975. *Bacillus thuringiensis*: Effects on the survival of a tobacco budworm parasitoid and predator in the laboratory. Environ. Entomol. Maryland, 4(2): 352-354.
- EL-SUFTY, R.; E. FÜHRER, 1981. Interrelationships between *Pieris brassicae* L. (Lep., Pieridae), *Apanteles glomeratus* L. (Hym., Braconidae) and the fungus *Beauveria bassiana* [Bals.) Vuill]. Zeitschrift für Angewandte Entomologie, 92(4), 321-329, Kafr El-Sheikh, Egypt. Apud: R. Appl. Entomol. London, 1982, 70(3): 219.
- FERRAZ, M.C.V.D.; J.S. CORREIA; E.A.F. DA MATA; J.A. COSTA, 1980. Estudo da eficiência do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, no controle das cigarrinhas das pastagens. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 6, Campinas p.354. [Resumo, R-252].

- GUAGLIUMI, P., 1970. A cigarrinha das pastagens ataca a cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 76(4): 89-91.
- GUAGLIUMI, P., 1971. Lucha integrada contra las cigarrinhas (Hom.: Cercopidae) en el noroeste del Brasil. Revista Peruana de Entomología. Lima, 14: 361-368.
- GUAGLIUMI, P., 1972. Resultados preliminares da luta biológica contra a cigarrinha da folha e da cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 80(3): 49-51.
- GUAGLIUMI, P.; E.J. MARQUES; A.M. VILAS BOAS, 1974. Contribuição ao estudo da cultura e aplicação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., no controle da cigarrinha da folha (*Mahanarva posticata*, Stal) no Nordeste do Brasil. Boletim Técnico da CODECAP. Recife, PE, 3: 54.
- HAMM, J.J.; D.A. NORDLUND; B.G. MULLINIX Jr., 1983. Interaction of the microsporidium *Vairimorpha* sp. with *Microplitis croceipes* (Cresson) and *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae), two parasitoids of *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Environ. Entomol. Maryland, 12(5): 1547-1550.

HOSTOUNSKÝ, Z., 1970. *Nosema mesnili* (Paill.), a microsporidian of the cabbageworm, *Pieris brassicae* (L.), in the parasites *Apanteles glomeratus* (L.), *Hyposoter ebenimus* (Grav.) and *Pimpla instigator* (F.). Acta ent. bohemoslov. 67pt. 1pp. 1-5. Apud: R. Appl. Entomol. London, 1971, 59: 928-929.

IGNOFFO, C.M.; N.L. MARSTON; D.L. HOSTETTER e B. PUTTLER, 1976. Natural and induced epizootics of *Nomuraea rileyi* in soybean caterpillars. J. Invertebr. Pathol. New York, 27: 191-198.

IBARAGON, T.A. e W.M. BROOKS, 1974. Interaction of *Campoplex sonorensis* and a nuclear polyhedrosis virus in larvae of *Heliothis virescens*. J. Econ. Entomol. Menasha, 67(2): 229-231.

JAKES, R.P., 1965. The effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner on the fauna of an apple orchard. Canad. Entomol. Ottawa, 97: 795-802.

JAKES, R.P. e O.N. MORRIS, 1981. Compatibility of pathogens with other methods of pest control and with different crops. In: BURGESS, H.D. Microbial Control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press Inc. (London), p.695-715.

KAYA, H.K., 1970. Toxic factor produced by a granulosis virus in armyworm larva: effect on *Apanteles militaris*. Science. Washington, 168: 251-253.

KAYA, H.K. e Y. TANADA, 1973. Hemolymph factor in armyworm larvae infected with a nuclear-polyhedrosis virus toxic to *Apanteles militaris*. J. Invertebr. Pathol. New York, 21: 211-214.

KAYA, H.K., 1978. Interaction between *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda:Steinernematidae) and *Apanteles militaris* (Hymenoptera:Braconidae), a parasitoid of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. J. Invertebr. Pathol. New York, 31: 358-364.

KENDRIK, W.B., 1971. Taxonomy of fungi imperfecti. University of Toronto Press. 390p.

KING, E.G. e J.V. BELL, 1978. Interaction between a Braconid, *Microplitis croceipes*, and a fungus, *Nomuraea rileyi*, in laboratory - reared bollworm larvae. J. Invertebr. Pathol. New York, 31: 337-340.

- LAIGO, F.M. e J.D. PASCHKE, 1968. *Pteromalus puparum* L. parasites reared from granulosis and microsporidiosis infected *Pieris rapae* L. chrysalids. Phillipp. Agric. College, 52: 430-439.
- MACEDO, N.; A.C.M. MENDES; P.S.M. BOTELHO e J.A. MAGRO, 1977. *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, no controle da cigarrinha da raiz (*Mahanarva fimbriolata* Stal) na cultura da cana-de-açúcar. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 90(2): 16-19.
- MARCHAL-SEGAULT, D., 1974. Sensibilité des Hyménoptères Braconides *Apanteles glomeratus* et *Phanerotoma flavitesta-cea* au complexe spores-cristaux de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Ann. Zool. Ecol. anim. Paris, 6(4): 521-528.
- MCCOY, C.W., 1981. Pest control by the fungus *Hirsutella thompsonii*. In: BURGESS, H.D. Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press Inc. (London). p.499-512.
- MENDONÇA, A.F. e J.M. COSTA, 1980. O problema de controle integrado a cigarrinha da folha, *Mahanarva posticata*(Stal) (Homoptera:Cercopidae) no Estado de Alagoas durante a campanha de 1979. Resultados e perspectivas futuras. V Encontro Nacional de Entomologistas do IAA/PLANALSUCAR, Itajaí, SC, 14-19 de abril.

- MENDES, A.C.; P.S.M. BOTELHO; N. DEGASPARI e S.M.S.S. ARAÚJO, 1980. Desenvolvimento do combate biológico da *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae), na Coordenadoria Regional Sul, importância, resultados e perspectivas futuras. In: V Encontro Nacional dos Entomologistas do IAA/PLANALSUCAR, Itajaí, SC, 14-19 de abril.
- NAVES, M.A., 1981. Bioassay para testes de virulência de cepas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin nas cigarrinhas das pastagens *Deois flavopicta* (Stal) e *Zulia entreriana* (Berg.) (Homoptera:Cercopidae). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 7, Fortaleza, p.278. [Resumo, T-252].
- NAVES, M.A. e R.T. ALVES, 1983. Comparação de cepas e dosagens de *Metarhizium anisopliae* em campo. Boletim do Grupo de Pesquisadores de Controle Biológico. Brasília, (4): 8-10.
- PACHECO, J.M. e M.G. BERNARDES, 1976. Ensaio de campo com o fungo entomógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em três concentrações de esporos, visando o controle microbiológico da "cigarrinha das pastagens" *Zulia entreriana* Berg., no Norte do Estado do Espírito Santo, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 3, Maceió, 1976. p.51-2. [Resumo, 20].

PÁDUA, L.E.M., 1983. Biologia comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera, Braconidae) para determinação das suas exigências térmicas. Piracicaba, ESALQ/USP, 53p. [Dissertação de Mestrado].

PETCH, T., 1931. Notes on entomogenous fungi. Trans. Brit. Myc. Soc. Cambridge, 16: 55-75.

PHADKE, C.H. e V.G. RAO, 1978. Studies on the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. Current Science, 47(14): 511-512.

REARDON, R.C. e J.D. PODGWAITE, 1976. Disease-parasitoid relationships in natural populations of *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae) in the Northeastern United States. Entomophaga. Paris, 21(4): 333-341.

RISCO, B.S.H., 1978. National program of sugarcane improvement, develops a multiplication program of the fungus *Metarhizium anisopliae* for biological control of *Mahanarva posticata* in the States of Northeast of Brazil. International Society of Sugarcane Technologists. Entomology Newsletter. Araras, 5: 17-18.

- RISCADO, G.M., 1982. Eficiência comparada de *Apanteles flavipes* (Cameron, 1891), no controle de *Diatraea* spp. no Rio de Janeiro. Piracicaba, ESALQ/USP, 77p. [Dissertação de Mestrado].
- ROCCIA, A.O., 1982. Efeito da liberação dos parasitos *Metagonistylum minense* Wulp., 1896 e *Lixophaga diatraeae* Townsend, 1916 (Diptera:Tachinidae) no controle da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lep., Pyralidae). Piracicaba, ESALQ/USP, 45p. [Dissertação de Mestrado].
- ROCKWOOD, L.P., 1950. Entomogenous fungi of the genus *Metarhizium* on wireworms in the Pacific Northwest. Ann. Entomol. Soc. Am. Columbus, 43(4): 495-498.
- RORER, J.B., 1910. The froghopper fungus. Bull. Dept. Agric. Trinidad Tobago, 9: 182-184.
- RORER, J.B., 1913. The use of the green muscardine fungus in the control of some sugar cane pests. Phytopathology. St. Paul, 3: 88-94.

- SHOREY, H.H. e I.M. HALL, 1963. Toxicity of chemical and microbial insecticides to pest and beneficial insects on poled tomatoes. J. Econ. Entomol. Menasha, 56(6): 813-817.
- SMITH, J.W.; E.G. KING e J.B. BELL, 1976. Parasites and pathogens among *Heliothis* species in the control Mississippi Delta. Environ. Entomol. Maryland, 5(2): 224-226.
- SOSA GÓMEZ, D.R., 1983. Caracterização e padronização de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, 1883 provenientes de diferentes regiões do Brasil. Piracicaba, ESALQ/USP, 117p. [Dissertação de Mestrado].
- STEINHAUS, E.A., 1949. Principles of insect pathology. McGraw-Hill Publications in the Agricultural Sciences. R.A. Brink, Consulting Editor. 757p.
- TANADA, Y., 1955. Field observation on a microsporidian parasite of *Pieris rapae* (L.) and *Apanteles glomeratus* (L.). Proc. Hawaii Entomol. Soc., 15: 609-616. Apud: R. Appl. Entomol., London, 1956, 44: 432.

- THOMSON, H.M., 1958. The effect of a microsporidian parasite of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) on two internal hymenopterous parasites. Can. Entomol. Ottawa, XC(12): 694-696.
- TULLOCH, N., 1976. The genus *Metarhizium*. Transaction of the Brit. Mycol. Soc. Cambridge, 66: 407-411.
- VAIL, P.V.; C.F. SOO HOO; R.S. SEAY; R.G. KILLINEN e W.W. WOLF, 1972. Microbial control of lepidopterous pests of fall lettuce in Arizona and effects of chemical and microbial pesticides on parasitoids. Environ. Entomol. Maryland, 1(6): 780-785.
- VEIGA, A.F.S.L., 1979. O fungo entomógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., como opção para o controle biológico das cigarrinhas das pastagens (Homoptera:Cercopidae) no Estado de Pernambuco. Boletim do Grupo de Pesquisadores de Controle Biológico. Brasília, (1): 3-4.
- VILLACORTA, A., 1980. Suscetibilidade de ninfas de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) (Homoptera, Cercopidae) a diferentes isolamentos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Anais da S.E.B. Jaboticabal, 9(1): 33-38.

WOLLAM, J.D. e W.G. YENDOL, 1976. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* and a parasitoid for supression of the gypsy moth. J. Econ. Entomol. Menasha, 69(1): 113-118.