CONTROLE MICROBIANO DE *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794)
(LEP.: PYRALIDAE) COM *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL.,
B. brongniartii (SACC.) PETCH E VÍRUS DA GRANULOSE,
E SIMULAÇÃO DOS EFEITOS DE SUA APLICAÇÃO

ROBERTO EDUARDO LECUONA
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
Janeiro - 1986

À Liliana,
minha esposa, colega, companheira e amiga
e nossas duas filhas
Agustina e Aluminé

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao "Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina" pelo outorgamento da bolsa de estudo para a realização do curso de Pós-graduação e deste trabalho de tese.

Ao "Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária" (INTA) pela liberação para poder realizar este curso.

Ao Dr. Sérgio Batista Alves, Professor Adjunto do Departamento de Entomologia, pela orientação na realização do presente trabalho e pelos estímulos, conhecimentos e amizade.

Ao Dr. Ricardo B. Sgrillo pela orientação na área de simulação, pela sua dedicação e predisposição, sua amizade e conhecimentos transmitidos.

Aos Professores do curso de Pós-graduação em Entomologia da ESALQ, pelos ensinamentos transmitidos, amizade e por ter colocado à minha disposição suas instalações, equipamentos e material didático.

Ao Dr. Darcy M. Silva e colaboradores pelas facilidades oferecidas na purificação do vírus utilizado no presente trabalho.

À Dra. Marinêia de Lara Haddad, M.Sc. Orghêda L.A. Domingues Zucchi, M.Sc. Antonio Carlos Oliveira e José Celso Carriel de Abreu pelo apoio estatístico.

Ao Dr. Evoneo Berti Filho pela correção do Summary.

Ao Programa Nacional de Melhoramento de Cana-de-Açúcar (PLANAL SUCAR) do Instituto do Açúcar e do Alcool (IAA), Coordenação Regional Sul, pelas facilidades oferecidas para o fornecimento dos insetos utilizados neste trabalho.

Aos colegas de curso, Antônia, Eliane, Paulo e Guillermo pela amizade, colaboração e estímulos recebidos.

Aos outros colegas do curso, tanto de mestrado como de doutorado, pela colaboração e amizade.

Aos amigos na R. Argentina pelo incentivo recebidos, em especial a Nicolás por tudo o que fez.

A meus familiares pelo apoio e estímulo.

Aos funcionários da Biblioteca Central da ESALQ, pelas colaborações recebidas.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram na execução deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xii
RESUMEN	xv
SUMMARY	xviii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Origem do gênero <i>Beauveria</i>	4
2.2. Modo de ação, sintomas e sinais do gênero <i>Beauveria</i>	6
2.3. Características dos fungos <i>Beauveria bas-</i> <i>siana</i> (Bals.) Vuil. e <i>Beauveria brongniartii</i> (Sacc.) Petch.....	8
2.3.1. Culturais	8
2.3.2. Patogenicidade	9
2.3.3. Efeito da temperatura	18
2.4. Ação conjunta de <i>Beauveria</i> spp. com outros patógenos.....	21
2.5. Aspectos relacionados à segurança na utili- zação dos fungos <i>Beauveria</i> spp.....	21
2.6. Os <i>Baculovirus</i> como patógenos de insetos..	23
2.6.1. Características dos vírus de granu- loses (GV)	25
2.6.1.1. Características morfológi- cas e bioquímicas.....	25

2.6.1.2. Patogenicidade	27
2.6.1.3. Efeito da temperatura	32
2.6.2. Vírus da granulose de <i>Diatraea sac-</i> <i>charalis</i> (Fabr., 1794).....	33
2.6.3. Aspectos relacionados à segurança na utilização dos <i>Baculovirus</i>	35
2.7. Simulação do efeito da aplicação de patóge- nos na dinâmica populacional de <i>Diatraea</i> <i>saccharalis</i>	36
2.7.1. Sistemas e modelos.....	36
2.7.2. Descrição do sistema	39
3. MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1. Material	42
3.1.1. Inseto utilizado nos bioensaios....	42
3.1.2. Patógenos estudados	43
3.1.3. Meios de cultura	44
3.1.4. Equipamentos	45
3.2. Métodos	47
3.2.1. Ensaio em laboratório	47
3.2.1.1. Ação dos patógenos sobre larvas de <i>Diatraea saccha-</i> <i>ralis</i> a distintas tempera- turas,.....	47
3.2.1.1.1. Bioensaio com os fungos <i>Beau-</i> <i>veria bassiana</i>	

e <i>B. brongniartii</i>	48
3.2.1.1.2. Purificação do GVDs.....	49
3.2.1.1.3. Bioensaio com GVDs.....	50
3.2.1.1.4. Bioensaio com os fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i> associa- dos a GVDs.....	51
3.2.1.2. Determinação da capacidade de produção de exoenzimas pelos fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i> ...	52
3.2.1.3. Tamanho dos conídios dos fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	54
3.2.1.4. Porcentagem de germinação dos conídios dos fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	56

3.2.1.5. Cálculo do potencial de inóculo para os fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	56
3.2.1.6. Determinação da absorbância e transmitância de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	57
3.3. Ensaio em condições de campo.....	58
3.3.1. Tratamentos.....	58
3.3.2. Inoculações dos patógenos.....	59
3.3.3. Cálculo do potencial de inóculo para os fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	60
3.3.4. Avaliação do dano.....	60
3.3.4.1. Número de orifícios.....	60
3.3.4.2. Porcentagem do dano.....	60
3.3.4.3. Intensidade de infestação.....	61
3.3.4.4. Escala do dano.....	61
3.3.4.5. Porcentagem de mortalidade larval.....	62
3.4. Simulação do efeito da aplicação de patógenos na dinâmica populacional de <i>Diatraea saccharalis</i>	63

Página

3.4.1. O modelo.....	63
3.4.1.1. Desenvolvimento.....	65
3.4.2. O programa	72
4. RESULTADOS.....	73
4.1. Ensaio em laboratório.....	73
4.1.1. Ação dos patógenos em larvas de <i>Dia-</i> <i>traea saccharalis</i> em diferentes tem-	
peraturas.....	73
4.1.2. Tempo Letal (LT ₅₀) para matar 50%	
dos insetos pelos patógenos, nas di-	
ferentes temperaturas.....	88
4.1.3. Sintomatologia das larvas mortas pe-	
los patógenos.....-.....	96
4.1.4. Medição dos conídios de <i>Beauveria</i>	
<i>bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	97
4.1.5. Diâmetro médio das colônias de <i>Beau-</i>	
<i>veria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i> em	
meio BDA mais antibiótico.....	99
4.1.6. Produção de conídios por colônia de	
<i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	
em meio BDA mais antibiótico.....	101
4.1.7. Produção de conídios por cm de colô-	
nia de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brong-</i>	
<i>niartii</i> em meio BDA mais antibióti-	
co.....	103

4.1.8. Atividade enzimica de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i> em meios específicos.....	103
4.1.9. Porcentagem de germinação dos conídios de <i>B. bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i> , em meio BDA mais antibiótico, nas diferentes temperaturas.....	111
4.1.10. Potencial de inóculo de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	112
4.1.11. Determinação de absorbância e transmitância de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	112
4.2. Ensaio no campo.....	114
4.2.1. Avaliação do dano.....	114
4.2.1.1. Número de orifícios por colmo provocados pelas larvas de <i>D. saccharalis</i> nos diferentes tratamentos.....	114
4.2.1.2. Porcentagem de dano provocado pelas larvas de <i>D. saccharalis</i> nos diferentes tratamentos.....	115
4.2.1.3. Escala de dano.....	117
4.2.1.4. Intensidade de infestação.	118

4.2.2. Potencial de inóculo de <i>Beauveria</i> <i>bassiana</i> e <i>B. brongniartii</i>	118
4.3. Simulação do efeito da aplicação de patóge- nos na dinâmica populacional de <i>Diatraea</i> <i>saccharalis</i>	119
5. DISCUSSÃO.....	127
5.1. Ensaios relacionados com a mortalidade de <i>Diatraea saccharalis</i> pelos patógenos em condições de laboratório e campo.....	127
5.2. Sintomatologia das larvas de <i>D. saccharalis</i> mortas pelos patógenos.....	133
5.3. Diferenciação entre espécies de <i>Beauveria</i> .	133
5.4. Simulação do efeito da aplicação de patóge- nos na dinâmica populacional de <i>Diatraea</i> <i>saccharalis</i>	137
6. CONCLUSÕES.....	140
7. LITERATURA CITADA.....	142
8. APÊNDICE.....	164

CONTROLE MICROBIANO DE *Diatraea saccharalis* (FABR. 1794) (LEP.: PYRALIDAE) COM *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL., *B. brongniartii* (SACC.) PETCH E VÍRUS DA GRANULOSE, E SIMULAÇÃO DOS EFEITOS DE SUA APLICAÇÃO.

Autor: ROBERTO EDUARDO LECUONA

Orientador: Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

RESUMO

O objetivo do trabalho foi estudar a eficiência dos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch e do vírus de granulose (GVDs), associados ou não, sobre larvas de terceiro ínstar de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), em quatro temperaturas: 22, 26, 30 e 34° C. Foi possível a avaliação do dano desta praga, em colmos de cana-de-açúcar mantidos sob condições de campo, quando infestados com larvas inoculadas com os patógenos citados.

Além disto, foi desenvolvido um modelo determinístico compartimental para simular a dinâmica populacional de *D. saccharalis* em presença da aplicação dos patógenos.

O experimento foi conduzido no laboratório de Patologia dos Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ-

USP. As larvas foram mantidas em caixas plásticas sendo alimentadas com porções de colmos de milho.

O fungo *B. brongniartii* foi mais eficiente nas temperaturas baixas que *B. bassiana*. A 34° C, nenhum dos fungos foi patogênico; entretanto, os tratamentos onde se inoculou GVDs, mostraram ser patogênicos nesta temperatura.

Com relação aos Tempos Letais (LT₅₀), os menores valores corresponderam aos fungos e os maiores ao vírus de granulose individualmente, apresentando os tratamentos combina dos valores intermediários.

As duas espécies de *Beauveria* apresentaram diferenças no tocante à forma e tamanho dos conídios, produção de exoenzimas, quantidade de conídios/cm de colônia e absorbância das suspensões.

Para avaliar a produção de exoenzimas, a medição da área enzimica foi mais precisa que o índice enzimico.

Nos testes no campo, comprovou-se que os colmos submetidos às larvas com os patógenos, apresentaram menor número de orifícios e danos.

Através do modelo desenvolvido se verificou que a mortalidade total provocada pelos patógenos não é tão importante, quando comparada com a duração do período de atuação e o momento da aplicação dos mesmos.

As maiores reduções populacionais foram obtidas quando os patógenos atuaram no início da segunda geração, e além disto, quando atuaram em um só período dessa ge-

ração comparado com dois períodos, sendo um na segunda e o outro na terceira geração.

CONTROL MICROBIANO DE *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794) (LEP.: PYRALIDAE) CON *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL., *B. brongniartii* (SACC.) PETCH Y VIRUS DE LA GRANULOSIS Y, SIMULACIÓN DE LOS EFECTOS DE SU APLICACIÓN.

Autor: ROBERTO EDUARDO LECUONA

Orientador: Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la eficiencia de los hongos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. y *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch y del virus de la granulosis (GVDs); asociados o no, sobre larvas del 3º estadio de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1974), en cuatro temperaturas: 22, 26, 30 y 34° C. Fue posible la evaluación del daño de esta plaga, en tallos de caña de azúcar mantenidos bajo condiciones de campo, cuando fueron infestados con larvas inoculadas con los patógenos citados.

Además, fue desarrollado un modelo teórico determinístico con compartimientos para simular la dinámica poblacional de *D. saccharalis* en presencia de la aplicación de los patógenos.

El experimento fue conducido en el laboratorio

de Patología de Insectos del Dpto. de Entomología de la ESAIQ-USP. Las larvas fueron mantenidas en cajas de plástico, siendo alimentadas con porciones de tallos de maíz.

El hongo *B. brongniartii* fue más eficiente a temperaturas bajas que *B. bassiana*. A 34° C, ninguno de los hongos fue patogénico, en cuanto que los tratamientos donde se inoculó GVDs, mostraron ser patogénicos en esa temperatura.

En relación con los Tiempos Letales (LT₅₀), los menores valores correspondieron a los hongos y los mayores al virus de la granulosis individualmente, presentando, los tratamientos combinados, valores intermedios.

Las dos especies de *Beauveria* presentaron diferencias relacionadas con la forma y tamaño de los conidios, producción de exoenzimas, cantidad de conidios/cm de colonia e absorbancia de las suspensiones.

Para evaluar la producción de las exoenzimas, la medición del área enzimática fue más precisa que el índice enzimático.

En los ensayos de campo, se comprobó que las cañas con larvas inoculadas con los patógenos, presentaron menor número de orificios y de daños.

El modelo desarrollado permitió comprobar que la mortalidad total provocada por los patógenos no es tan importante cuando comparada con la duración del período de acción y el momento de la aplicación de los mismos.

Las mayores reducciones poblacionales fueron

obtenidas cuando los patógenos actuaron en las etapas iniciales de la segunda generación y además, cuando actuaron en un solo período de esa generación, comparado con dos períodos, uno en la segunda y otro en la tercera generación.

MICROBIAL CONTROL OF THE *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794)
(LEP.: PYRALIDAE) WITH *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL.,
B. brongniartii (SACC.) PETCH AND GRANULOSE VIRUS AND
SIMULATION OF THE EFFECT OF APPLICATION.

Author: ROBERTO EDUARDO LECUONA

Adviser: Dr. SÉRGIO BATISTA ALVES

SUMMARY

The objective of this paper was to study the efficiency of the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch and the granulose virus (GVDs), either associated or not, on third-instar larvae of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), at four temperatures: 22, 26, 30 and 34° C. It was possible to evaluate the injury of this pest, on the sugar cane stalks in field conditions, when the stalks were infested with pathogen inoculated larvae.

A deterministic compartmental model was developed to simulate the population dynamics of *D. saccharalis* when treated with the pathogens.

The experiment was set in the laboratory of Insect Pathology, Department of Entomology, "Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz", in Piracicaba, State of São Paulo, Brazil. The larvae were kept in plastic boxes and fed

with portions of corn stalks.

The fungus *B. brongniartii* was more efficient at low temperature than *B. bassiana*. At 34° C neither fungi was pathogenic; however the treatment with virus inoculation was pathogenic at this temperature.

As to the Leta1 Time (LT₅₀), the lowest values were shown by the fungi and the highest ones by the granulose virus individually; the associate treatments have presented on intermediate value.

The two *Beauveria* species have shown differences in the size and form of the conidia, exoenzyme production, quantity of conidia/cm of colony and absorbancy of the suspensions.

For enzyme production evaluation, the enzymatic area was more precise than the enzymatic index.

In the field tests, the stalks with pathogen inoculated larvae have shown the lowest number of holes and injuries.

The model developed here demonstrated tha the total mortality by the pathogen is not important when compared with the duration of the action period and the time of application.

The highest populational reductions are predicted when the pathogens are applied at the initial stage in the second generation and also when they applied in two periods: one at the second and the other at the third generation.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma das principais culturas no Brasil ocupando uma área, em 1984, de aproximadamente 3.867.200 hectares. O Estado de São Paulo é o que tem a maior área cultivada, representando cerca de 48% do total (IAA/PLANALSUCAR, 1984).

Sendo uma cultura em expansão, a disponibilidade de alimentos para as pragas é muito grande o que resulta entre outros fatores um aumento da população de insetos.

Essa cultura é danificada por várias pragas, sendo *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) de ocorrência generalizada no Brasil e também na República Argentina, onde em milho, segundo DAGOBERTO e LECUONA (1982), reduz a produção em até 48% em decorrência do tombamento das plantas e espigas danificadas.

Dentre as medidas de controle para esta praga,

os inimigos naturais mostram um papel importante na diminuição das suas populações, tanto no Brasil como na República Argentina. Assim, no Brasil o parasitismo natural devido aos diversos agentes de controle foi de aproximadamente 26% em 1984. Na República Argentina esse valor situou-se ao redor de 40% (WILLINK *et alii*, 1982 e IAA/PLANALSUCAR, 1984).

O controle químico de *D. saccharalis*, principalmente no Hemisfério Sul, além de não ser eficiente, pode prejudicar o efeito benéfico dos inimigos naturais, tornando-se portanto, necessário o estudo das potencialidades dos patógenos, para utilização no controle integrado desta praga, evitando-se o emprego indiscriminado de inseticidas não seletivos e os inevitáveis desequilíbrios biológicos.

A contribuição dos patógenos no parasitismo natural da broca é muito variável e depende da região, época do ano e da espécie de patógeno envolvida. Diversos patógenos já foram constatados sobre a broca, sendo os mais comuns *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Akanthomyces* sp., *Aspergillus* sp., microsporídeos e vírus de granulose. Todos esses patógenos são de ocorrência endêmica chegando a parasitar, no máximo, 10% da população da broca nas condições de campo.

Sendo assim, o presente trabalho procurou determinar a eficiência dos fungos *B. bassiana* e *B. brongniartii* (Sacc.) Petch e do vírus de granulose, associados ou não, sobre larvas de *D. saccharalis* em quatro condições de tempera

tura. Também foi possível a avaliação do dano desta praga, em plantas mantidas sob condições de campo quando infestadas com larvas inoculadas com os patógenos citados.

Além deste objetivo, se desenvolveu um modelo determinístico compartimental para simular a dinâmica populacional de *D. saccharalis* em presença da aplicação dos patógenos.

Os resultados encontrados deverão fornecer informações importantes para o manejo de *D. saccharalis*, nas diferentes culturas onde ocorre.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ORIGEM DO GÊNERO *Beauveria*

O primeiro patógeno de insetos identificado foi o fungo do gênero *Cordyceps* sobre um lepidóptero (Noctuidae), reportado e ilustrado por Réamur, em 1726. Em 1835, Agostino Bassi, considerado o pai da Patologia dos Insetos, publicou um trabalho sobre a "muscardine", doença fúngica do *Bombyx mori* L., identificada posteriormente como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (STEINHAUS, 1964).

Nesse mesmo ano, Balsamo-Crivelli determinou o fungo como *Botrytis bassiana* (Balsamo, 1835). Enquanto os micologistas europeus adotavam essa nomenclatura, os americanos, entre eles Spegazzini, na Argentina (1880), preferiram chamá-lo *Sporotrichum* (BENHAM e MIRANDA, 1953). Beauverie, em 1911,

advertiu que suas características, justificavam o reconhecimento como um gênero distinto de *Botrytis*, *Sporotrichum* e *Isaria*. Por este motivo, Vuillemin, em 1912, estabeleceu o gênero *Beauveria*, em homenagem a Beauverie (MACLEOD, 1954).

Entretanto, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch foi isolado de gafanhotos na Argélia por Brongniartii, em 1891, como *Botrytis* sp. Em 1892, Saccardo chamou-o de *Botrytis brongniartii*. Petch, em 1926, transferiu esta espécie para o gênero *Beauveria*, como *B. brongniartii*. Siemaszko, em 1937, concluiu que esta espécie era uma raça de *B. tenella* (MACLEOD, 1954).

MACLEOD (1954) fez uma pesquisa sobre o gênero *Beauveria*, concluindo que só existem duas espécies, *B. bassiana* e *B. tenella*. Segundo ele, são raças de *B. bassiana*: *B. stephanoderis*, *B. laxa*, *B. globulifera*, *B. effusa*, *B. vexans*, *B. doryphorae*, *B. delacroixii* e *B. acridiorum*. As raças de *B. tenella* são: *B. densa*, *B. melolonthae*, *B. brongniartii* e *B. shio-tae*. As espécies *B. peteloti*, *B. rileyi*, *B. paranense*, *B. coccorum*, *B. coccospora*, não têm características de *Beauveria* e correspondem a outros gêneros.

Em 1972, o gênero *Beauveria* foi revisado por De Hoog, que concluiu que existem somente duas espécies: *B. bassiana* e *B. brongniartii* (= *B. tenella*) (FERRON, 1978).

2.2. MODO DE AÇÃO, SINTOMAS E SINAIS DO GÊNERO *Beauveria*

Segundo PEKRUL e GRULA (1979) os conídios são capazes de germinar sobre todas as regiões da cutícula do inseto. As hifas exibem uma forte orientação positiva para a cutícula e penetram logo após germinadas, em torno de 14 a 18 horas após a infestação. Durante a penetração não se observam estruturas semelhantes a apressórios. Há produção de enzimas que degradam a cutícula formando-se orifícios por onde penetram as hifas. Também pode-se observar penetração direta através do sistema respiratório, sendo os conídios presos dentro dos espiráculos, podendo germinar neles (ROBINSON, 1966).

Após a penetração no inseto, produz-se uma reação melânica do tegumento, no sítio da infecção, provavelmente devido a mudanças na atividade da fenoloxidase, causada pelo fungo (Aoki e Yanese, 1970; Kawakami, 1972, citados por FERRON, 1978).

Já dentro da hemocela, o fungo multiplica - se extensamente nas primeiras 48 horas. Este crescimento ocorre quase sem danificar os tecidos dos insetos. Depois, o primeiro tecido a ser infestado é o gorduroso e logo começa a deteriorar-se decorridas 60 a 72 horas. Depois aos 4 ou 5 dias tornam-se afetados o tecido intestinal e os tubos de Malpighi. Neste tempo, a larva morre e a mumificação é evidente. Os tecidos que ainda não são afetados, apesar das larvas ficarem totalmente mumificadas, são as glândulas de seda, músculos e trau

quêias (PEKRUL e GRULA, 1979).

Segundo Sussman (1952), citado por MACLEOD (1954), a morte do inseto é provavelmente o resultado da acumulação de fenóis, os quais podem ser produzidos ou pelo fungo ou pelo próprio inseto.

Quando o inseto morre, o fungo passa a crescer saprofíticamente e difunde-se através de todos os tecidos. Ocorre uma competição entre o fungo e a flora bacteriana intestinal. Entretanto, na maioria dos casos, o cadáver é transformado em uma múmia resistente à decomposição bacteriana, aparentemente devido à produção de antibióticos pelo fungo. O oosporin, um pigmento vermelho, tem atividade bactericida e é o responsável pela coloração rosa ou avermelhada dos cadáveres (FERRON, 1978).

Posteriormente, as hifas saem pelas cavidades naturais e regiões intersegmentais cobrindo todo o corpo do inseto. Com a conidiogênese o inseto apresenta uma coloração branco-amarelada ou branco-creme.

FERRON (1978) relatou que durante a muda do tegumento, as hifas e blastosporos invadem o fluido da ecdise e infectam o novo tegumento em formação, causando lises localizadas na epiderme por um processo comum de infecção de larvas entre mudas. Em outro momento, a ação do fungo é mais avançada quando a ecdise ocorre e a nova cutícula aparentemente é ferida durante a muda, devido à adesão das duas cutículas, causadas pelo micélio. Estas feridas são uma "porta de

entrada" para os elementos miceliais do fungo já presente no fluido da ecdise, como também, às bactérias que podem causar septicemia letal.

2.3. CARACTERÍSTICAS DOS FUNGOS *Beauveria bassiana* (BALS.)

VUILL E *Beauveria brongniartii* (SACC.) PETCH

2.3.1. CULTURAIS

A descrição original de *B. bassiana* é a seguinte: "hifas delgadas, de 1,5 a 2 μ de diâmetro, hialinas e septadas. Colônias achatadas, farinosas e finamente pulverulentas, com uma aparência calcárea, superfície branca ou creme pálida. Fiálides de formas variáveis, ventriculosa ou filamentosa, desenvolvidas sobre ramos da hifa principal ou sobre curtos ramalhetes em ângulo reto ao eixo principal. Os ramos podem formar cabeças globosas compactas. Os conídios são dispostos em ziguezague, estendendo-se desde o topo das fiálides, que são globosas e de 2,4 μ de diâmetro" (MACLEOD, 1954).

Entretanto, a descrição de *B. brongniartii* é muito semelhante. Esta espécie apresenta colônias flocosas, cotonasas ou farinosas, superfície de cor branca a creme até amarelo pálido. Hifas de 1,5 a 2 μ de diâmetro. hialinas e septadas. Fiálides variáveis em forma, ventriculosa ou filamen-

tosa, desenvolvidas sobre ramos da hifa principal e/ou em curtos ramalhetes em ângulo reto ao eixo principal, formando cabeças globosas compactas. Conídios ovais a elipsoidais, de 2 a 6 μ por 1,5 a 3 μ , dispostos em zig-zague nas fialides filamentosas (MACLEOD, 1954).

Com respeito ao tamanho e forma dos conídios, variam segundo os autores, mas em um estudo feito por MACLEOD (1954) com *B. bassiana*, encontrou que 42,8% dos conídios são ovais, com 2 x 1,5 μ de tamanho e, 57,2% dos conídios são globosos, com 2 μ de diâmetro. Segundo SAMSON (1981), os conídios são globosos e subglobosos e de 2 a 3 x 2 a 2,5 μ . Porém, Saccardo, em 1892, citado por MACLEOD (1954) descreveu originalmente os conídios de *B. brongniartii* como de forma oval, de 4 x 2 a 2,5 μ .

Segundo MACLEOD (1954), a diferença entre essas duas espécies de *Beauveria* está somente na forma e tamanho dos conídios. Em *B. brongniartii* são principalmente ovais a elipsoidais, com poucos globosos (2%). Os conídios ovais variam de 2 a 6 x 1 a 4 μ e, os globosos de 2,5 a 3 μ de diâmetro. Segundo SAMSON (1981), os conídios são elipsoidais e com um tamanho de 2 a 3 x 1,5 a 2,5 μ .

Com respeito à fase sexual deste fungo, Schaerffenberg (1955, 1964), citado por MADELIN (1966), afirmou haver encontrado o estado sexual de *B. bassiana* e descreveu a ocorrência de peritécios sobre cadáveres de insetos doentes e em cultivo em agar inclinado.

2.3.2. PATOGENICIDADE

Segundo MACLEOD (1954), o fungo *B. bassiana* foi

isolado de insetos mortos com maior frequência que qualquer outro entomopatôgeno. Assim mesmo, este fungo é bem conhecido por ser o causador da doença "muscardine branca", em mais de 30 espécies de insetos (Pramer, 1965, citado por CHAMPLIN *et alii*, 1981). Também, ROBERTS e YENDOL (1971) citam *B. bassiana* como o fungo mais largamente utilizado.

Um dos primeiros ensaios sobre o uso de *B. bassiana* como agente de controle biológico, foi feito por Tangl, em 1893, que o testou contra larvas de *Lymantria monacha* L. Seus experimentos de laboratório tiveram êxito, mas testes de campo deram resultados negativos (HALL, 1954).

Na Europa, Metalnikov e Toumanoff (1928) e Toumanoff (1933), citados por HALL (1954), encontraram que *Pyrausta nubilalis* Hubner foi muito suscetível à *B. bassiana*.

LEFEBVRE (1931) achou diferenças entre duas espécies de *Beauveria* (*bassiana* e *globulifera*) atacando a *P. nubilalis*. Encontrou que a primeira espécie é mais virulenta que a segunda, com abundante produção de conídios geralmente entre 3 e 4 dias.

Em teste de laboratório, BARTLETT e LEFEBVRE (1934) mostraram que *B. bassiana* foi extremamente virulento e que rapidamente matou as larvas de *P. nubilalis*, depois de terem sido inoculadas com conídios; além disso, os estágios mais precoces foram mais suscetíveis que os mais avançados. Segundo estes autores, o milho foi uma planta hospedeira favorável, pois as panículas e axilas das folhas oferecem conveniente

localização para a acumulação de conídios e, ao mesmo tempo, são os mais frequentes locais de penetração das larvas.

STIRRET *et alii* (1937), obtiveram-se reduções na população desta praga entre 21% e 63%, em ensaios de campo, com doses de 40 gramas de conídios em 16 libras de farinha por acre (40 g/7,25 kg/4.046,9 m²).

BEALL *et alii* (1939) trabalharam também no controle de *P. nubilalis*, utilizando doses de 10 a 40 g/16 libras de farinha branca de trigo. Concluíram que os melhores resultados foram obtidos com as doses mais altas e que o momento em que se realiza a aplicação é mais importante que as doses.

Segundo STEINHAUS (1952), do total de microrganismos isolados de larvas de *P. nubilalis*, 45% correspondeu ao gênero *Beauveria*, principalmente *B. bassiana*.

Com este mesmo inseto RIBA *et alii* (1983) realizaram testes de laboratório para determinar a suscetibilidade de ovos, larvas e pupas a numerosas raças de vários fungos, entre eles, *B. bassiana*. Obtiveram uma baixa patogenicidade para ovos, enquanto que para larvas e pupas, os resultados estiveram em função das raças. Para larvas de 5º ínstar, o LT₅₀ variou de 8,4 a 28,2 dias, com uma dose de 10⁷ conídios / ml. Para pupas, a variação foi de 12,2 a 13,4 dias. Além disso, acharam que a suscetibilidade das larvas ao fungo aumentou com a adição de doses subletais de clorpirifós à suspensão fúngica.

RIBA (1984) testou nesta praga, duas formula-

ções de *B. bassiana*, granulada e líquida, obtendo com a primeira uma mortalidade larval de 96% e 14% de incremento nos rendimentos do milho. A dose utilizada foi de 1×10^{12} conídios/ha, o que equivale a 30 kg/ha.

Na Ucrânia, Sikura e Smietnik (1967), citados por FERRON (1978), obtiveram satisfatória proteção de frutos contra *Laspeyresia pomonella* (L.), com três aplicações de Boverin a 1 kg/ha (24×10^9 conídios/g). Também, Sikura e Bevzenko (1972), citados por FERRON (1978) utilizaram *B. bassiana* para o controle de *Leptinotarsa decemlineata* (Say.) na dosagem de 2 kg de Boverin a 6×10^9 conídios/g e um quinto da quantidade normalmente aplicada de DDT por hectare.

Na Rússia, recomenda-se atualmente o uso de 2 a 4 kg/ha de Boverin, contendo 6×10^9 conídios/g de *B. bassiana*, o que representa 1,2 a $2,4 \times 10^{13}$ conídios/ha, para o controle de *L. decemlineata* (FERRON, 1978 e 1981).

IGNOFFO *et alii* (1979) relataram que os estudos em grande escala com *B. bassiana* têm sido conduzidos na Rússia com os trabalhos iniciados em 1913, por Pospelov. Eles pesquisaram o efeito de distintas doses de Boverin contra *Trichoplusia ni* (Hb). Concentrações de 1% provocaram 91,1% de mortalidade com uma redução no consumo de 51,3%. Com uma concentração de 10%, a mortalidade foi de 88,2% e 67,9% de redução no consumo. Para *Pieris rapae* (L.) concentrações de 1% de Boverin provocaram 75% de mortalidade e 46% de redução no consumo, enquanto para 10%, os valores foram de 98,2% e 82,6%, res

pectivamente.

ALESHINA (1980) relatou que o fungo *B. bassiana* tem sido o mais estudado sob o ponto de vista comercial, o qual é utilizado na Rússia contra 70 espécies de insetos, entre eles, *Ostrinia nubilalis* (Hb.).

Um exemplo da utilização desse fungo no controle de *O. nubilalis* em grande escala, é o que vem ocorrendo na China. *B. bassiana* foi aplicado em 1977 em aproximadamente 400.000 hectares de milho. Após 5 anos, os danos foram reduzidos de 60% para 2% (HUSSEY e TINSLEY, 1981).

Na República Argentina, MARCHIONATTO (1934) relatou a ocorrência de fungos entomógenos, entre eles, *Beauveria globulifera* (Speg.) Picard. FRESA (1979) determinou *B. bassiana* sobre larvas de *D. saccharalis*, procedentes de cana-de-açúcar. Também constatou esse patógeno sobre a praga do olmo, *Galerucela luteola* Muller.

Naquele país, DAGOBERTO *et alii* (1981) encontraram que o parasitismo por *Beauveria* sp. em larvas hibernantes de *D. saccharalis* foi o principal fator de mortalidade, alcançando 95% desde fins de julho até outubro. Este fungo foi observado também atacando larvas durante março e abril, sobre milho em estado fenológico de grão pastoso.

No Brasil, GUAGLIUMI (1973) relatou a ocorrência de *B. bassiana* em *D. saccharalis* nas condições de campo.

ALVES *et alii* (1985) determinaram o CL_{50} para pré-pupas, desse inseto, correspondentes a $1,27 \times 10^5$ conídios/ml. Em condi_

ções de campo, observaram uma mortalidade de 45% a 56%, respectivamente para $3,7 \times 10^7$ e $3,7 \times 10^8$ conídios/ml e uma redução de 45% no dano causado pela praga.

N'DOYE (1976) realizou um trabalho muito interessante em *Chilo suppressalis* Walker com doses subletais de *B. bassiana*. Seus resultados mostraram redução da fecundidade dos imagos sobreviventes, diminuição da fertilidade dos ovos e elevada mortalidade larval do tipo septicemia bacteriana na população da geração seguinte. Características semelhantes foram observadas em outros lepidópteros (*P. nubilalis*, *Carpocapsa pomonella* L.) e coleópteros.

Isto mostrou que a interpretação dos resultados dos experimentos de controle microbiano de insetos pragas não pode ser limitada somente à mortalidade a curto prazo, critério este utilizado para inseticidas químicos.

Os fungos produzem várias enzimas extracelulares como amilase, lipase, protease, quitinase, pectinase, urease, DNAase e RNAase, as quais podem ser verificadas através de meios sólidos formulados por HANKIN e ANAGNOSTAKIS (1975). Esta técnica pode ser utilizada para avaliações individuais de fungos e variações genéticas, pela presença ou ausência de produção de enzimas, como também para estudos ecológicos e taxonômicos de vários fungos.

LEOPOLD e SAMSINAKOVA (1970) observaram a produção das exoenzimas quitinase, celulase, protease e lipase por *B. bassiana*, sendo verificada que a degradação dos compo-

nentes individuais do tegumento de *Galleria mellonella* L. por este fungo se faz, primeiramente, pela sequência de enzimas lipase e protease, e mais tarde quitinase (SAMSINAKOVA *et alii*, 1971).

Em relação a virulência, resultados conflitantes foram encontrados. Assim, Samsinakova *et alii* (1976), citados por FERRON (1978) acharam relação entre virulência em *G. mellonella* e atividade de lipase de *B. bassiana*; observaram também alta atividade de protease em raças não-virulentas. Encontraram que a uma alta atividade lipolítica correspondeu uma baixa ação proteolítica e vice-versa, mas não puderam determinar a correlação entre a virulência e atividade de lipase.

Entretanto, PEKRUL e GRULA (1979) e SMITH *et alii* (1981) em *H. zea* e CHAMPLIN *et alii* (1981) em *Curculio caryae* (Horn.) não acharam relação entre patogenicidade e atividade exoenzimica para lipase, protease e quitinase em *B. bassiana*. Quando este fungo foi injetado na hemocela das larvas de *H. zea*, CHEUNG e GRULA (1982) determinaram correlação entre mortalidade e atividade proteolítica, embora com aplicações tópicas não foi possível obter o mesmo resultado.

Em relação a *B. brongniartii*, PARIS e SEGRETAIN (1978) e PARIS e FERRON (1979) concluíram que, em *Melolontha melolontha* L., os isolados mais virulentos apresentaram alta atividade lipolítica, mas não encontraram associação entre virulência e a presença de quitinase e protease.

Para determinar a atividade das enzimas extracelulares, a maioria dos autores utilizam índices enzimicos co-

mo o formulado por ROSATO *et alii* (1981), expressado pela relação diâmetro da colônia e diâmetro do halo.

As atividades proteolítica e a quitinolítica são importantes na penetração do tegumento pelas hifas do fungo. Entretanto, essa penetração parece que envolve um complexo de eventos em sequência, sendo a atividade destas enzimas apenas um dos eventos envolvidos nesta série (SMITH *et alii*, 1981). Portanto, a baixa patogenicidade não seria uma simples consequência da carência de enzimas requeridas para a penetração no tegumento (PEKRUL e GRULA, 1979).

A superfície do tegumento das larvas dos insetos diferem em quantidade e/ou qualidade de ácidos graxos livres, que podem prejudicar os conídios de *B. bassiana*. Assim, ácidos graxos de cadeia longa, tais como: cáprico (C: 10), undecanóico (C: 11), esteárico (C: 18) e oleico (C: 18-1), permitem a germinação dos conídios mas o crescimento das hifas não continua, ocorrendo uma autólise dos tubos germinativos. Entretanto, ácidos graxos de cadeia curta, como butírico (C: 4), valérico (C: 5), capróico (C: 6), heptanóico (C: 7), caprílico (C: 8) e nanóico (C: 9) inibem a germinação e o crescimento dos conídios e tubos germinativos, respectivamente (SMITH e GRULA, 1981 e 1982).

Com respeito a *B. brongniartii*, são muitos os trabalhos onde esse patógeno é citado como *B. tenella*.

Assim, BERRIOS e HIDALGO-SALVATIERRA (1971) estudaram a suscetibilidade de larvas de *Hypsipyla grandella* Zeller aos fungos *B. tenella* e *B. bassiana*. A mortalidade causada pelo primeiro fungo começou aos 8 dias e para o segundo, aos 3 dias. *B. bassiana* provocou maior mortalidade (13,9%) que *B. tenella* (12,7%) ainda quando se encontrava em concentração

menor ($1,4 \times 10^6$ e $2,9 \times 10^6$ conídios/ml, respectivamente). Acharam além, diferenças na coloração dos fungos, tendo *B. bassiana* micélio branco e *B. tenella* micélio branco-creme.

ROBERT e MARCHAL (1980) testaram distintos isolados de *B. brongniartii* e *B. bassiana* em larvas de *Plutella maculipennis* Curt. Doses de 1×10^8 conídios/ml ocasionaram uma mortalidade entre 90 e 99,99% aos 10 dias de inoculadas.

Na Rússia, entre 1965 e 1975, o fungo *B. tenella* foi o mais efetivo agente de controle de larvas e adultos de *Melolontha hippocastani* F., praga de florestas (ERSKAYA, 1978).

Na Índia, testes de laboratórios mostraram que *B. brongniartii* foi altamente patogênico a larvas de *Pelopidas mathias* (F.), praga do arroz. Quando as larvas foram inoculadas por caminhamento sobre o fungo, obtiveram 100% de mortalidade, após 72 horas (NAYAK *et alii*, 1980).

YADAVA *et alii* (1980) também ensaiaram este método de inoculação por caminhamento de larvas-pragas do arroz, sobre a cultura pura deste fungo. Este método foi comparado com a alimentação direta de talos de arroz molhados na suspensão de conídios. Obtiveram respectivamente 90 e 35% de mortalidades.

Segundo N'DOYE (1979), *B. tenella* não causou infecção em larvas e pupas de *C. suppressalis*, entretanto, *B. bassiana* provocou de 30 a 75% de mortalidade (segundo as raças) em larvas e de 43,3 a 86,7% em pupas, sendo os ovos altamente suscetíveis.

KELLER (1978) achou que adultos de *M. melolontha* foram suscetíveis aos conídios e blastosporos de *B. tenella*, obtendo-se bons resultados com concentrações de 2×10^6 blastosporos/ml. Dependendo da con-

centração, a mortalidade das fêmeas foi de 61 a 92,5% e de machos de 79,2 a 88,4%. Além disso, a saúde da progênie dos adultos infectados foi prejudicada. O autor conclui que o fungo pode ser transmitido à progênie, e que tem também um incremento não-específico na mortalidade larval da progênie.

Visando o controle desta mesma praga, FERRON (1979) aplicou uma suspensão de conídios de *B. brongniartii* no solo. Com uma dose de 20×10^9 conídios/m², a população de adultos se reduziu quase um ano após a aplicação.

Doses maiores que esta, dentre 23 a 26×10^{13} conídios/ha, ocasionaram 69 a 85% de mortalidade no campo e laboratório, respectivamente. Além disso, apresentou-se redução no ciclo de vida das fêmeas, de 13 para 8 a 9 dias; entretanto, não foi observada a redução da fertilidade no campo (KELLER *et alii*, 1980).

FERRON (1983) fez testes para demonstrar a facilidade de indução de epizootias deste fungo, em larvas de *M. melolontha*, em áreas onde o fungo era endêmico. Tratamentos do solo com 10×10^9 conídios/m² podem induzir epizootias no próximo ano e, a multiplicação do fungo nos cadáveres de larvas infectadas asseguraram a estabilidade da infectividade no solo para a geração seguinte da praga.

Na Suíça, *B. brongniartii* foi o mais importante agente de mortalidade desta praga. No campo, doses de 2×10^{14} conídios/ha não reduziu muito a população da 1ª geração mas, na 2ª geração, a população baixou a 0,6 insetos/m² em relação à testemunha, que tinha 8 insetos/m² (KELLER, 1983).

2.3.3. EFEITO DA TEMPERATURA

Segundo Schaerffenberg (1957), citado por BARSON

(1977), as temperaturas limites para a germinação de *B. bassiana* variam desde 0°C até 40°C. WALSTAD *et alii* (1970) determinaram que a germinação dos conídios desse fungo ocorreu entre 15 a 35°C, com o acme entre 25 a 30°C; temperaturas entre 35 e 49°C retardaram a germinação, sendo a temperatura letal para os conídios de 50°C. Aconidiogênese realizou-se ainda com temperaturas menores de 10°C ou maiores de 35°C, sendo mais rápida a 25 e 30°C, tardando 5 dias para isto. A 35°C o tempo requerido para que a conidiogênese começasse foi de 8 dias e a 10°C, de 15 dias.

ROBERTS e YENDOL (1971) determinaram que os limites de crescimento para este fungo estão entre 5 e 35°C, com o ótimo entre 20 a 30°C.

BARSON (1977), estudando o efeito da temperatura, desde 5°C até 30°C, sobre *B. bassiana* parasitando *Scolytus scolytus* F., determinou que a 5°C todas as larvas morreram em 56 dias, enquanto que a 30°C, em 29 dias. Por interpolação, a temperatura ótima foi de 21,6°C. Este autor citou Gosswalr (1938), que registrou infecções em laboratório com este patógeno a 0°C. Também relatou que Headlee e McColloch (1913), Pascalet (1939), Hart e MacLeod (1955) determinaram que com temperaturas acima de 30°C, o crescimento e infecção são retardados.

Segundo FERRON (1978), a temperatura ótima para o desenvolvimento do fungo não é necessariamente a mesma que para o desenvolvimento da doença. Muito embora, a influência da temperatura sobre o inseto deva ser levada em consideração, já

que curtos períodos entre as ecdises, devido às altas temperaturas, podem reduzir por exemplo, a duração dos ínstares ou prolongá-la e impedir a penetração do fungo através do tegumento.

Kalvish (1974) e Ferron (1967), citados por FERRON (1978), determinaram que o rápido desenvolvimento micelial e, conseqüentemente, a rápida evolução de infecção, dependem da temperatura; em geral, valores médios para *B. bassiana* são de 25°C, com limites de 5°C a 35°C. Temperaturas mais baixas que as ótimas retardam o desenvolvimento da micose, sem afetar necessariamente a mortalidade total. Para *B. brongniartii*, a temperatura ótima foi de 23°C.

DOBERSKI (1981) estudou a influência da temperatura e umidade sobre *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*. Obteve menor tempo para alcançar 50% de mortalidade com o aumento da temperatura (desde 20°C até 20°C), enquanto que umidades de 51% até 100% causaram a mesma infecção.

JAYARAMAIAH e VEERESH (1983) testaram em laboratório 7 compostos e 25 combinações de 5 temperaturas e 5 umidades relativas na germinação de *B. brongniartii*. O composto que deu a mais rápida e alta porcentagem de germinação foi maltose (2%) e a melhor combinação foi 25°C com 86 a 93% de umidade relativa.

2.4. AÇÃO CONJUNTA DE *Beauveria* spp. COM OUTROS PATÓGENOS

A combinação de *B. tenella* com o vírus *Entomopox virus melolonthae* ou com a bactéria *Bacillus popilliae* em larvas de *M. melolontha*, incrementou a incidência do fungo e a aceleração do processo de infecção e sensibilidade do inseto à micose. É importante destacar que o sinergismo ocorrerá somente se a virose ou bacteriose já estiverem no inseto quando a contaminação por *Beauveria* ocorrer e que nessas condições, os dois tipos de microrganismos desenvolver-se-ão simultaneamente no inseto até que ocorra a morte com os sintomas característicos do fungo (Ferron e Hurpin, 1974; Ferron *et alii*, 1969, citados por FERRON, 1978).

KALVISH e KRIVTSOVA (1978) testaram "in vitro" e "in vivo", vários fungos, entre eles *B. bassiana* e *B. tenella*, com duas raças de *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*. Seus resultados mostraram que as "muscardines" exerceram um efeito antibacteriano; entretanto, o efeito final foi de sinergismo.

SMIRNOV (1979) achou sinergismo entre *B. tenella* e o nematóide *Pristionchus uniformis* em *L. decemlineata*.

2.5. ASPECTOS RELACIONADOS À SEGURANÇA NA UTILIZAÇÃO DOS FUNGOS *Beauveria* spp.

Evidências disponíveis indicam que os "insetici-

das microbianos" são praticamente inofensivos ao homem e animais superiores (Briggs, 1960; Dunn, 1960; Smirnoff e MacLeod, 1961; Steinhaus, 1959, citados por CAMERON, 1963).

Entretanto, nem todos os representantes do gênero *Beauveria* são necessariamente entomógenos, como indicam os isolamentos de *B. tenella* da carne de pássaros mortos (Smith, 1897, citado por MACLEOD, 1954). Outra evidência foi encontrada por Kuru (1932), citado por MACLEOD (1954), que isolou *B. shiotae* (Kuru) Langeron de um abscesso localizado na região abdominal de um ser humano em Tokyo. Mais tarde, encontrou que este fungo mostrava alguma patogenicidade para o suíno da Guiné e ratos quando foi inoculado dentro da cavidade abdominal.

De lesões cutâneas e ósseas de um pé de um homem, em Veneza, foi isolado *B. epígea* (Aschieri, 1930, citado por MACLEOD, 1954).

Dresner (1949), citado por MACLEOD (1954), relatou que a manipulação do material esporulado de *B. bassiana* provoca uma nuvem de pó, que é frequentemente inalada, mas não tem efeito prejudicial sobre os operários.

MACLEOD (1954) citou um trabalho interessante de Dieuzeide (1925), comentando que conídios de *B. bassiana* triturados em um fino pó e bebidos com um pouco de água são excelente remédio para meningite infantil e epilepsia.

2.6 Os *Baculovirus* COMO PATÓGENOS DE INSETOS

O estudo de virologia de insetos como uma área da ciência formal iniciou-se na Inglaterra por Kenneth M. Smith, em 1950.

Os vírus de insetos podem ser divididos em duas categorias: os inclusos e os não inclusos. O primeiro tipo, compreende aqueles em que de uma matriz protéica, sendo esta usualmente de forma poliédrica. Nesse tipo, encontramos quatro subtipos: vírus de poliedrose nuclear, vírus de granulose (ambos constituem os chamados *Baculovirus*), vírus de poliedrose citoplasmática e os entomopoxvírus. Dentro dos vírus não inclusos, têm-se três grupos simplesmente ácidos nucléicos dentro de uma capa protéica de glicoproteína, lipoproteína ou a combinação das três.

Segundo SMITH (1959), os *Baculovirus* (NPV e GV) são os mais apropriados para usar em controle biológico, por serem eles facilmente identificados por meio do microscópio e, o mais importante, que o vírus propriamente dito fica incluso no cristal proteico o qual protege o vírus das condições ambientais e além disso, permite que seja pulverizado de forma conveniente e viável. Na natureza, os cristais ajudam a difusão da doença pois eles são extremamente resistentes ao frio e outros fatores, e podem reter sua infectividade por anos. Alguns são levados pelo vento e outros permanecem sobre as plantas para infectar mais tarde as larvas.

A disseminação do vírus no campo ocorre, principalmente, pela ingestão do alimento contaminado e por herança dos pais doentes, ao passá-los através dos ovos, em gerações subsequentes. É portanto possível introduzir o vírus dentro de uma população de insetos e afetar futuras gerações de uma forma que os inseticidas não podem fazê-lo (SMITH, 1959).

A utilização dos vírus entomopatógenos como forma de controle de pragas é, segundo a FAO (1974) o método mais promissor, em particular os de poliedroses nucleares (NPV) e as granuloses (GV). Estes patógenos são indicados para este fim por sua provável eficiência e segurança no emprego, boas propriedades de armazenamento, facilidade de produção e por estarem amplamente distribuídos entre os insetos. O uso de outros grupos de vírus poderia trazer maiores dificuldades, sobretudo no aspecto da especificidade.

Os *Baculovirus*, segundo TINSLEY (1979), são conhecidos por terem efetividade no controle de populações de insetos. São muito específicos para a classe Insecta e parecem estar restritos a hospedeiros invertebrados. São relativamente fáceis de produzir em grande quantidade e, em condições específicas, são marcadamente estáveis. Eles podem ser considerados como os de menor risco ecológico quando liberados dentro do meio natural; assim, eles tem sido escolhidos como o grupo que contém os mais promissores agentes de controle.

Segundo MOSCARDI (1983), dentre os patógenos de insetos, os vírus, principalmente os do gênero *Baculovirus* (NPV

e GV), possuem um grande potencial para utilização no controle de insetos-praga. Por serem eficientes, específicos e seguros para o homem e outros animais, estes vírus preenchem todos os requisitos básicos como alternativa aos inseticidas, tóxicos e poluentes, tradicionalmente utilizados na proteção de culturas.

2.6.1. CARACTERÍSTICAS DOS VÍRUS DE GRANULOSOS (GV)

2.6.1.1. Características morfológicas e bioquímicas

Os GV apresentam uma capa protéica de forma cilíndrica que foi denominada de "cápsula" por Bergold em 1948, citado por RIBEIRO (1985). Dentro desta cápsula protéica se encontra um vírion (raramente dois), que é a unidade infectiva do vírus. Este é composto por um envelope e o nucleocapsídeo (capsídeo mais proteína), sendo o ácido nucléico presente do tipo DNA.

Normalmente o estágio larval é mais atacado e a infecção se dá após a ingestão de alimento contaminado com as

cápsulas. No intestino médio, em condições de alcalinidade, essas se dissolvem liberando as partículas de vírus (virions) as quais se ligam às microvelosidades e liberam o nucleocapsídeo. Nas células da parede do intestino, o DNA é pressupostamente liberado, iniciando-se uma infecção limitada. Dentro delas, ocorre um grande aumento de partículas do vírus, as quais podem infectar outros tecidos como tegumento, corpo gorduroso, células sanguíneas, traquéias, etc. Usualmente, a larva morre em 4 a 14 dias, dependendo da idade, temperatura e dose do inóculo. De cada larva grande, acima de 1×10^9 cápsulas podem ser produzidas (TANADA, 1976; KALMAKOFF e LONGWORTH, 1980; PAYNE e KELLY, 1981).

Com respeito à replicação do vírus, pode ocorrer no núcleo da célula ou no citoplasma (BIRD, 1958; PAYNE e KELLY, 1981).

HUGER (1963) citou que o tamanho médio da cápsula tem uma amplitude entre 300 e 511 m μ de largura e 119 a 350 m μ de comprimento.

Neste tema, ONGARELLI *et alii* (1980 b) mediram o GV de *Erinnyis ello* L. cujos valores foram: 300 x 60 m μ para as particular encapsuladas; 266 x 44 m μ para as partículas nuas e 547 x 291 m μ para os cristais de proteínas contendo somente uma partícula de vírus (virion).

2.6.1.2. Patogenicidade

O primeiro inseto registrado com vírus (NPV e GV) foi *Euxoa segetum* Schiff, e o primeiro citado como hospedeiro de GV foi *Pieris brassicae* (L) por Paillot, em 1926 (STEINHAUS, 1957).

Segundo DAVID (1975), o vírus de granulose tem sido encontrado parasitando 65 espécies de lepidópteros.

Quanto aos sintomas das larvas atacadas por GV, são muito variáveis e muitas vezes não são muito óbvios. Consequentemente, um exame microscópico é o método mais preciso para identificar a granulose (HUGER, 1963). Esse mesmo autor relatou que em geral, os sintomas são mudanças na coloração, condição e comportamento do inseto.

A primeira indicação da infecção, frequentemente é a perda do apetite e posteriormente a paralização da alimentação. A superfície ventral pode progressivamente mudar sua cor para branco pálido e amarelo leitoso, devido ao desenvolvimento de grande número de cápsulas no tecido afetado; o tegumento frequentemente é manchado. A mudança de cor pode também depender em parte, da idade da larva no momento da infecção (HUGER, 1963).

As larvas infectadas podem continuar com as mudas e crescer quase ou até um pouco mais que o tamanho normal (*Pseudaletia unipuncta* Haworth) até que finalmente morrem. Outras espécies apresentam uma marcada redução no tamanho; outras

chegam a inchar-se e não apresentam segmentação ou somente um pouco; também há um incremento da turgidez (*Pieris rapae* L.). A mudança de cor é acompanhada por um progressivo debilitamento, lentidão e flacidez larval; em adição, elas chegam a responder menos aos estímulos. Sintomas de diarreia podem ocorrer como resultado de uma bacteriose secundária induzida pela granulose. Depois de mortas, as larvas, frequentemente escurecem rapidamente até se tornarem totalmente negras (HUGER, 1963).

Segundo este autor, o período de infecção letal do GV varia consideravelmente em diferentes hospedeiros como também, em uma espécie mas, em geral, a faixa é entre 4 a 25 dias, chegando a 34 dias em *P. unipuncta*. Isto pode depender principalmente do grau de maturação larval no momento da infecção, temperatura, doses do vírus aplicadas, virulência do inóculo e condições de sanidade do hospedeiro. Também as larvas podem morrer por GV sem passar pela sequência completa de sinasis e sintomas externos. O corpo gorduroso é o principal tecido afetado.

BIRD (1958) achou que o GV de *P. rapae*, *Eucosma griseana* Hbn. e *Choristoneura fumiferana* Clem. infectam o tecido gorduroso, hipoderme, matriz traqueal e células sanguíneas.

Em geral, as larvas jovens são mais susceptíveis a GV que as mais velhas (HUGER, 1963). Por exemplo, em *P. unipuncta*, a mortalidade média para larvas de 1º e 2º ínstar foi de 80,8 e 92,7% respectivamente. Enquanto que para o 6º ínstar

foi de 23,4%.

FALCON *et alii* (1968) determinaram que uma pequena porcentagem de larvas de *C. pomonella* (L.) morreu pela aplicação da suspensão com GV ($9,5 \times 10^9$ a $3,4 \times 10^{11}$ grânulos /3,785 ℓ) antes de penetrar nos frutos; entretanto, a maioria morreu logo após alimentar-se sobre a epiderme dos frutos pulverizados com o vírus. Poucas larvas conseguiram perfurar e aprofundar-se nos frutos e destas, a maioria morreu dentro das maçãs; somente algumas morreram como larvas maduras e pupas.

STAIRS (1971) relatou, que GV de *Argyrotaenia velutinana* (W) pode regular as populações desta praga em culturas de maçã. Suspensões de vírus foram aplicados no campo, em dosagem de 5, 10 e 100 cadáveres/378,5 ℓ de água quando as larvas eram jovens. Todas as suspensões mataram grande quantidade de larvas, mas não antes de terem causado dano nos frutos.

No Hawai, aplicações de GV de *P. rapae* em brócolis, em doses de 2, 4 e 8 cadáveres/3,785 ℓ mataram grandes quantidades de larvas e o número destas por planta se reduziu em 50 a 80% aos 6 dias pós-tratamento. (STAIRS, 1971).

Com respeito a esta praga, HOSTETTER *et alii* (1973) em aplicações no campo com uma suspensão de vírus, em dose de 10^{11} cápsulas/4.046,9 m², obtiveram reduções no dano às culturas.

HOSTETTER *et alii* (1973), trabalhando com o GV de *P. rapae*, estabeleceram um método simplificado de purifica-

ção, com bons resultados. Eles coletaram larvas mortas pelo vírus e fizeram uma suspensão em água estéril (1 larva/ml) e o espalhante adesivo. A suspensão foi filtrada e armazenada até seu uso. Em aplicações no campo com esta suspensão, em doses de 10^{11} cápsulas/acre (10^{11} cápsulas/4046,9 m²), obtiveram reduções no dano às culturas.

WHITLOCK (1977) estudou o efeito da idade e do tamanho das larvas de *Heliothis armigera* (Hb.) inoculadas com uma dose constante de GV. Seus resultados mostraram que a suscetibilidade pode variar com a idade e também dentro da mesma idade, não obtendo uma curva sigmóide normal de resposta entre a porcentagem de mortalidade e o peso da larva.

Na Índia, MEHTA e DAVID (1980) estudaram o efeito do GV de *Chilo indicus* K. Relataram que os sinais da doença começam a aparecer sete dias após a inoculação. O primeiro foi o movimento lento das larvas, que logo deixaram de alimentar-se, contraíram-se em tamanho e gradualmente morreram. O lado ventral tornou-se opaco 15 dias após a inoculação; em três semanas as larvas tornaram-se quase completamente brancas. Determinaram, também que os ínstaes mais suscetíveis foram o segundo e o terceiro, sendo de 20 a 25 dias o tempo transcorrido desde a inoculação até a morte.

LAING e JAUQUES (1980) realizaram um bioensaio com larvas recém-nascidas de *C. pomonella* e seu vírus de granulose. Estas larvas foram colocadas em pequenas áreas para restringir o movimento. Colocaram-se dietas de 28 mm², com uma do-

se de 0,005 ml de GV, com ajuda de uma microseringa. Após 48 horas, a 24° C e 16 horas de fotofase, as larvas foram transferidas para dieta não tratada. A suspensão de vírus foi purificada por centrifugação e utilizou-se um hemocitômetro e microscópio de fase para contagens. Estes autores também relataram que este método de bioensaio tem sido usado em outros insetos como *Grapholita molesta* (Busch) e *Ostrinia nubilalis* (Hb).

No Brasil, foi determinada a ocorrência de vírus de granulose em células gordurosas e de epitélio de traquéia, em larvas de *Erinnyis ello* L. As larvas apresentavam perda de apetite, flacidez do tegumento e hemolinfa leitosa (ON GARELLI *et alii*, 1980).

TATCHELL (1981) estudou o efeito do GV sobre o consumo de *P. rapae*. Ele utilizou discos de folhas inoculadas com suspensão do vírus e colocou as larvas durante 24 horas, passando-as logo após para discos de folhas saudáveis. Observou que a 20° C as larvas de 1º ínstar inoculadas comeram significativamente menos que a testemunha, a partir do 4º dia da inoculação; quando todas as larvas haviam sido mortas pelo vírus, as testemunhas comeram 4,9 vezes mais que as inoculadas. Estas larvas não trocaram de tegumento e somente se alimentaram. As larvas da testemunha do 2º ínstar comeram 1,5 vezes mais que as doentes, enquanto que as testemunhas do 3º ínstar comeram de 2 a 3,3 vezes mais que as inoculadas com o vírus.

VAIL *et alii* (1968) acharam diferenças marcantes entre bioensaios conduzidos sobre meios com e sem formal-

deído, devido à ação antiviral deste produto. O LT_{50} para larvas de *Trichoplusia ni* (Hueb.) em meios contendo formaldeído foi de 1,6 a 1,8 dias maior que em meios sem esse produto; o LD_{50} foi 48 vezes maior em meio com formaldeído. Baixas concentrações de formaldeído são comumente usadas em dietas para insetos visando suprimir o crescimento microbiano e a ocorrência de viroses. Entretanto, para bioensaios com suspensões de vírus, o formaldeído deveria ser excluído.

2.6.1.3. Efeito da temperatura

Tanada citado por HUGER (1963) mostrou que larvas de *P. rapae* são menos sensíveis ao GV quando são criadas e inoculadas a temperaturas de 36° C. Altas temperaturas aparentemente são inibidoras da atividade desse e de outros vírus de insetos.

Esta doença também foi estudada na China (LIANG, 1984) para conhecer o efeito de vários fatores físicos e químicos na infecção com GV.

A temperatura ótima para infecção foi de 21 a 28,1° C, com 83,3 a 96% de larvas infectadas.

O vírus tolera exposições de 60° C por 1 hora, mais perde 70% de infectividade após aplicação de formaldeído (4%), não sendo afetado por clorofórmio, uréia, triclorfom,

clordimeform e malation.

DAVID e GARDINER (1967) encontraram que o GV de *P. brassicae* foi inativado por 10 minutos a 70° C, 60 minutos a 65° C e 24 horas a 60° C. Entretanto, não foi totalmente inativado por 5 dias a 50° C ou por 20 dias a 40° C.

TINSLEY (1979) comentou que altas temperaturas têm pouco efeito sobre os *Baculovirus*, sendo que temperaturas do ar de 43° C ou do solo de 50° C não causaram perdas apreciáveis da infectividade.

2.6.2. VÍRUS DA GRANULOSE DE *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794) (GVDS).

Com respeito ao vírus da granulose em *Diatraea saccharalis*, este foi citado por primeira vez de larvas procedentes de Louisiana, EUA, em 1960 (STEINHAUS e MARSH, 1962).

Na América do Sul, Thomas e Poinar identificaram o GVDS de larvas desse inseto coletadas em Montevideo (Uruguay) por A. Silveira-Guido, em 10 de setembro de 1964 (THOMAS e POINAR, 1973).

No Brasil, PAVAN *et alii* (1983a.) em estudos de laboratório, encontraram que o vírus da granulose de *D. saccharalis* tem-se mostrado capaz de matar larvas de 3º estágio com doses extremamente baixas. Puderam observar que o aumento da idade do hospedeiro causa um aumento da dose letal e no tempo letal

para uma mesma dose. Com o aumento da dose, observa-se a diminuição do tempo letal para hospedeiros da mesma idade.

Este vírus duplica-se no citoplasma da célula hospedeira, e o corpo gorduroso é o principal tecido atacado, achando-se presente em praticamente todos os outros tecidos. As larvas do 3º instar são altamente suscetíveis ao vírus, com um valor de LD_{50} de 42 cápsulas/larva, a 26° C (PAVAN *et alii*, 1983b).

Para sua purificação, estes autores maceraram as larvas infectadas com 0,1% de SDS e, logo depois de filtradas, foram feitos ciclos de centrifugação de 500 G por 2 minutos e 12000 g por 20 minutos. O "pellet" final com vírus foi suspenso em água destilada, determinando-se sua concentração por meio de hemocitômetro (câmara de Neubauer). Em pequenos discos de dieta foram colocados 2,7 µl de suspensão com ajuda de microseringa; às larvas do 3º instar permitiu-se alimentar durante 24 horas, a 26° C e 12 horas de fotofase, para logo passar à dieta isenta do vírus.

Determinaram também, estes autores, valores de LT_{50} de 29, 34, 33, 34, 48 e 63 dias para doses de 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 e 10^2 cápsulas/larva, respectivamente. Dos sintomas observados, citam que a partir de 4 a 5 dias da inoculação, as larvas praticamente deixam de comer e tornam-se flácidas e diminuem de tamanho. Com o progresso da doença, uma coloração branca começa a desenvolver-se desde a parte posterior até a anterior; finalmente, fica com aparência leitosa na maior parte da larva e

o conteúdo do corpo chega a liquidificar-se.

ALMEIDA *et alii* (1984) fizeram aplicações terrestres no campo, com doses/ha equivalentes a 10^4 cápsulas do GVDs para cada 2,7 μ l da suspensão, empregando a vazão de 50 litros/ha. Os autores acharam uma mortalidade larval de 6,95%. Em aplicações aéreas, a uma concentração equivalente a 10^5 cápsulas para cada 2,7 μ l da suspensão, obtiveram uma mortalidade média de 15,11%.

2.6.3. ASPECTOS RELACIONADOS À SEGURANÇA NA UTILIZAÇÃO DOS *Baculovirus*

A FAO (1974), com respeito à segurança dos vírus, relatou que os riscos por inalação afetam a uma variedade de vertebrados, porém sua importância dependerá do modo com que se aplica o vírus e das condições atmosféricas predominantes. Aparentemente, este tipo de risco tem pouca importância no emprego do NPV e GV.

As pessoas que trabalham na produção e aplicação dos agentes virais, podem sofrer reações alérgicas pelo contato com o vírus na pele e nos olhos. Entretanto, adotando-se medidas de precaução, pode-se reduzir este risco.

O possível perigo da ingestão de partículas de vírus, sobretudo através dos alimentos consumidos pelos herbívoros e pelo homem, parece ser muito pequeno com o NPV e GV.

2.7. SIMULAÇÃO DO EFEITO DA APLICAÇÃO DE PATÓGENOS NA DINÂMICA POPULACIONAL DE *Diatraea saccharalis*.

2.7.1. SISTEMAS E MODELOS

Segundo WIT e GOUDRIAAN (1978) e ODUM (1983) o sistema é o conjunto de objetos ou parte da realidade com elementos relacionados. A totalidade das relações dentro do sistema é chamada de estrutura do sistema. O sistema tem um padrão de funcionamento o qual implica a sua mudança com o tempo, ou seja, ele é dinâmico. A representação simplificada de um sistema dinâmico é um modelo dinâmico. Portanto, um modelo é um sistema mas não é verdadeira a relação oposta, ou seja, um sistema não pode ser considerado como modelo. A simulação é a operação do modelo dinâmico e o estudo de seu funcionamento. Com a simulação nossa atenção pode ser desviada das soluções técnicas para estudos de comportamento do modelo e sistema.

A simulação é portanto um processo de imitar uma realidade através de modelos. Tais modelos podem conservar ou não, as características físicas e lógicas do sistema real imitado (SHIMIZU, 1975).

Os sistemas ecológicos são baseados na suposição de que o estado do ecossistema (ou agroecossistema) em algum mo-

mento particular, pode ser expressado quantitativamente e que mudanças no sistema podem ser descritas em termos matemáticos. Esta suposição levou à formulação de modelos de estado determinados, no qual distingue-se variáveis de estado, por exemplo números de insetos, variáveis externas não controláveis como, vento ou precipitações, taxas ou parâmetros, por exemplo, mortalidade ou temperatura base, variáveis auxiliares como temperaturas e variáveis de saída.

Este sistema pode ser representado de várias maneiras, segundo Forrester (1961) citado por WIT e GOUDRIAAN (1978), FORRESTER (1976), ODUM (1983). Normalmente se utiliza o diagrama proposto por Forrester, baseado em símbolos particulares.

Assim, as variáveis de estado estão representadas por um retângulo, as variáveis externas por um losângulo, as taxas por uma cruz tipo "gravata borboleta", os parâmetros por um círculo atravessado por uma linha, as variáveis auxiliares por um círculo. O fluxo de energia ou matéria é representado por uma linha cheia e o fluxo de informação por uma linha pontilhada.

Segundo PATTEN (1971), um sistema é chamado determinístico se um estado do sistema é determinado, exclusivamente, pelo estado anterior do sistema; e é estocástico se determinado pelo estado anterior, envolvendo uma probabilidade devida ao acaso.

O comportamento de sistemas altamente complexos é, muitas vezes, difícil ou impossível de ser previsto. Neles,

a resposta a uma variável ou combinação delas é difícil de perceber. A solução a isto é a utilização da Análise de Sistema, originalmente desenvolvido para as áreas de economia, indústria e administração (Forrester, 1961 citado por SGRILLO, 1979) e que nos últimos anos vem sendo aplicado na área de Ciências Biológicas.

Para realizar um manejo de pragas, o sistema "planta-praga-ambiente" necessita ser conhecido o melhor possível para se poder tomar decisões certas e no momento apropriado. Como este é um sistema complexo, utiliza-se a metodologia da Análise de Sistema que permite mudar determinados parâmetros como: aplicações de inseticida, liberação de parasitóides, patógenos, etc. Deste modo se faz uma simulação, ou seja, através de um modelo matemático se está representando a dinâmica do sistema no tempo, sendo útil para o planejamento das pesquisas no campo ou para o desenvolvimento de estratégias de manejo como estudos de epizootias nas culturas (SGRILLO, 1979; CARRUTHERS, 1985).

Modelos deste tipo já foram desenvolvidos para diversas pragas, entre outros temos: *Heliothis zea* (BODDIE) (STINNER *et alii*, 1974), *Anthonomus grandis* (Boheman) (JONES *et alii*, 1974), *Manduca sexta* (L.) (PEAGAN *et alii*, 1979), *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (LOEWER *et alii*, 1974; ANDERSON *et alii*, 1982 a,b; CARRUTHERS, 1985), *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (SGRILLO, 1979, 1984 a,b; SGRILLO e CUNHA, 1982, 1983, 1985; SGRILLO *et alii*, 1984).

2.7.2. DESCRIÇÃO DO SISTEMA

A broca, *D. saccharalis*, é um lepidóptero nativo da América (GALLO *et alii*, 1978), sendo a principal praga da cana-de-açúcar no Brasil e do milho e cana-de-açúcar na República Argentina. Além destas culturas, se encontra em arroz, trigo, sorgo e outras gramíneas.

Os adultos tem atividade noturna, colocando ovos geralmente na parte superior das folhas, com um total de 250 a 400 ovos, existindo de 10 a 20 ovos em cada postura (HAYWARD, 1943; WALKER e FIGUEROA, 1964; MELO, 1984; SGRILLO *et alii*, 1984).

O período de incubação é função da temperatura, sendo de 6 dias a 25° C (MELO, 1984). Estes ovos são fortemente parasitados e predados no campo.

As larvas, após a emergência, se dirigem à região da bainha das folhas, alimentando-se da epiderme, permanecendo ali até o 3º ínstar (10 a 20 dias). Este período é altamente favorável à ação dos inimigos naturais e aplicações de patógenos ou inseticidas (estes últimos com baixa eficiência em seu controle).

Posteriormente, as larvas penetram no colmo, fazendo galerias em seu interior, podendo além disso, fazer orifícios de saída e novamente entrar no colmo. Esta fase dura aproximadamente 25 dias

Durante o inverno, as larvas maiores podem deixar de desenvolver-se, entrando no estado de diapausa, influen-

ciado pela temperatura e fotoperíodo, embora isto seja ainda duvidoso para alguns pesquisadores e bem claro para outros. Após a melhoria das condições climáticas, em agosto, o desenvolvimento continua. (SGRILLO e CUNHA, 1983).

Ao alcançar o completo desenvolvimento as larvas fazem um orifício para o exterior, fechando-o com fios de seda e serragem passando ao estágio de pupa. Ficam neste estágio por 9 a 14 dias (GALLO *et alii*, 1978).

O ciclo evolutivo completo é de 53 a 60 dias, podendo alcançar até 5 gerações anuais no estado de São Paulo. Na última geração há um alongamento de ciclo ficando a larva no interior do colmo por 5 a 6 meses, segundo GALLO *et alii* (1978), o que concorda com aqueles que consideram a presença de diapausa nesta espécie.

As larvas produzem prejuízo direto na cana pela abertura de galerias, perda de peso, morte das gemas, tombamento pelo vento e secamento dos ponteiros em canas novas (córção morto). Os prejuízos indiretos são os mais consideráveis devido a penetração de fungos através dos orifícios e galerias os que causam a podridão vermelha do colmo. Estes fungos invertem a sacarose, diminuindo a pureza do caldo e dando menor rendimento em açúcar (GALLO *et alii*, 1978).

Na maioria dos países produtores de açúcar, como o Brasil, é utilizado o controle biológico através de liberações de inimigos naturais que ajudam aos nativos, entre eles temos: *Lixophaga diatraea* Towns. *Metagonistylum minense* Towns, *Parathe*

resia claripalpis Wulf., *Apanteles flavipes* Cam., *Telenomus a-*
lecto (Crawford), *Trichogramma minutum* Riley, *Labidura riparia*
(Pallas), formigas, etc.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

O presente estudo foi desenvolvido no laboratório de Patologia dos Insetos do Departamento de Entomologia, ESALQ, USP, Piracicaba, SP, nos meses de janeiro e fevereiro de 1985.

3.1.1. INSETO UTILIZADO NOS BIOENSAIOS

O inseto utilizado para o desenvolvimento do trabalho foi *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794), procedente da criação do laboratório de Controle Biológico do IAA/Planalsucar, criado em dieta artificial de Hensley e Hammond modificada pelo

IAA/Planalsucar (MENDES *et alii*, 1980).

Foram utilizadas larvas de 11 dias de idade, correspondendo ao 3º ínstar.

3.1.2. PATÓGENOS ESTUDADOS

Foram testadas duas espécies de *Beauveria* e um vírus do gênero *Baculovirus* procedentes dos seguintes locais:

- *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., fungo da classe Hyphomycetes (= Deuteromycetes), isolado de larvas de *D. saccharalis* procedentes de Pernambuco.

- *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, fungo da classe Hyphomycetes (= Deuteromycetes), isolado de larvas de *D. saccharalis* procedentes de São Paulo.

- Vírus da granulose de *D. saccharalis* (GVDs), gênero *Baculovirus*, isolado de larvas de *D. saccharalis* procedentes de São Paulo.

Os fungos foram purificados até a 2ª repicagem e conservados no escuro a 4º C sobre meio de cultura BDA mais anttibiótico .

O vírus foi purificado e armazenado a 4º C.

3.1.3. MEIOS DE CULTURA

Meio BDA mais antibiótico

Batata sem casca	200 g
Dextrose	20 g
Ágar	15 g
Streptomicina	0,25 g
Água destilada, completar até	1000 ml

Meio para determinar a atividade amilolítica
(HANKIN e ANAGNOSTAKIS, 1975).

Ágar nutriente	23 g
Amido solúvel	2 g
Água destilada, completar até	1000 ml

Meio para determinar a atividade proteolítica
(GABRIEL, 1968).

Ágar nutriente	23 g
Leite em pó desnatado	23 g
Água destilada, completar até	1000 ml

Todos estes meios de cultura foram esterilizados
em autoclave a 120° durante 30 minutos.

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, repicagem dos fungos e transferência de meios de cultura para placas de Petri.
- Estufas incubadoras BOD, marca FANEM, modelo 347-G, equipada com lâmpadas fluorescentes modelo F 15 -T 12/LD.
- Espectrofotômetro digital B342, marca MICRO-NAL.
- Sala asseptica com pressão positiva a qual proporcionou as condições ideais para as observações diárias da mortalidade nos bioensaios.
- Balança marca METTLER, com indicadores digitais, modelo PB-300.
- Microscópio ótico, marca OLYMPUS - CBA 213.
- Microscópio de contraste de fase, marca AMERICAN OPTICAL.
- Centrífuga marca FANEM, modelo 205-N.
- Ultracentrífuga marca BECKMAN, modelo L-2.
- Agitador e aquecedor elétrico marca FANEM, modelo 258.
- Câmara de Neubauer utilizada para quantificação dos inóculos.

- Câmara de plástico para inoculação das larvas, de 6 cm de diâmetro.
- Germinadores de ferro que permitiram o estudo nas condições de campo.
- Outros materiais: autoclave, estufas para esterilização a seco, placas de Petri, alça de platina, alça de Drigallsky, pinças, pincéis, lâminas, tubos de cultura, tubos de ensaio, pipetas, erlenmeyers, becker, vazadores, piscetas, funil, baguetas, pipetador automático, bisturi, microseringa automática de duplo estágio (modelo PIPEMAT de 5 microlitros), espátulas, lamparina, algodão, álcool, solução de hipoclorito de sódio (5%) mais 100 g de streptomina, água destilada esteril com agente molhante (A-gral 1%), água destilada e deionizada, placas plásticas de bioensaio, caixas plásticas, colmos de cana-de-açúcar (NA 56-79) e de milho (Pirranão VD2).

3.2. MÉTODOS

3.2.1. ENSAIOS EM LABORATÓRIO

3.2.1.1. Ação dos patógenos sobre larvas de *Diatraea saccharalis* a distintas temperaturas

O experimento constou dos seguintes tratamentos:

1. *Beauveria bassiana* na concentração de 1×10^8 conídios/ml
3. *Beauveria brongniartii* na concentração de 1×10^8 conídios/ml
5. Vírus da granulose de *D. saccharalis* (GVDs) , na concentração de 1×10^6 grânulos/ larva
7. *B. bassiana* e GVDs nas concentrações de 1×10^8 conídios/ml e 1×10^6 grânulos/ larva, respectivamente.
9. *B. brongniartii* e GVDs nas concentrações de 1×10^8 conídios/ml e 1×10^6 grânulos/ larva, respectivamente.
- 8 e 10 - Testemunha do tratamento fungo e vírus.
- 2 e 4 - Testemunhas dos tratamentos de fungos.
- 6 - Testemunha do tratamento de vírus.

Estes tratamentos foram colocados em estufa incubadora (BOD) com 16 horas de fotofase e, nas temperaturas de

22, 26, 30 e 34° C. Cada tratamento consistiu de 20 larvas com 3 repetições perfazendo um total de 60 larvas/tratamento.

O delineamento estatístico empregado foi blocos ao acaso com esquema fatorial (10 x 4). Além, calculou-se o LT_{50} para cada patógeno, nas diferentes temperaturas que foram mantidos os insetos.

Curvas de ajuste foram estimadas entre a mortalidade larval e LT_{50} e as temperaturas, como também entre os índices e áreas enzimáticas, diâmetro de colônia, produção de conídios e conídios/cm de colônia com as temperaturas.

No caso das equações de 2º grau, calcula-se o valor de x no qual y é máximo (ou mínimo) com a seguinte fórmula: $X = B_1/2B_2$. Sendo B_1 e B_2 = coeficientes de regressão.

3.2.1.1.1. Bioensaio com os fungos *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii*.

Para produção dos conídios visando os bioensaios, as duas espécies de *Beauveria* foram mantidas durante 15 dias a 26° C e 16 horas de fotofase. Em seguida, retiraram-se os conídios, com ajuda de um pincel, colocando-os em 50 ml de água destilada estéril mais agente molhante.

Esta suspensão original foi quantificada na câmara de Neubauer ajustando-a na concentração de 1×10^8 conídios/ml.

Para a inoculação, as larvas foram mergulhadas na suspensão fúngica, durante 6 segundos (2 ciclos de 3 segundos cada um) e, para as testemunhas, em uma suspensão de água destilada estéril mais o agente molhante. Logo após, foram deixadas sobre uma folha de papel toalha para retirar o excesso da suspensão.

Posteriormente, foram colocadas em caixas plásticas de 6 cm de diâmetro por 2 cm de altura (aproximadamente 53 ml de volume) com porções de colmo de milho lavadas, ficando em estufa incubadora (BOD) nas respectivas temperaturas e a 16 horas de fotofase. Este alimento foi trocado regularmente, quando necessário.

3.2.1.1.2. Purificação do GVDs

Larvas mortas por GVDs, armazenadas no Laboratório de Patologia (ESALQ-USP), foram lavadas externamente durante 5 minutos em uma solução de hipoclorito de sódio (5%) mais 100g de streptomycina, passando-se em seguida por água durante 2 minutos, repetindo-se este procedimento por 3 vezes.

Em seguida, as larvas foram maceradas na presença de SDS (Sódio duodecil sulfato) na concentração de 0,1%, visando facilitar a solubilização da gordura encontrada nos insetos. A quantidade utilizada foi de aproximadamente 0,5 ml por larva, juntando-se a mesma quantidade de água destilada-deio

nizada.

Após a perfeita destruição das larvas a suspensão foi centrifugada durante 2 minutos a 1.500 rpm, sendo desprezado o precipitado correspondente aos restos de tegumento e outros resíduos pesados. O sobrenadante foi centrifugado durante 30 minutos a 10.000 rpm (em ultracentrífuga com rotor 40) sob a temperatura de 4° C.

Devido à presença de algumas bactérias no precipitado, elaborou-se um gradiente de sacarose (10 a 40% de sacarose mais 0,01 M de sulfito de sódio que atuou como antioxidante). Este gradiente foi colocado em ultracentrífuga durante 30 minutos, a 15.000 rpm (rotor SW) e à 4° C de temperatura.

Após a observação ao microscópio da capa com o "pellet" de vírus puro, procedeu-se a centrifugação durante 30 minutos, a 12.000 rpm para eliminação da sacarose, resultando um precipitado com GVDs purificado. Com o precipitado efetuou-se uma suspensão em água destilada - deionizada a qual foi quantificada em câmara de Neubauer, ajustando-se para uma concentração aproximada de 1×10^6 grânulos/5 μ l.

3.2.1.1.3. Bioensaio com GVDs

Para a realização do bioensaio com GVDs cortaram-se discos de dieta de Hensley e Hammond modificada pelo IAA/Planalsucar, isentas de formol, com aproximadamente 0,57

cm^3 (0,6 cm de diâmetro por 0,2 cm de altura). Estes foram transferidos para as placas de bioensaio contendo câmaras de 7,5 ml de volume. Sobre os discos de dieta, adicionou-se 5 μl da suspensão de GVDs, utilizando-se de uma microseringa. Em seguida, colocou-se uma larva por compartimento, mantendo-a encerrada nas câmaras até consumo total do alimento, o que ocorreu entre 24 a 36 horas, nas respectivas temperaturas.

Após esse período, as larvas foram transferidas para as caixas plásticas, já descritas para fungos, com porções de colmos de milho lavadas, ficando em estufa incubadora (BOD) nas temperaturas e fotofase anteriormente citadas. O alimento foi trocado quando necessário.

Para a testemunha, em lugar da suspensão com vírus, foram aplicados sobre as porções da dieta, 5 μl de água destilada - deionizada.

3.2.1.1.4. Bioensaio com os fungos *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii* associados a GVDs.

Neste caso, primeiramente as larvas foram inoculadas com as suspensões fúngicas e logo após, colocadas nas placas de bioensaio com a dieta contendo o inóculo de GVDs. Os procedimentos seguintes foram os mesmos já descritos para o GVDs.

As respectivas mortalidades de todos os tratamentos foram diagnosticadas e avaliadas diariamente, confirmando os diagnósticos através dos sinais dos patógenos observados em preparações microscópicas.

Com os resultados obtidos, analisou-se a porcentagem de mortalidade corrigida (ABBOTT, 1925) para cada patógeno, em cada temperatura. Calculou-se também o tempo letal médio (LT_{50}) para cada patógeno, mediante um programa de computador elaborado a partir do trabalho de SOKAL (1958).

3.2.1.2. Determinação da capacidade de produção de exoenzimas pelos fungos *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii*.

Para estudar a capacidade de produção de exoenzimas das duas espécies de *Beauveria*, utilizou-se meios de cultura sólidos específicos, visando determinar as atividades amilolíticas e proteolíticas desses patógenos.

Os fungos purificados até 2ª repicagem foram inoculados em 3 pontos nas placas de Petri contendo o meio de cultura apropriado para cada enzima, através de uma alça de platina. Utilizaram-se 3 placas de Petri com o meio apropriado para cada espécie, das quais eram selecionadas 6 colônias, retirando duas de cada placa.

Na elaboração dos meios de cultura para testar a

atividade amilolítica empregava-se a técnica descrita por HANKIN e ANAGNOSTAKIS (1975); para a atividade proteolítica seguiu-se a técnica de GABRIEL (1968).

Após a inoculação, as placas foram levadas à estufa incubadora (BOD) reguladas à temperaturas e fotofase já citadas, onde desenvolveram as colônias, produzindo seus halos correspondente, os quais refletiram a atividade enzimática de cada espécie.

A medição do diâmetro médio do halo e da colônia foi realizada após 6 dias de inoculação. A atividade enzimática expressou-se pela relação diâmetro da colônia/diâmetro do halo. Além desta medição utilizou-se a área produzida pela enzima, considerando esta como representativa da atividade enzimática. Para isto se utilizou a seguinte fórmula:

$$AE = \pi \cdot \left[\left(\frac{D}{2} \right)^2 - \left(\frac{d}{2} \right)^2 \right]$$

onde AE = área enzimática

$$\pi = 3,14159$$

D = diâmetro médio maior (inclui a colônia central do fungo e halo enzimático)

d = diâmetro médio menor (somente da colônia do fungo).

A atividade amilolítica foi verificada revelando-se o halo mediante a colocação de lugol nas placas. As colônias que apresentavam esta atividade enzimática eram circundadas

por um halo amarelo em contraste com a coloração azul do meio de cultura.

A atividade proteolítica foi verificada diretamente.

Com a finalidade de determinar o crescimento dos fungos e a produção de conídios nas diferentes temperaturas, procedeu-se à inoculação dos fungos em 3 pontos das placas de Petri, contendo meio de cultura BDA mais antibiótico. As espécies de fungos inoculadas apresentavam apenas 2 repicagens em meio de cultura.

Utilizaram-se 3 placas por fungo, as quais foram colocadas nas temperaturas e fotofase já citadas.

Após 6 dias de incubação, avaliou-se o diâmetro médio das colônias, e logo foram retiradas da placa com ajuda de um bisturi. Em seguida essas colônias foram colocadas em água estéril mais espalhante adesivo, sendo os seus conídios retirados com a ajuda de um pincel. A suspensão de conídios obtida foi quantificada com o auxílio de uma câmara de Neubauer.

O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado.

3.2.1.3. Tamanho dos conídios dos fungos

Beauveria bassiana e *B. brongniartii*

A determinação do comprimento e largura dos coní

dios, produzidos sobre o meio de cultura BDA mais antibiótico, foi realizada através de um microscópio ótico, equipado com uma ocular micrométrica (10x) em continuação com uma objetiva (40x)

Com o objetivo de se determinar um número representativo de conídios, procedeu-se primeiramente a medições dos mesmos, considerando-as como uma amostragem exploratória. Posteriormente, calculou-se o tamanho da amostra corrigido para uma população finita. Para isto, utilizou-se a fórmula seguinte. (COCHRAN, 1963):

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0}{N}}$$

sendo n = tamanho da amostra corrigido para uma população finita.

n_0 = correção para populações finitas

N = número total de amostras

Neste caso, o valor de "n" correspondeu ao número de conídios a contar para cada espécie de fungo.

O resultado foi analisado estatisticamente para conhecer o valor médio e seu limite de confiança, variância, desvio padrão e coeficiente de variação.

3.2.1.4. Porcentagem de germinação dos conídios
dos fungos *Beauveria bassiana* e
B. brongniartii

Para a avaliação da porcentagem de germinação das duas espécies de *Beauveria* colocou-se 0,1 ml da suspensão original utilizada nos bioensaios, em placas de Petri contendo meio de cultura BDA mais antibiótico. Essa quantidade de suspensão foi espalhada em toda a superfície do meio com auxílio de uma alça de Digrallsky. Logo após, transferiram-se as placas para estufas incubadoras (BOD), nas respectivas temperaturas e fotofase.

Transcorridas 18 horas, efetuou-se a contagem dos conídios germinados, cujo tubo germinativo fosse, pelo menos, do mesmo comprimento que o conídio.

3.2.1.5. Cálculo do potencial de inóculo para
os fungos *Beauveria bassiana* e
B. brongniartii

Visando conhecer qual era a quantidade de conídios que efetivamente entraram em contato com o tegumento do inseto após a inoculação com a suspensão dos fungos, procedeu-se da seguinte maneira: 10 larvas foram transferidas para um tubo com 1 ml de água destilada mais o agente molhante. O tubo

foi agitado vigorosamente por aproximadamente 30 segundos e em seguida avaliou-se o número de conídios suspensos na água com o auxílio da câmara de Neubauer. O número de conídios por larva foi obtido dividindo o número total de conídios da suspensão por dez (10).

3.2.1.6. Determinação da absorbância e transmitância de *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii*.

Visando conhecer o comportamento das duas espécies de *Beauveria* em relação à absorbância e transmitância, se prepararam 9 concentrações distintas de ambos fungos. Primeiramente, se escolheu uma concentração da ordem de 10^7 conídios/ml, para se determinar o comprimento de onda correspondente à maior absorbância. Posteriormente, mediu-se a absorbância e transmitância das distintas concentrações em este comprimento de onda.

Após a obtenção dos dados fez-se uma regressão linear simples.

Através do teste de coincidência de retas (SEBER, 1977) se analisou as diferenças entre ambas retas de regressão.

3.3. ENSAIO EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Esta avaliação teve como objetivo quantificar os danos de larvas inoculadas com os patógenos em estudo, em colmos de cana-de-açúcar, colocados em germinadores, descritos por GALLO (1956), em condições de campo.

3.3.1. TRATAMENTOS

- 1 - *Beauveria bassiana* na concentração de 1×10^8 conídios/ml.
- 2 - *Beauveria brongniartii* na concentração de 1×10^8 conídios/ml.
- 3 - Vírus da granulose de *D. saccharalis* na concentração de 1×10^6 grânulos/larva
- 4 - *B. bassiana* e GVDs na concentração de 1×10^8 conídios/ml e 1×10^6 grânulos/larva, respectivamente.
- 5 - *B. brongniartii* e GVDs na concentração de 1×10^8 conídios/ml e 1×10^6 grânulos/larva, respectivamente.
- 6 - Testemunha do tratamento de fungos.
- 7 - Testemunha do tratamento de vírus
- 8 - Testemunha do tratamento fungo e vírus.

Cada tratamento foi constituído por 4 colmos in

festados com 5 larvas do 3º ínstar de *D. saccharalis* cada um, com 4 repetições, perfazendo um total de 20 larvas por tratamentos.

As folhas inferiores foram retiradas, sendo as folhas superiores podadas para se evitar o contato entre elas.

As larvas foram colocadas nas axilas da folha que ficavam à altura do "palmito", e aos 14 dias, as canas foram cortadas longitudinalmente visando a avaliação dos danos.

3.3.2: INOCULAÇÕES DOS PATÓGENOS

As inoculações dos patógenos foram feitas da mesma maneira descrita nos ensaios de laboratório.

Os tratamentos com larvas inoculadas com fungos e suas testemunhas, logo após a inoculação, foram levadas para os colmos nos germinadores. Entretanto, os tratamentos com GVDs e fungos mais GVDs, permaneceram em estufa incubadora (BOD) a 26° C e 16 h de fotofase durante 24 horas. Esse procedimento foi necessário para a inoculação do GVDs, através da dieta contaminada. A seguir, foram colocadas nos colmos das canas da mesma maneira que nos tratamentos anteriores.

3.3.3. CÁLCULO DO POTENCIAL DE INÓCULO PARA OS FUNGOS

Beauveria bassiana E *B. brongniartii*.

Em procedimento idêntico ao executado no ensaio de laboratório, calculou-se a quantidade de conídios que ficou sobre o tegumento das larvas.

3.3.4. AVALIAÇÃO DO DANO

3.3.4.1. Número de orifícios

Contou-se o número de orifícios presentes nos colmos das canas dos diferentes tratamentos.

3.3.4.2. Porcentagem do dano

Para calcular a porcentagem de dano, mediu-se o comprimento total do colmo e relacionou-se com o comprimento das galerias perfuradas pelas larvas.

3.3.4.3. Intensidade de infestação

Este parâmetro foi determinado a partir da fórmula proposta por GALLO *et alii* (1978) contando-se o número de entrenós totais e os broqueados conforme a expressão abaixo:

$$II = \frac{B}{T} \times 100$$

sendo II = intensidade de infestação

B = número de entrenós danificados

T = número de entrenós totais

3.3.4.4. Escala do dano

No estabelecimento de uma escala visual de dano, as notas atribuídas podem ser subjetivas. Por isso tratou-se de estabelecer uma escala em função da amplitude total das medições do comprimento das galerias realizadas pelas larvas.

Baseando-se na amplitude dos dados e no número de notas desejadas, obteve-se o valor da progressão que deveriam ter os intervalos de classes.

Assim, ficou configurada uma escala, com notas de 1 a 5, as quais foram utilizadas para cada tratamento. Esta escala foi a seguinte:

1 = 0,1 a 4 cm de comprimento de galeria

2 = 4,1 a 7 cm de comprimento de galeria

3 = 7,1 a 10 cm de comprimento de galeria

4 = 10,1 a 13 cm de comprimento de galeria

5 = acima de 13,1 cm e coração morto.

3.3.4.5. Porcentagem de mortalidade larval

Sem ser este parâmetro uma medida do dano, desejou-se obter este dado complementar, com a finalidade de se conhecer, em parte, o comportamento a campo dos patógenos estudados.

Na análise estatística não se colocaram as testemunhas por não ter havido mortalidade devida aos patógenos e portanto seus valores foram zero.

Em todos os casos o delineamento estatístico foi em blocos ao acaso com 4 repetições.

3.4. SIMULAÇÃO DO EFEITO DA APLICAÇÃO DE PATÓGENOS NA DINÂMICA POPULACIONAL DE *Diatraea saccharalis*

3.4.1. O MODELO

A estrutura básica do modelo, segundo a anotação de Forrester é mostrada na Figura 1.

Figura 1 - Diagrama de Forrester correspondente ao modelo de simulação do efeito da aplicação de patógenos na população de *Diatraea saccharalis*.

Cada compartimento representa o número de indivíduos nos respectivos estágios de desenvolvimento.

O compartimento X(1) representa ovos de *D. saccharalis*. A entrada nesse compartimento é o processo de postura, regulado pelo número de fêmeas em oviposição (X(7)).

O compartimento X(2) representa o número de larvas nos instares I, II e III, ou seja, período que vai da eclosão das larvas ao momento em que penetram no colmo da cana. É neste período em que se realiza a aplicação de medidas de controle pelo fato de ficar os insetos expostos.

O compartimento X(3) representa larvas dos últimos instares (IV em diante), que vivem no interior do colmo da cana. As larvas nesse estágio podem passar aos compartimentos X(4) e X(5), dependendo de valores de outras variáveis do modelo.

O compartimento X(4) contém larvas em diapausa, ou seja, insetos que detêm o seu desenvolvimento durante o inverno, em função de variáveis ambientais, como temperatura e fotoperíodo.

As larvas do compartimento X(3) e X(4) passam ao compartimento X(5) que representa pupas de *D. saccharalis*.

O compartimento X(6) representa adultos em período de pré-oviposição. Desse compartimento os insetos passam ao X(7) que representa fêmeas em oviposição.

3.4.1.1. Desenvolvimento

Para realizar o modelo dos processos de desenvolvimento (crescimento) do inseto, se utilizou os conceitos de temperatura base e constante térmica. A taxa de desenvolvimento é uma função linear do incremento de temperatura, $T - T_b$, sendo T_b a temperatura base, abaixo da qual não ocorre desenvolvimento. Assim o desenvolvimento fisiológico dos insetos, pode ser descrito por outra variável, a idade fisiológica ou constante térmica, expressa em graus-dia, e definida como a integral com respeito ao tempo do incremento de temperatura acima da temperatura base (ALLEE *et alii*, 1967)

A equação 1 representa a relação entre a constante térmica (K), a duração do desenvolvimento (D) e a temperatura ambiente (T) acima da temperatura base (T_b).

$$K = D * (T - T_b) \quad (1)$$

No entanto se verifica experimentalmente que, devido a diferenças genéticas e condições ambientais, nem todos os indivíduos completam o seu desenvolvimento ao mesmo tempo havendo uma certa variabilidade associada a esse processo.

Para a modelagem do processo de desenvolvimento com variabilidade, adotou-se a técnica proposta por WIT e GOUDRIAAN (1978). Nesse método (BOXCAR TRAIN), cada comparti-

mento é dividido em classes. Uma fração F dos insetos em uma classe é transferida à próxima classe em cada fração F do tempo de residência (RT) na classe. Sem $N(I)$ é o número de classes no compartimento I , e $CV(I)$ é a variabilidade (desvio padrão/média), a fração de transferência no compartimento I , $F(I)$, será como indica a equação 2.

$$F(I) = 1 - N(I) * CV(I) ** 2 \quad (2)$$

O tempo de residência em cada classe do compartimento I , $RT(I)$, é calculado utilizando-se os conceitos de graus-dia e temperatura base, segundo equação 3.

$$RT(I) = K(I) / ((T - Tb(I)) * N(I)) \quad (3)$$

A taxa de desenvolvimento em cada compartimento I , $DG(I)$, é calculada usando a equação 4.

$$DG(I) = 1/(RT(I) * F(I)) - P(I)/DT \quad (4)$$

onde DT é o incremento de tempo no modelo, e $P(I)$ é uma variável auxiliar no compartimento I , que toma valores de 0 e 1 segundo $G(I)$ (integral de $DG(I)$) seja menor que 1 ou maior e igual que 1 respectivamente.

Na equação 5 é calculado o fluxo de insetos na primeira classe (1), do compartimento I , $(DX(I,1))$.

$$DX(I,1)=X(I-1,N(I))*SO(I-1)*P(I-1)*F(I-1)-X(I-1)*P(I)*F(I) \quad (5)$$

onde,

$X(I-1, N(I))$ = número de insetos na última classe do com
partimento I

$SO(I-1)$ = sobrevivência de insetos na última classe

$X(I,1)$ = número de insetos da classe 1 do comparti
mento I.

Nas outras classes de cada compartimento ($I >$), as transferências são calculadas através da equação 6.

$$DX(I,J) = (X(I,J-1)*SO(I)-X(I,J))*P(I)*F(I) \quad (6)$$

onde,

$DX(I,J)$ = fluxo de insetos na classe J do compartimento I.

$X(I,J)$ = número de insetos na classe J do compartimen-
to I.

Para o processo de diapausa (fluxo de $X(3)$ para $X(4)$), utilizou-se o modelo proposto por SGRILLO e CUNHA (1983). A proporção de larvas entrando em diapausa (PD) é função do fotoperíodo (F1) e a temperatura ambiente (TE), segundo a equação 7.

$$PD = 1 / (1 + \exp(CT1 + CT2 * F1)) * 1 / (1 + \exp(CT3 + CT4 * TE)) \quad (7)$$

onde,

CT1, CT2, CT3 e CT4 são parâmetros estimados.

O processo de diapausa é incorporado no modelo modificando a equação 5 para o compartimento 4, segundo consta na equação 8.

$$DX(4,1) = X(3, N(3)) * P(3) * F(3) * PD - X(4,1) * P(4) * F(4) \quad (8)$$

onde,

$DX(4,1)$ = fluxo de larvas em diapausa para a classe 1.

$x(4,1)$ = número de larvas em diapausa na classe 1.

Quando o processo de diapausa começa, o desenvolvimento em $X(4)$ estaciona. Assim, a variável auxiliar $P(4)$ das equações 4, 5 e 6 serão igualadas a zero, independentemente das condições de $G(4)$. O desenvolvimento fisiológico desses insetos permanecerá paralisado até que as seguintes condições sejam cumpridas: fotoperíodo crescente no tempo e a temperatura está acima do umbral de 18°C. Nesse momento o desenvolvimento em $X(4)$ volta a ocorrer, passando $P(4)$ a ser calculado normalmente.

As larvas na última classe dos compartimentos 3 e 4 passam ao $X(5)$, conforme a equação 9.

$$DX(5,1) = X(4, N(4)) * P(4) * F(4) * Z(4) + X(3, N(3)) * P(3) * F(3) * (1 - PD) - X(5,1) * P(5) * F(5) \quad (9)$$

onde,

$DX(5,1)$ = fluxo de larvas que passam a pupa na classe 1

$Z(4)$ = sobrevivência das larvas em diapausa

$X(5,1)$ = número de pupas na classe 1.

O cálculo das fêmeas em oviposição se realiza segundo a equação 10.

$$DX(7,J)=X(7,J-1)*FF-X(7,J)*P(7)*F(7) \quad (10)$$

onde,

$DX(7,J)$ = fluxo de fêmeas em oviposição na classe J

FF = porcentagem de fêmeas férteis.

$X(7,J)$ = número de fêmeas em oviposição na classe J.

Na expressão 11 é calculada a transferência da primeira classe do compartimento 1, ($DX(1,1)$).

$$DX(1,1)=DX(1,1)+(X(7)*FC/N(7)*FF)*DT-X(1,1)*P(1)*F(1) \quad (11)$$

onde,

$X(7)$ = número de fêmeas em oviposição.

FC = fecundidade (ovos/fêmea)

$X(1,1)$ = número de ovos na classe 1.

No caso da sobrevivência, se consideraram três tipos distintos segundo constam nas equações 12, 13 e 14.

$$Z(I) = ((1 - MN(I)) * VI(I)) ** 1 / N(I) \quad (12)$$

onde,

$Z(I)$ = Sobrevivência fixa para os compartimentos 1, 2, 3 e 5.

$MN(I)$ = mortalidade natural do compartimento I

$VI(I)$ = viabilidade do compartimento I.

$$SP = ((1 - (B0 + B1 * TD + B2 * TD ** 2) / 100) * Z(2)) ** 1 / N(2) \quad (13)$$

onde,

SP = sobrevivência de larvas pequenas ($X(2)$) segundo patógeno aplicado. Esta em função da temperatura ambiente.

$B0$, $B1$, $B2$ = coeficientes variáveis segundo patógeno aplicado.

TD = temperatura ambiente.

$$Z(6) = ((1 - MN(6)) * RS) ** 1 / N(6) \quad (14)$$

onde,

$Z(6)$ = sobrevivência de adultos em pré-oviposição

RS = razão sexual

Várias destas equações foram desenvolvidas para suprir as necessidades do modelo, entretanto, outras foram modificadas a partir das existentes na literatura, como as nú

meros 6, 8 e 9 de SGRILLO (1984a). A equação 2 pertence a WIT e GOUDRIAAN (1978); as de números 3, 4 e 5 a SGRILLO (1984b) e de número 7 a SGRILLO e CUNHA (1983).

Este modelo apresenta o efeito de mortalidades fixas, não levando em conta a mortalidade denso-dependente, e não computando-se os adultos que imigram para a cultura.

As simulações foram iniciadas considerando um número provável de ovos/ha (38.000) e para o resto das classes, se achou a proporção correspondente. Para isto, se fez uma simulação inicial e calculou-se a relação existente entre as classes na quarta geração, utilizando-se esses valores para se iniciar as demais simulações.

A ação do patógeno durante os diferentes períodos simulados foi realizada considerando que a aplicação do microrganismo alcança uma porcentagem de mortalidade determinada, o qual se mantém durante esse período. Portanto, não se tem em conta o número de aplicações necessárias para que isto seja mantido.

Foram considerados dois níveis de sobrevivência, um de 50% e outro de 75% em relação à obtida no bioensaio de laboratório, com o objeto de simular dois efeitos de mortalidades a campo, um forte e outro mais fraco. Isto equivaleria a 40,61 e 20,30% de mortalidade média, respectivamente.

O tratamento escolhido para as simulações foi

B. bassiana + GVDs. Esta escolha foi realizada considerando os resultados obtidos nos testes de laboratório.

Primeiramente foi realizada simulações em várias gerações e em função dos resultados foi decidido com qual delas se continuaria o trabalho.

Os períodos de atuação do patógeno variaram des de toda uma geração até somente 12 dias.

O modelo simula o número de insetos nas distintas classes para cada dia do ano, mas na apresentação dos resultados, optou-se em relacionar graficamente a cada 10 dias o número de larvas grandes/ha, para se observar o efeito das aplicações feitas sobre as larvas pequenas.

As reduções populacionais foram calculadas tomando o valor médio dos picos populacionais e relacionando- o com a população sem controle.

3.4.2. O PROGRAMA

A linguagem usada foi o BASIC (Beginner's All-purpose Symbolic Instruction Code) e o programa ocupou 11.520 bytes. A listagem dele consta no apêndice.

4. RESULTADOS

4.1. ENSAIO EM LABORATÓRIO

4.1.1. AÇÃO DOS PATÓGENOS EM LARVAS DE *Diatraea saccharalis* EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Na Tabela 1 encontram-se as porcentagens de mortalidade corrigida de larvas de *Diatraea saccharalis* devido aos diferentes patógenos nas temperaturas de 22, 26, 30 e 34° C. A representação gráfica dos dados não transformados e transformados encontram-se respectivamente nas Figuras 2 e 3.

Tabela 1 - Porcentagem de mortalidade corrigida de larvas de *D. saccharalis*, pelos patógenos, nas temperaturas de 22, 26, 30 e 34° C e fotofase de 16 h.

PATÓGENOS	TEMPERATURAS (°C)			
	22	26	30	34
<i>B. bassiana</i>	75,00	81,57	66,14	3,51
<i>B. brongniartii</i>	80,00	70,00	56,66	0
GVDs	93,33	96,66	96,66	74,44
<i>B. bassiana</i> + GVDs	94,72	91,66	94,62	67,71
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	87,97	98,33	88,33	76,07

Na Tabela 2 apresenta-se a análise da variância correspondente à porcentagem de mortalidade larval nos tratamentos, nas quatro temperaturas e a interação da mortalidade com temperatura; na Tabela 3, o desdobramento dos graus de liberdade.

FIGURA 2 - Porcentagem de mortalidade larval de *V. saccharalis*, provocada pelos patógenos nas 4 temperaturas e fotofase de 16 horas.

FIGURA 3 - Porcentagem de mortalidade transformada (arco seno $\sqrt{\%}$) de larvas de *D. sacchalis* provocadas pelos patógenos nas 4 temperaturas e fotofase de 16 horas.

Tabela 2 - Análise de variância entre mortalidade, temperatura e sua interação, em larvas de *D. saccharalis*. Fotofase 16 h.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Blocos	2	202,63	101,31	2,40n.s.	9,72
Patógeno (PA)	9	126155,51	14017,27	332,29**	0,01
Temperatura (TE)	3	5705,10	1901,70	45,08**	0,01
Interação PA * TE	27	11224,80	415,73	9,85**	0,01
Resíduo	78	3290,26	42,18		
Total	119	146578,32			

CV = 20,60%

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\frac{\%}{100}}$.

Tabela 3 - Desdobramento dos graus de liberdade da análise de variância.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
TE dentro de <i>B. bassiana</i>	3	6079,65	2026,55	48,04**	<0,01
TE dentro de testemunha	3	0,00	0,00	0,00ns.	100,00
TE dentro de <i>B. brongniartii</i>	3	7498,66	2499,55	59,25**	<0,01
TE dentro de testemunha	3	0,00	0,00	0,00ns.	100,00
TE dentro de GVDs	3	1110,58	370,19	8,77**	<0,01
TE dentro de testemunha	3	84,96	28,32	0,67ns.	57,21
TE dentro de <i>B. bassiana</i> + GVDs	3	1181,69	393,89	9,33**	<0,01
TE dentro de Testemunha	3	41,73	13,91	0,32ns.	80,37
TE dentro de <i>B. brongniartii</i> + GVDs	3	888,66	296,22	7,02**	0,03
TE dentro de testemunha	3	43,94	14,64	0,34ns.	79,12
Patógeno dentro de 22° C	9	38551,54	4283,50	101,54**	<0,01
Patógeno dentro de 26° C	9	42507,58	4723,06	111,96**	<0,01
Patógeno dentro de 30° C	9	35979,42	3997,71	94,77**	<0,01
Patógeno dentro de 34° C	9	20341,77	2260,19	53,58**	<0,01

CV = 20,60%

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\frac{1}{2}}$.

Na Tabela 4 encontram-se as médias das porcentagens de mortalidade provocadas pelos tratamentos.

Tabela 4 - Médias das porcentagens de mortalidade de larvas de *D. saccharalis* pelos tratamentos nas quatro temperaturas. Fotofase 16 h.

TRATAMENTOS	PORCENTAGENS DE MORTALIDADE
GVDs	76,54 a
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	72,78 a
<i>B. bassiana</i> + GVDs	72,51 a
<i>B. bassiana</i>	47,23 b
<i>B. brongniartii</i>	42,34 b
Testemunhas*	0,74 c

DMS = 8,66

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\frac{x}{n}}$.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

* Valor médio das cinco testemunhas.

Analisando-se a mortalidade provocada pelos patógenos em todas as temperaturas observa-se que nos tratamentos onde se inoculou GVDs, individualmente e/ou combinados, ocorreram maiores mortalidades diferindo dos tratamentos com

fungos e estes das testemunhas.

No caso das temperaturas, nas mais baixas (22, 26 e 30° C) os patógenos causaram maior mortalidade que na temperatura mais alta (34° C) (Tabela 5 e Figuras 2 e 3)

Tabela 5 - Médias das porcentagens de mortalidade geral de larvas de *D. saccharalis*, nas temperaturas de 22, 26, 30 e 34° C. Fotofase de 16 h.

TEMPERATURAS (°C)	PORCENTAGENS DE MORTALIDADE
26	36,83 a
22	35,42 a
30	34,10 a
34	19,69 b

DMS = 4,41

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 6 estão relacionadas as médias das porcentagens de mortalidade de *D. saccharalis* provocadas pelos fungos *B. bassiana* e *B. brongniartii* sob as temperaturas nas quais o experimento foi conduzido. A representação gráfica dos dados encontra-se nas Figuras 2 e 3.

Tabela 6 - Médias das porcentagens de mortalidade larval de *D. saccharalis* provocadas por *B. bassiana* e *B. brongniartii*, nas diferentes temperaturas e fotofase de 16 h.

TEMPERATURA (° C)	PORCENTAGENS DE MORTALIDADES	
	<i>B. bassiana</i>	<i>B. brongniartii</i>
22	60,07 a	63,54 a
26	65,58 a	56,99 ab
30	54,42 a	48,83 b
34	8,84 b	0,00 c

DMS = 13,96

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Ao se analisar a mortalidade provocada por *B. bassiana* nas quatro temperaturas observou-se que não houve diferença significativa entre 22, 26 e 30° C. Entretanto, *B. brongniartii* não apresentou entre as temperaturas de 22 e 26° C, e nem entre 26 e 30° C, sendo que os dois fungos não tiveram boa eficiência sob a temperatura de 34° C.

Com respeito aos tratamentos onde o vírus foi inoculado, temos que o GVDs e *B. bassiana* + GVDs não apresentaram diferenças entre as temperaturas de 22, 26 e 30° (Tabela 7

e Figuras 2 e 3); entretanto, o tratamento GVDs + *B. brongniartii* não diferiu nas temperaturas de 22 e 26° C, assim como nas de 26, 30 e 34° C (Tabela 7 e Figuras 2 e 3). Estes tratamentos foram os únicos patogênicos a 34° C.

Tabela 7 - Médias das porcentagens de mortalidade larval de *D. saccharalis* provocada por GVDs, *B. bassiana* + GVDs e *B. brongniartii* + GVDs nas quatro temperaturas. Fotofase 16 h.

TEMPERATURAS (° C)	PORCENTAGENS DE MORTALIDADE		
	GVDs	<i>B. bassiana</i> + GVDs	<i>B. brongniartii</i> + GVDs
22	78,09 a	79,26 a	73,29 ab
26	83,85 a	76,25 a	85,69 a
30	83,85 a	79,08 a	70,50 b
34	60,39 b	55,45 b	61,64 b

DMS = 13,96

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Ao se analisar a mortalidade em larvas à temperatura de 22° C, observou-se que os melhores tratamentos

foram *B. bassiana* + GVDs e GVDs; o menos eficiente foi *B. bassiana*. Os outros tratamentos formaram um grupo intermediário (Tabela 8 e Figuras 2 e 3).

Tabela 8 - Médias das porcentagens de mortalidade larval de *D. saccharalis* pelos patógenos, nas temperaturas de 22, 26, 30 e 34° C e fotofase de 16 h.

TRATAMENTOS	PORCENTAGENS DE MORTALIDADE			
	22° C	26° C	30° C	34° C
<i>B. bassiana</i> + GVDs	79,26 a	76,25 ab	79,08 a	55,45 a
GVDs	78,09 a	83,85 a	83,85 a	60,39 a
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	73,29 ab	85,69 a	70,50 ab	61,64 a
<i>B. brongniartii</i>	63,54 ab	56,99 c	48,83 c	0,00 b
<i>B. bassiana</i>	60,07 b	65,58 bc	54,42 bc	8,84 b
Testemunhas*	0,00 c	0,00 d	0,86 d	2,11 b

DMS = 17,33529

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

* Valor médio das cinco testemunhas

Na temperatura de 26° C, os tratamentos que provocaram maior mortalidade foram *B. brongniartii* + GVDs e

GVDs; o menos eficiente foi *B. brongniartii*. Os demais tratamentos formaram um grupo intermediário (Tabela 8 e Figuras 2 e 3).

Para a temperatura de 30° os tratamentos mais eficientes foram GVDs e *B. bassiana* + GVDs; o menos eficiente foi *B. brongniartii*, ficando os outros em um grupo intermediário (Tabela 8 e Figuras 2 e 3).

Na temperatura de 34° C os tratamentos onde o vírus estava presente foram os mais eficientes, não apresentando diferenças os tratamentos com fungos e as testemunhas (Tabela 8 e Figuras 2 e 3).

Nos tratamentos apenas com fungos, a porcentagem de adultos e larvas vivas que restam (de 12 a 22%) foi maior que nos tratamentos onde havia GVDs (de 1 a 10%).

Nos tratamentos onde o vírus não foi inoculado, ocorreram larvas mortas devido a GVDs, como nos tratamentos com *B. bassiana* (1,66%), *B. brongniartii* (1,75%) e nas testemunhas (6,88%). Estas larvas apresentaram os sintomas típicos dessa virose e ao microscópio de fase, confirmou-se a presença dos grânulos.

A mortalidade devida a septicemia bacteriana foi maior na temperatura de 34° C. Constatou-se também uma mortalidade de 1,72% na testemunha, devido a um protozoário da classe Microsporidia.

Foram desenvolvidas curvas de ajuste entre a porcentagem de mortalidade e as temperaturas, para cada pató-

geno estudado. Os dados foram melhor representados por uma equação de 2º grau (Tabela 9 e Figura 4). Calculou-se ainda, o valor máximo dessas equações determinando-se as temperaturas ótimas onde teoricamente devem ocorrer as mais altas porcentagens de mortalidade larval.

O fungo *B. brongniartii* provocou maior mortalidade a 23,65º C, seguindo-se *B. bassiana* a 25,34º C.

As temperaturas ótimas correspondentes à *B. bassiana* e *B. bassiana* + GVDs (25,34 e 25,37º C, respectivamente) são quase semelhantes, mas o tratamento combinado provocou aproximadamente 10% a mais de mortalidade larval (Tabela 1 e Figura 4).

No caso de GVDs, a temperatura ótima que causou a maior mortalidade foi de 26,22º C, intermediária aos valores de 25,37º C e de *B. bassiana* + GVDs e 26,36º C de *B. brongniartii* + GVDs. Os valores dos tratamentos combinados são próximos entre si, apresentando uma diferença menor que 1º C.

Tabela 9 - Equações de ajuste da mortalidade larval de *D. saccharalis* ($\hat{y}$) pelos patógenos em relação às temperaturas (X), com sua temperatura ótima e coeficiente de determinação (R^2)

PATÓGENO	EQUAÇÃO	TEMPERATURA ÓTIMA (°C)	R^2 (%)	F
<i>B. bassiana</i>	$\hat{y} = -608,58826+54,802372X-1,08125X^2$	25,34	99,18	60,46
<i>B. brongniartii</i>	$\hat{y} = -327,99967+34,49392X-0,72906X^2$	23,65	97,92	23,48
GVDs	$\hat{y} = -175,06079+20,93944X-0,39922X^2$	26,22	94,78	9,07
<i>B. bassiana</i> + GVDs	$\hat{y} = -141,62450+18,82645X-0,37109X^2$	25,37	87,56	3,51
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	$\hat{y} = -158,28769+19,28045X-0,36578X^2$	26,36	94,42	8,45

FIGURA 4 - Porcentagem de mortalidade larval de *D. saccharalis* em função das temperaturas para cada patógeno, com os valores ótimos de temperatura.

4.1.2. TEMPO LETAL (LT_{50}) PARA MATAR 50% DOS INSETOS PELOS PATÓGENOS, NAS DIFERENTES TEMPERATURAS

Os LT_{50} referentes aos diferentes patógenos atuando nas diversas temperaturas encontram-se na Tabela 10. A representação gráfica dos dados consta nas Figuras 5, 6, 7 e 8.

Os fungos apresentaram os menores valores de LT_{50} nas temperaturas de 22, 26 e 30° C. No tratamento com GVDs, a melhor temperatura foi de 30° C, mas na combinação dos patógenos foi de 26° C.

Os dados de LT_{50} para cada patógeno foram ajustados a equações de 2º grau (Tabela 11 e Figura 9). Calculou-se o valor mínimo de cada equação, obtendo-se a temperatura ótima onde se verificou o mais baixo valor de LT_{50} .

A temperatura ótima onde teoricamente se obtém a menor LT_{50} é de 23,78° C para *B. brongniartii* e 24,74° C para *B. bassiana*. No caso de GVDs, obteve-se um valor maior (28,55° C), enquanto que nos tratamentos combinados não houve diferenças, sendo 26,76° C para *B. bassiana* + GVDs e 26,95° C para *B. brongniartii* + GVDs.

TABELA 10 - Tempo letal médio (LT_{50}) das larvas de *V. saccharalis*, para distintos patógenos e temperaturas, com seu intervalo de confiança (IC), coeficiente linear (a) coeficiente angular (b) e χ^2 calculado e de tabela. Fotofase 16 h.

PATÓGENOS	TOC	LT_{50} (dias)	IC*	a	b	χ^2 calculado	χ^2 tabela
<i>B. bassiana</i>	22	8,84	7,61 a 10,26	2,61742	2,51783	22,97	22,36
	26	7,78	7,05 a 8,59	2,55647	2,74204	12,44	23,68
	30	12,41	11,09 a 13,89	2,86174	1,95498	19,68	30,14
	34	-	-	-	-	-	-
<i>B. brongniartii</i>	22	7,75	6,71 a 8,95	2,94541	2,31094	14,74	22,36
	26	8,00	6,93 a 9,25	2,58276	2,67585	15,11	18,31
	30	13,06	11,90 a 14,34	1,94304	2,73923	8,36	22,36
	34	-	-	-	-	-	-
GVDS	22	27,87	27,48 a 28,28	-6,88373	8,22256	3,79	32,67
	26	24,30	23,92 a 24,69	-8,07134	9,43343	12,67	37,65
	30	22,62	22,20 a 23,06	-9,09337	10,40450	13,38	31,41
	34	26,63	25,89 a 27,38	-3,78839	6,16585	11,42	40,11
<i>B. bassiana</i> + GVDS	22	21,70	20,53 a 22,93	0,14682	3,63146	36,21	43,77
	26	18,05	17,15 a 18,99	0,99157	3,19020	24,21	43,77
	30	19,89	18,65 a 21,21	0,11723	3,75949	42,81	42,56
	34	26,32	25,57 a 27,10	-1,40683	4,51072	7,71	40,11
<i>B. brongniartii</i> + GVDS	22	22,08	20,08 a 24,27	2,07091	2,17944	38,13	43,77
	26	15,09	14,23 a 16,00	1,23466	3,19458	17,69	43,77
	30	19,48	18,80 a 20,19	0,60497	3,40796	15,19	43,77
	34	26,92	26,19 a 27,68	4,88712	6,91336	31,26	40,11

* Ao nível de 5% de probabilidade

FIGURA 5 - Tempos Letais medianos em dias para larvas de *D. saccharalis* em bioensaios com os diferentes patógenos a 22° C (escala log./próbitos).

FIGURA 6 - Tempos Letais medianos em dias para larvas de *D. saccharalis* em bioensaios com os diferentes patógenos a 26° C (escala log./próbitos).

FIGURA 7 - Tempos Letais medianos em dias para larvas de *D. saccharalis* em bioensaios com os diferentes patógenos a 30°C (escala log./próbitos).

FIGURA 8 - Tempos Letais medianos em dias para larvas de *D. saccharalis* em bioensaios com os diferentes patógenos a 34° C (escala log./próbitos).

TABELA 11 - Equações de ajuste de LT_{50} (dias) de larvas de *V. saccharalis* ($\hat{y}$), causadas pelos patógenos, em relação às temperaturas (X), com sua temperatura ótima e o coeficiente de determinação (R^2) e valor de F.

PATÓGENO	EQUAÇÃO	TEMPERATURA ÓTIMA(° C)	R^2 (%)	F
<i>B. bassiana</i>	$\hat{y}=116,168298-8,78396X+0,17751X^2$	24,74	100	-
<i>B. brongniartii</i>	$\hat{y}=92,07691-7,13154X+0,14992X^2$	23,78	100	-
GVDs	$\hat{y}=118,42727-6,68734X+0,11710X^2$	28,55	95,35	10,25
<i>B. bassiana</i> + GVDs	$\hat{y}=131,45830-8,47359X+0,15830X^2$	26,76	99,93	682,01
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	$\hat{y}=179,91419-12,15406X+0,22549X^2$	26,95	95,27	10,07

FIGURA 9 - Tempo Letal, em dias, necessário para matar 50% das larvas de *D. saccharalis* pelos patógenos ensaiados nas 4 temperaturas.

4.1.3. SINTOMATOLOGIA DAS LARVAS MORTAS PELOS PATÓGENOS

A sintomatologia das larvas mortas pelos fungos *B. bassiana* e *B. brongniartii* foi semelhante. Primeiramente as larvas diminuíram sua alimentação e depois, apresentaram-se endurecidas. Em seguida, ficaram de cor rosa e após totalmente brancas, devido à saída das estruturas fúngicas de seu interior.

Entretanto, a sintomatologia da virose iniciou após 5 a 7 dias da inoculação quando as larvas comeram menor quantidade de alimentos e a partir do 8º dia foram deixando de se alimentar. Após 12 a 14 dias, as larvas não consumiram mais alimento.

Seus movimentos foram lentos e algumas interromperam o crescimento sendo que outras continuaram mudando de tegumento. Algumas larvas ficavam protegidas na porção do colmo do milho, entretanto outras ficavam fora dela.

A face ventral da larva tornou-se branca desde a parte posterior até a anterior, mas em outros casos, apresentou coloração amarela-leitosa. A face dorsal ficou geralmente esbranquiçada; observou-se também uma coloração mais escura em outras larvas, sendo que algumas não diferiram das sadias.

Ao morrer, apresentaram várias sintomatologias. As larvas tornaram-se ou totalmente brancas ou escuras. Também,

notou-se casos em que a face ventral ficou branca, e a dorsal mais escura ou mais clara que a das sadias. O tegumento tinha consistência elástica e seu corpo apresentou aspecto flácido. Algumas larvas ficaram com o corpo achatado dorso-ventralmente, com a face ventral branca ou esbranquiçada e a dorsal de cor bege ou amarelada, com manchas mais intensas.

Aproximadamente 10% das larvas alcançaram o estado de pupa, as quais morreram ficando deformadas, com uma constrição na face ventral da união tórax-abdomen, e outras apresentaram coloração normal ou mais escuras, aparentemente sem deformações na parte externa mas geralmente ficavam secas internamente. Ao microscópio, no tegumento pupal observou-se a presença de grânulos do vírus, em grande quantidade. No interior das pupas que não ficaram secas, também se constatou a presença dos grânulos.

4.1.4. MEDIÇÃO DOS CONÍDIOS DE *Beauveria bassiana* E

B. brongniartii

Os conídios de *B. bassiana* apresentaram forma arredondada, com um diâmetro médio de $2,1 \mu$ e os de *B. brongniartii* foram ovais, de $3 \times 2 \mu$ (Tabela 12).

TABELA 12 - Tamanho dos conídios de *B. bassiana* e *B. brongniartii* obtidos de meio BDA mais antibiótico. Temperatura de 26° C e fotofase de 16 h.

FUNGO	DIMENSÃO	MÉDIA(μ)	INTERVALO DE* CONFIANÇA(μ)	VARIÂNCIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (%)
<i>B. bassiana</i>	diâmetro	2,13095	2,07561 a 2,18630	0,06698	0,25881	12,14
<i>B. brongniartii</i>	comprimento	3,00000	2,93317 a 3,06684	0,10000	0,31623	10,54
	largura	2,0407	2,01163 a 2,06976	0,01891	0,13752	6,73

* Ao nível de 5% de probabilidade

4.1.5. DIÂMETRO MÉDIO DAS COLÔNIAS DE *Beauveria*
bassiana E *B. brongniartii* EM MEIO BDA
 MAIS ANTIBIÓTICO

Este parâmetro não apresentou diferenças entre os fungos e sim entre as temperaturas (Tabela 13), encontrando-se o maior diâmetro a 22° C e o menor a 34° C. (Tabela 14).

TABELA 13 - Análise de variância entre diâmetro da colônia de *B. bassiana* e *B. brongniartii*, temperatura e sua interação, em meio BDA mais antibiótico. Fotofase de 16 h.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Fungos(FU)	1	0,0188018	0,0188018	0,35ns	55,43
Temperaturas (TE)	3	52,3789063	17,4596354	330,14**	<0,01
Interação FU x TE	3	0,0714063	0,0238021	0,45ns	71,86
Resíduo	40	2,1154164	0,0528854		
Total	47	54,5845309			

CV = 12,98%

TABELA 14 - Valores médios do diâmetro da colônia dos fungos nas quatro temperaturas e médias correspondentes a *B. bassiana* e *B. brongniartii*. Meio BDA mais antibiótico e fotofase de 16 h.

TEMPERATURA (° C)	DIÂMETRO MÉDIO (cm)
22	2,84 a
26	2,56 b
30	1,49 c
34	0,18 d

Média correspondente a *B. bassiana*: 1,79 e a *B. brongniartii*: 1,75

DMS = 0,25

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores do diâmetro em relação com as temperaturas se ajustaram a uma equação linear, sendo que com o aumento da temperatura, o diâmetro diminui. Para *B. bassiana* a equação foi $\hat{y} = 8,2440 - 0,2305 X$ ($R^2 = 93,95\%$, $F = 31,05$) e para *B. brongniartii*: $\hat{y} = 7,97049 - 0,22224 X$ ($R^2 = 92,88\%$, $F = 26,08$).

4.1.6. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS POR COLÔNIA DE *Beauveria bassiana* E *B. brongniartii* EM MEIO BDA MAIS ANTIBIÓTICO

A produção de conídios por colônia não apresentou diferenças entre os fungos mas sim entre temperaturas (Tabela 15). Nas temperaturas de 22 e 26° C a produção de conídios foi maior que nas outras. (Tabela 16).

TABELA 15 - Análise de variância entre produção de conídios por colônia de *B. bassiana* e *B. brongniartii*, temperatura e sua interação, em meio BDA mais antibiótico. Fotofase de 16 h.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Fungo (FU)	1	0,20293	0,20293	4,03ns	5,12
Temperaturas(TE)	3	2,9294612	0,976487	19,43**	< 0,01
Interação FUxTE	3	0,168506	0,0561686	1,11ns	35,31
Resíduo	40	2,0092491	0,050231		
Total	47	5,3101464			

CV = 63,51%

TABELA 16 - Média do número de conídios por colônia de fungos nas quatro temperaturas e médias correspondentes a *B. bassiana* e *B. brongniartii*. Meio BDA mais antibiótico e fotofase de 16 h.

TEMPERATURA (° C)	CONÍDIOS/COLÔNIA ($n \times 10^8$)
22	0,57
26	0,60
30	0,20
34	0,02

Média correspondente a *B. bassiana*: 0,04 e a *B. brongniartii*: 0,28

DMS = 0,24

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O ajuste dos valores de produção de conídios por colônia com as temperaturas foi, para *B. bassiana*, uma equação de segundo grau. Sendo que a partir de 24,21°C, com o aumento da temperatura a produção de conídios diminui. Entretanto, para *B. brongniartii*, uma equação linear se ajustou aos dados, sendo a relação inversa. Para *B. bassiana* a equação foi:

$$\hat{y} = -3,36131 + 0,33139 X - 0,00684 X^2 \quad (R^2 = 90,52\%, F = 4,78)$$

e para *B. brongniartii* $\hat{y} = 1,727 - 0,0515 X$ ($R^2 = 92,62\%$, $F = 25,08$).

4.1.7. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS POR CM DE COLÔNIA DE *Beauveria bassiana* E *B. brongniartii* EM MEIO BDA MAIS ANTIBIÓTICO

Esta avaliação mostrou diferenças somente entre os fungos, sendo que a espécie *B. bassiana* produziu maior quantidade de conídios por cm de colônia que *B. brongniartii* ($0,22 \times 10^8$ e $0,1 \times 10^8$, respectivamente).

Os valores de produção de conídios por cm de colônia se ajustaram, para *B. bassiana* a uma equação de segundo grau, determinando que a partir de $26,88^\circ \text{C}$, com o aumento da temperatura, os conídios por cm de colônia diminuíram. Entretanto, para *B. brongniartii*, o ajuste foi linear com uma relação inversa. As equações foram $\hat{y} = -1,27988 + 0,11515 X - 0,0021 X^2$ ($R^2 = 78,75\%$, $F = 1,85$) para a primeira espécie e $\hat{y} = 0,5228 - 0,0141 X$ ($R^2 = 85,07\%$, $F = 11,39$) para a segunda espécie.

4.1.8. ATIVIDADE ENZÍMICA DE *Beauveria bassiana* E *B. brongniartii* EM MEIOS ESPECÍFICOS

Em relação à área enzimica houve diferenças entre fungos e temperaturas (Tabelas 17 e 18). Assim, para amilase, a maior produção ocorreu a 30°C e a menor a 34°C (Tabela 19), sendo a espécie *B. bassiana* a que apresentou significativamente maior produção enzimica que *B. brongniartii* (69,87 e

60,00 mm², respectivamente).

Entretanto, para protease, a maior produção se deu a 26 e 30^o C (Tabela 19); sendo que neste caso *B. brongniartii* produziu significativamente mais enzima que *B. bassiana* (34,06 e 26,31 mm², respectivamente).

TABELA 17 - Análise de variância entre área enzimica, correspondente a amilase, em *B. bassiana* e *B. brongniartii*, temperatura e sua interação, em meio específico. Fotofase de 16 h.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Fungo (FU)	1	1169,20032	1169,20032	7,00*	1,15
Temperaturas (E)	3	24855,03220	8285,01073	49,64**	< 0,01
Interação FU*TE	3	518,02288	172,67429	1,03ns	38,75
Resíduo	40	6675,07532	166,87688		
Total	47	33217,3307			

CV = 19,89%

TABELA 18 - Análise de variância entre área enzimica correspondente a protease em *B. bassiana* e *B. brongniartii*, temperatura e sua interação, em meio específico. Fotofase de 16 h.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Fungos (FU)	1	720,62612	720,62612	5,80*	2,06
Temperaturas (TE)	3	7390,7807	2463,59357	19,85**	0,01
Interação FUxTE	3	649,91622	216,63874	1,74ns	17,31
Resíduo	40	4964,13644	124,10341		
Total	47	13725,4595			

CV = 36,90%

TABELA 19 - Médias dos valores das áreas enzimicas, correspondente a amilase e protease, produzida pelos fungos nas quatro temperaturas, em meio específico. Fotofase de 16 h.

TEMPERATURA (° C)	ÁREA ENZÍMICA (mm ²)	
	Amilase	Protease
22	54,28 c	20,51 b
26	77,14 b	42,65 a
30	94,22 a	42,27 a
34	14,13 d	15,32 b

DMS = 14,13

DMS = 12,18

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A relação entre os valores das áreas enzimicas com as temperaturas foi ajustada por uma equação de segundo grau, mostrando que com o aumento da temperatura, aumenta a produção enzimica até um valor máximo de temperatura, que corresponde ao ótimo, após este, a área enzimica diminui (Tabela 20).

Em relação com o índice enzimico, houve diferenças entre fungos e temperaturas (Tabelas 21, 22 e 23). Com o aumento da temperatura, os índices diminuiu, sendo maiores estas diferentes entre 30 e 34° C.

A espécie *B. bassiana* apresentou significativamente menor índice enzimico de amilase que *B. brongniartii* (0,4615 e 0,49954, respectivamente). No caso de protease, não houve diferenças entre eles (0,61 e 0,61; respectivamente).

A relação entre os valores dos índices enzimicos com as temperaturas foi ajustada apenas por uma equação de segundo grau entre *B. bassiana* e amilase, mostrando que com o aumento da temperatura, aumenta o índice até um valor máximo de temperatura, que corresponde ao ótimo, após este, o índice diminui (Tabela 24). Nos outros casos uma regressão linear foi ajustada satisfatoriamente.

TABELA 20 - Equações de ajuste de área enzimática, correspondente a amilase e protease ($\hat{y}$), produzida por *B. bassiana* e *B. brongniartii* em relação às temperaturas (x), com sua temperatura ótima, coeficiente de determinação (R^2) e valor de F.

ENZIMA	FUNGO	EQUAÇÃO	TEMPERATURA ÓTIMA (°C)	R^2 (%)	F
Amilase	<i>B. bassiana</i>	$\hat{y} = -831,53096 + 67,96037X - 1,24563X^2$	27,28	86,99	3,34
	<i>B. brongniartii</i>	$\hat{y} = -959,05789 + 75,0948X - 1,34775X^2$	27,85	88,87	3,99
Protease	<i>B. bassiana</i>	$\hat{y} = -562,06456 + 43,6536X - 0,78856X^2$	27,67	94,11	7,98
	<i>B. brongniartii</i>	$\hat{y} = -531,98213 + 41,77005X - 0,75064X^2$	27,82	89,77	4,38

TABELA 21 - Análise de variância entre índice enzimico, correspondente a amilase, em *B. bassiana* e *B. brongniartii*, temperatura e sua interação, em meio específico. Fotofase 16 h.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Fungos (FU)	1	0,017366	0,017366	8,01**	0,72
Temperatura (TE)	3	3,3304908	1,1101636	512,47**	<0,01
Interação FUXTE	3	0,0205535	0,0068511	3,16*	3,48
Resíduo	40	0,0866515	0,0021662		
Total	47	3,4550619			

CV = 9,69%

TABELA 22 - Análise de variância entre índice enzimico, correspondente a protease, em *B. bassiana* e *B. brongniartii*, temperatura e sua interação em meio específico. Fotofase de 16 h.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Fungos (FU)	1	0,0002999	0,0002999	0,02 ns	86,61
Temperatura (TE)	3	3,2684581	1,089486	104,53**	<0,01
Interação FUXTE	3	0,0048821	0,0016273	0,15 ns	92,51
Resíduo	40	0,4168863	0,0104221		
Total	47	3,6905266			

CV = 16,59%

TABELA 23 - Médias dos valores dos índices enzimáticos, correspondentes a amilase e protease, produzida pelos fungos nas quatro temperaturas, em meio específico. Fotofase de 16 h.

TEMPERATURA (°C)	ÍNDICE ENZÍMICO	
	Amilase	Protease
22	0,72 a	0,90 a
26	0,68 a	0,81 a
30	0,45 b	0,49 b
34	0,06 c	0,24 c
DMS=0,05		DMS=0,11

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 24 - Equações de ajuste de índice enzimico, correspondente a amilase e protease ($\hat{y}$), produzido por *B. bassiana* e *B. brongniartii* em relação às temperaturas (x), com sua temperatura ótima, coeficiente de determinação (R^2) e valor de F.

ENZIMA	FUNGO	EQUAÇÃO	TEMPERATURA ÓTIMA (°C)	R^2 (%)	F
Amilase	<i>B. bassiana</i>	$\hat{y} = -2,78846 + 0,29295X - 0,00616X^2$	23,79	99,88	438,69
	<i>B. brongniartii</i>	$\hat{y} = 2,17205 - 0,05972X$	-	92,28	23,91
Protease	<i>B. bassiana</i>	$\hat{y} = 2,24525 - 0,05812X$	-	96,42	53,98
	<i>B. brongniartii</i>	$\hat{y} = 2,1810 - 0,0560X$	-	94,96	37,71

4.1.9. PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DOS CONÍDIOS DE
B. bassiana E *B. brongniartii*, EM MEIO BDA
 MAIS ANTIBIÓTICO, NAS DIFERENTES TEMPERATURAS

Na tabela 25, constam as porcentagens de germinação dos conídios dos fungos estudados. No período de 24 horas, quase todos os conídios germinaram (96 a 99%).

TABELA 25 - Porcentagens de germinação dos conídios de *B. bassiana* e *B. brongniartii*, em meio BDA mais antibiótico, nas quatro temperaturas testadas. Fotofase de 16 h.

FUNGO	TEMPERATURA(°C)	PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO APÓS		
		18h	22h	24h
<i>B. bassiana</i>	22	97	99	99
	26	97	99	99
	30	97	99	99
	34	56	84	97
<i>B. brongniartii</i>	22	97	99	99
	26	96	99	99
	30	99	99	99
	34	52	86	96

4.1.10. POTENCIAL DE INÓCULO DE *Beauveria bassiana* E *B. brongniartii*

Quando as larvas de *D. saccharalis* foram inoculadas com uma suspensão fúngica contendo 1×10^8 conídios/ml, o que realmente ficou no tegumento do inseto foi $1,76 \times 10^5$ conídios/larva, para *B. bassiana*, e $0,86 \times 10^5$ conídios/larva, para *B. brongniartii*. Isto significa que somente permaneceu no tegumento larval 0,176 e 0,086% da concentração inoculada, respectivamente.

Também, apesar de se ter empregado, suspensões com concentrações semelhantes para os dois fungos (10^8), as larvas receberam menos 90.000 conídios quando tratadas com *B. brongniartii*.

4.1.11. DETERMINAÇÃO DE ABSORBÂNCIA E TRANSMITÂNCIA DE *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii*.

Os dados de absorvância ($\hat{y}$) das distintas concentrações (X) foram significativamente diferentes para ambos fungos ($F = 5,49^*$), sendo representados por uma regressão linear simples (Figura 10). Para *B. bassiana* a equação foi: $\hat{y} = 0,02317 + 0,01325 X$ ($R^2 = 98,97\%$) e para *B. brongniartii* a equação achada foi: $\hat{y} = 0,18537 + 0,00805 X$ ($R^2 = 92,44\%$).

Figura 10 - Relação entre a concentração de conídios de *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii* com a absorbância, no comprimento de onda de 400 mμ.

4.2. ENSAIO NO CAMPO

4.2.1. AVALIAÇÃO DO DANO

4.2.1.1. Número de orifícios por colmos provocados pelas larvas de *D. saccharalis* nos diferentes tratamentos

Todos os tratamentos com patógenos diferiram das testemunhas mas não apresentaram diferenças entre os mesmos. (Tabelas 26 e 27).

TABELA 26 - Análise da variância do número de orifícios provocados pelas larvas de *D. saccharalis* inoculadas com patógenos, em condições do campo.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Tratamentos	7	101,477	14,4967	12,62**	<0,01
Resíduo	24	27,5678	1,14866		
Total	31	129,044			

CV = 17,57%

TABELA 27 - Média do número de orifícios por colmo provocados pelas larvas de *D. saccharalis* nos diferentes tratamentos, em condições de campo.

TRATAMENTOS	NÚMERO DE ORIFÍCIOS	
Testemunhas*	8,37	a
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	5,12	b
<i>B. bassiana</i>	5 00	b
<i>B. bassiana</i> + GVDs	4,68	b
<i>B. brongniartii</i>	4,62	b
GVDs	4,25	b

DMS = 2,50

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

* Valor médio das três testemunhas

4.2.1.2. Porcentagem de dano provocado pelas larvas de *D. saccharalis* nos diferentes tratamentos

Os maiores danos foram provocados pelas larvas não tratadas. Nos outros tratamentos o menor dano foi obtido com o GVDs. (Tabelas 28 e 29).

TABELA 28 - Análise variância da porcentagem de dano provocada pelas larvas de *D. saccharalis* inoculadas com patógenos, em condições de campo.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Tratamentos	7	180,235	25,7479	9,59**	<0,01
Resíduos	24	64,4102	2,68376		
Total	31	244,6460			

CV = 10,91%

Dados transformados em arco seno $\sqrt{\%}$

TABELA 29 - Valores médios da porcentagem de dano de larvas de *D. saccharalis* nos diferentes tratamentos, em condições de campo.

TRATAMENTOS	DANO	
	arco seno $\sqrt{\%}$	Real
Testemunhas*	17,6183 a	9,19
<i>B. bassiana</i>	15,5225 ab	7,24
<i>B. brongniartii</i>	14,7905 abc	6,59
<i>B. bassiana</i> + GVDs	12,8154 bc	5,01
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	12,6630 bc	4,85
GVDs	11,4710 c	4,02

DMS = 3,83343

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

* Valor médio das três testemunhas

4.2.1.3. Escala de dano

Os tratamentos com GVDs e *B. bassiana* + GVDs apresentaram as menores notas, portanto provocaram os menores danos. (Tabelas 30 e 31).

TABELA 30 - Análise de variância da escala de dano provocada por larvas de *D. saccharalis* inoculadas com patógenos, em condições de campo.

Causas da variação	GL	SQ	QM	F	NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA(%)
Tratamentos	7	15,5001	2,21429	3,32*	1,29
Resíduo	24	15,9999	0,666664		
Total	31	31,5000			

CV = 26,13%

TABELA 31 - Valores médios da escala de dano de larvas de *D. saccharalis* nos diferentes tratamentos, em condições do campo.

TRATAMENTOS	ESCALA DE DANOS
Testemunha (vírus)	4,50 a
Testemunha (fungo + vírus)	3,75 ab
Testemunha (fungo)	3,50 ab
<i>B. bassiana</i>	3,00 ab
<i>B. brongniartii</i>	2,75 ab
<i>B. brongniartii</i> + GVDs	2,75 ab
GVDs	2,50 b
<i>B. bassiana</i> + GVDs	2,25 b

DMS = 1,9106

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.1.4. Intensidade de infestação

Nenhum dos tratamentos apresentou diferenças significativas neste parâmetro.

4.2.2. POTENCIAL DE INÓCULO DE *Beauveria bassiana* E *B. brongniartii*.

Nas larvas inoculadas com uma concentração de 1×10^8 conídios/ml, o que permaneceu nelas foi de 7×10^5 conídios/larva para *B. bassiana* e 5×10^5 conídios/larva para *B. brongniartii*, o que representa 0,7 e 0,5% do total inoculado, respectivamente.

Apesar de se ter empregado suspensões de concentrações semelhantes para os dois fungos, as larvas receberam menos 200.000 conídios quando tratados com *B. brongniartii*.

4.3. SIMULAÇÃO DO EFEITO DA APLICAÇÃO DE PATÓGENOS NA DINÂMICA POPULACIONAL DE *Diatraea saccharalis*.

Na tabela 32 consta os distintos parâmetros utilizados no modelo de simulação, seu valor e a correspondente referência bibliográfica.

TABELA 32 - Parâmetros utilizados no modelo de simulação, seu valor e a correspondente referência bibliográfica.

PARÂMETRO	DESCRIÇÃO	VALOR	REFERÊNCIA
A	Fotoperíodo médio anual de Piracicaba (SP)	11,98h	Depto. de Física (ESALQ-USP)
B	Amplitude anual do fotoperíodo	1,379	Depto. de Física (ESALQ-USP)
BB	Temperatura para saída da diapausa	18 ^o C	SGRILLO (1984 a)
BØ	coeficientes para cálculo de sobrevivência de vida a <i>B. bassiana</i> .	-608,588259	Tabela 9
B1		54,8023724	
B2		-1,08124771	
BG(Ø)	coeficientes para cálculo de sobrevivência de vida a <i>B.bassiana</i> +GVDs	-141,624506	Tabela 9
BG(1)		18,8264546	
BG(2)		-0,371092935	
CT(1,2,3 e 4)	constante para cálculo proporção de diapausa	-82,89; 6,822; -4,3406 e 0,2301	SGRILLO e CUNHA (1983)
CV	coeficiente de variação por todos os estágios.	0,10	SGRILLO e CUNHA (1982)

(continuação tabela 32)

PARÂMETRO	DESCRIÇÃO	VALOR	REFERÊNCIA
FC	Fecundidade	290 ovos/fêmea	MELO (1984)
FF	Fêmeas férteis	0,77	MELO (1984)
G0	coeficientes para cálculo da sobrevivência de	-175,060791	Tabela 9
G1	vida ao vírus da granulose (GVDs)	20,9394389	
G2		-0,399217655	
K(1)	Constante térmica para ovos	78 GD	SGRILLO (1984 a)
K(2)	Constante térmica para larvas pequenas.	356 GD	SGRILLO (1984 a)
K(3)	Constante térmica para larvas grandes	356 GD	SGRILLO (1984 a)
K(4)	Constante térmica para larvas em diapausa	60 GD	SGRILLO (1984 a)
K(5)	Constante térmica para pupas	104 GD	SGRILLO (1984 a)
K(6)	Constante térmica para adultos em pré-oviposição.	48 GD	SGRILLO (1984 a)
K(7)	Constante térmica para fêmeas em oviposição	48 GD	(se considerou 4 dias de postura)
MN(1,2,3, 5 e 6)	Mortalidade natural de ovos, larvas pequenas e grandes, pupas e adultos em pré-oviposição.	0,80; 0,40; 0,20; 0,10 e 0,10	Drs. S.B. ALVES; R.B. SGRILLO; S. SILVEIRA NETO e P.S.M. BOTELHO (comunicação pessoal)
N	Número de classes para cada compartimento	10	em função do CV

(continuação tabela 32)

PARÂMETRO	DESCRIÇÃO	VALOR	REFERÊNCIA
PO	Período de oviposição	4 dias	MELO (1984)
RØ	Coeficientes para cál	-327,999668	Tabela 9
R1	culo de sobrevivência	34,4939207	
R2	devida a <i>B. brongniartii</i> .	-0,729061074	
RG(Ø)	Coeficientes para cál	-158,287694	Tabela 9
RG(1)	culo de sobrevivência	19,2804501	
RG(2)	devida a <i>B. brongniartii</i> + GVDs	-0,365780354	
RS	Razão sexual	0,5	MELO (1984)
Tb	Temperatura base para todos os estágios	10 ⁰ C	SGRILLO e CUNHA (1982)
TE	Temperatura média mensal de Piracicaba (SP) desde 1917 a 1970.	-	PÁDUA (1983)
VI(1)	Viabilidade de ovos	0,86	MELO (1984)
VI(2)	Viabilidade de larvas pequenas	0,96	MELO (1984)
VI(3)	Viabilidade de larvas grandes	0,99	MELO (1984)
VI(5)	Viabilidade de pupas	0,81	MELO (1984)
Z(4)	Sobrevivência de larvas em diapausa	0,80	Se considerou o mesmo valor que para larvas grandes.

Na tabela 33 consta a redução populacional das larvas grandes/ha de *D. saccharalis*, em relação à população

sem controle (testemunhas), quando se utiliza *B. bassiana* + GVDs nas distintas simulações realizadas.

Nas Figuras 11, 12, 13 e 14 se representaram as larvas grandes/ha para a testemunha e as simulações propostas. Em todos os casos, o dia 0 equivale ao 16 de outubro.

TABELA 33 - Redução populacional das larvas grandes/ha, de *D. saccharalis*, em relação à testemunha, quando aplicado *B. bassiana* + GVDs em diferentes períodos e duração da ação deste, sob duas condições de sobrevivência.

PERÍODO E DURAÇÃO DA APLICAÇÃO	REDUÇÃO POPULACIONAL (%)	
	SOBREVIVÊNCIA 0,5	SOBREVIVÊNCIA 0,75
Toda a 1ª geração	99,95	99,46
Toda a 2ª geração	99,34	99,04
Toda a 3ª geração	97,67	97,34
Primeira metade da 2ª geração (36 dias)	98,83	98,16
Segunda metade da 2ª geração (35 dias)	29,96	24,56
Primeiro terço da 2ª geração (24 dias)	98,82	98,15
Segundo terço da 2ª geração (24 dias)	82,02	76,36
Terceiro terço da 2ª geração (23 dias)	4,62	3,67
Primeiro terço (24 dias) na 2ª e 3ª geração (total 48 dias)	99,08	98,83
Primeiros 12 dias na 2ª e 3ª geração (total 24 dias)	65,35	59,41

Figura 11 - Simulação da dinâmica populacional de *D. saccharalis* e efeito da ação do patógeno. A: sobrevivência de 0,5.
B: sobrevivência de 0,75.

Figura 12 - Simulação da dinâmica populacional de *D. saccharalis* quando o patógeno atua na primeira ou segunda metade da 2ª geração. A: sobrevivência de 0,5. B: sobrevivência de 0,75.

Figura 13 - Simulação da dinâmica populacional de *D. saccharalis* quando o patógeno atua no primeiro, segundo ou terceiro terço da segunda geração. A: sobrevivência de 0,5. B: sobrevivência de 0,75.

Figura 14 - Simulação da dinâmica populacional de *D. saccharalis* para dois níveis de sobrevivência. A: ação do patógeno durante 24 dias na 2ª e 3ª gerações. B: ação do patógeno durante 12 dias na 2ª e 3ª gerações.

5. DISCUSSAO

5.1. ENSAIOS RELACIONADOS COM A MORTALIDADE DE *Diatraea saccharalis* PELOS PATÓGENOS EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO.

Para todos os patógenos analisados, com o aumento da temperatura houve incremento na mortalidade larval, até um ponto em que começou a diminuir, ajustando-se este comportamento a uma equação de segundo grau (Tabela 9 e Figura 4); mas o efeito da temperatura foi mais prejudicial à espécies de *Beauveria* que ao GVDs (Tabelas 1, 6, 7 e 8 e Figuras 2 e 3).

Para os dois fungos estudados, as temperaturas acima de 30° C provocaram a perda quase total da patogenicidade, sendo a espécie *B. brongniartii* a mais afetada pela temperatura elevada. Esta temperatura é o limite onde a maioria dos pesquisadores relatam que começa o retardamento da germinação, crescimento e infecção (WALSTAD *et alii*, 1970; ROBERT e YENDOL, 1971; vários autores citados por FERRON, 1978).

É difícil determinar, neste caso, a causa deste comportamento. No teste de germinação em meio de cultura, a 34° C (Tabela 25), os fungos germinaram normalmente, decorridas 24 horas, o que poderia sugerir que a temperatura estava afetando as fases de penetração e/ou colonização desses patógenos.

Realmente, não se conhece o que aconteceria com a germinação dos conídios sobre o tegumento do inseto, já que este tem determinados ácidos graxos livres que prejudicam tanto a germinação do conídio, quanto o crescimento do tubo germinativo (SMITH e GRULA, 1981 e 1982).

Isto significa que a avaliação da viabilidade dos fungos em meio de cultura é uma informação que pouco contribui ao estudo da patogenicidade fúngica.

Além disso, seria importante conhecer o tempo requerido, à temperatura de 34° C, para provocar estes efeitos negativos, pois, no campo, são poucas as horas com temperaturas tão elevadas e, neste ensaio, as temperaturas foram mantidas constantes durante toda a realização do mesmo.

No caso da temperatura ótima para estes fungos, em relação à mortalidade larval (Tabela 9 e Figura 4), seus valores são próximos aos achados na literatura. Assim, *B. bassiana* causou maior mortalidade a 25,34°C, dado semelhante aos observados por WALSTAD *et alii* (1970), ROBERT e YENDOL (1971), Kalvish (1974) e Ferron (1977) citados por FERRON (1978):

Entretanto, *B. brongniartii* comportou-se melhor sob a temperatura de 23,65° C, inferior à relatada por JAYARAMAIAH e VEERESH (1983) mas semelhante à de Kalvish (1974) e Ferron (1977) citado por FERRON (1978).

Esta diferença no comportamento dos fungos, em relação à temperatura, confirmaria que *B. brongniartii* está mais capacitada para tolerar temperaturas um pouco mais baixas

que *B. bassiana* e, portanto, provocar maior mortalidade nestas temperaturas; acima de 26° C, *B. bassiana* funcionou melhor.

Esses resultados concordam com a origem das espécies, já que *B. bassiana* é proveniente de uma região mais quente (Pernambuco) que *B. brongniartii* (São Paulo). Ficou também evidente a maior virulência desta última espécie na menor temperatura já que a mesma concorreu com um menor potencial de inóculo.

Isto também se evidenciou no valor do tempo letal médio (LT_{50}), onde os valores foram ajustados a uma equação de segundo grau (Tabela 11 e Figura 9). *B. brongniartii* apresentou valores menores de temperatura ótima (23,78° C) para matar 50% dos insetos quando comparada a *B. bassiana* (24,74° C), confirmando ser mais eficiente nas temperaturas inferiores.

Estes tratamentos com fungos reduziram o número de orifícios dos colmos de cana-de-açúcar, em aproximadamente 45% em relação às testemunhas, não apresentando diferenças em qualquer dos outros parâmetros utilizados para avaliar o dano. (Tabelas 27, 29 e 31). Isto não representaria uma vantagem prática, mas deve-se lembrar que estes parâmetros têm relação com as doses utilizadas, fato que será discutido mais adiante.

No caso do GVDs, inoculado individualmente ou combinado com os fungos, quando mantido a 34° C, apresentaram também uma redução na mortalidade larval. Entretanto, é importante ressaltar que foram os únicos tratamentos patogênicos a 34° C, com porcentagens de mortalidade entre 67,71 e 75,27%

(Tabelas 1, 7 e 8 e Figuras 2 e 3).

Isto coincide, sô em parte, com Tanada citado por HUGER (1963), onde relatou que as altas temperaturas são inibidoras da atividade dos vírus dos insetos. Mas considerando que ocasionou mais de 67% de mortalidade a 34° C, pode-se dizer que, nesta temperatura e à dose utilizada, sua infectividade foi pouco inibida, sendo que o limite térmico deve ocorrer em temperaturas superiores a esta. Esses dados são concordantes com os de TINSLEY (1979) o qual relatou, que as temperaturas e levadas do ar e do solo têm pouco efeito nos vírus entomopatogênicos.

A temperatura ótima desses tratamentos com GVDs (25,37 até 26,36° C) ficou dentro dos valores citados por LI-ANG (1984) de 21 a 28,1° C, sendo que a presença dos fungos na combinação com GVDs não modificou praticamente os valores daquela temperatura (Tabela 9 e Figura 4).

A mortalidade causada pelo GVDs sempre foi semelhante àquela provocada pelos tratamentos combinados. Entretanto, nestas combinações, as porcentagens de mortalidade correspondentes aos fungos foram bem menores que quando estes foram inoculados individualmente (Tabela 1 e Figura 2), tendo uma diminuição de suas eficiências da ordem de 31 até 68%, enquanto que o vírus, nos tratamentos combinados, sofreu uma redução na sua eficiência de 18 até 48%.

O vírus ganha a competição pelos tecidos, devido a sua maior velocidade de multiplicação, mas tem-se que le

var em conta que esta ação pode ter sido influenciada pela dose utilizada. De fato, a dose usada para os fungos (1×10^8 conídios/ml) não foi realmente a que ficou no inseto, mas sim, muito menor, ou seja, da ordem de $1,76 \times 10^5$ conídios de *B. bassiana* por larva e $0,86 \times 10^5$ conídios de *B. brongniartii* por larva.

Entretanto, a concentração do GVDs (1×10^6 grânulos/larva) foi totalmente incorporada ao inseto, o que deixou os fungos em desvantagem. Portanto, em trabalhos futuros, será necessário esclarecer esta ação do GVDs sobre os fungos *Beauveria* spp., em concentrações comparáveis.

Os tratamentos com GVDs individualmente, apresentaram certa desvantagem em relação aos LT_{50} , entretanto, as combinações têm a vantagem de provocar a morte de 50% dos insetos em menor tempo, podendo ser de até 9 dias a menos. (Tabela 10 e Figuras 5, 6, 7 e 8).

Entretanto, a $34^{\circ}C$, os LT_{50} foram semelhantes para todos os tratamentos com vírus; nas temperaturas menores, os fungos têm LT_{50} muito mais baixas que os tratamentos inoculados com GVDs (Tabela 10), mas nestes, a partir dos 5 a 7 dias, o alimento consumido foi menor, portanto, o dano causado poderia ser reduzido. Isto foi comprovado pelo ensaio no campo, onde os tratamentos com GVDs, individualmente e combinados, reduziram o número de orifícios dos colmos da cana-de-açúcar e a porcentagem de dano provocado nos colmos. (Tabelas 27 e 29).

Em geral, as larvas inoculadas com GVDs, individualmente e combinado com os fungos, a partir do 12º dia não se alimentaram mais e seus movimentos eram muito limitados. Porém, neste trabalho, só foram consideradas mortas as larvas que não apresentavam nenhum sinal vital, o que evidentemente prolongou o tempo considerado para os LT_{50} .

Os valores de LT_{50} a 26º C foram menores, com uma diferença de 10 dias, dos obtidos por PAVAN *et alii* (1983b) em condições semelhantes a este experimento.

A temperatura ótima para o GVDs, em relação aos LT_{50} , foi maior, que a da porcentagem de mortalidade, não tendo muita diferença nos tratamentos combinados (Tabela 11 e Figura 9). Nestes tratamentos, seus valores foram cerca de 20C menores que no GVDs individualmente além de ter menores LT_{50} . Isso os fungos contribuíram para uma maior mortalidade dos insetos.

A presença de GVDs nos tratamentos onde não foi inoculado, como nas testemunhas e nos de *B. bassiana* e *B. brongniartii* indica que estas larvas vieram, da criação do laboratório, infectadas com vírus, bem como as larvas da testemunha com protozoários.

Isto evidencia a necessidade de controle de qualidade nas criações, já que estes patógenos se transmitem a seus descendentes, sendo que a difusão desta doença pode levar a elevados danos nas criações, como já aconteceu em um laboratório da PLANALSUCAR de Alagoas, onde ocorreu uma epizootia de

vido a GVDs (ALVES, inf. pessoal).

5.2. SINTOMATOLOGIA DAS LARVAS DE *D. saccharalis* MORTAS PELOS PATÓGENOS.

A sintomatologia das larvas mortas pelos fungos *B. bassiana* e *B. brongniartii* foi semelhante à descrita na literatura. Não houve possibilidade de se fazer a diferenciação visual das espécies baseado na sintomatologia.

No caso do GVDs, a sintomatologia observada foi mais semelhante ao relato geral sobre granuloses dado por HUGER (1963), já que as larvas adquiriram variadas características, além da clássica cor branca, mencionada por PAVAN *et alii* (1983 a), sendo portanto necessário o uso do microscópio para se efetuar um diagnóstico correto.

Esta é provavelmente a primeira citação da presença do GVDs nas pupas desta praga, com sintomatologia também variável, apresentando deformações características na maioria delas.

5.3. DIFERENCIAÇÃO ENTRE ESPÉCIES DE *Beauveria*

Os conídios de *B. bassiana* apresentaram forma arredondada ($2,13\mu$) e os de *B. brongniartii* ovais e maiores

(3 x 2 μ) (Tabela 112). Resultados similares foram relatados por MACLEOD (1954) e SAMSON (1981).

Este foi o único caracter morfológico que permitiu separar as espécies de *Beauveria*, não se encontrando diferenças em outras estruturas fúngicas, como também no aspecto geral da colônia e coloração desta. MACLEOD (1954) relatou que as diferenças entre as duas espécies estão na forma e tamanho dos conídios, fato este que se comprovou nas observações realizadas.

O diâmetro médio e a produção de conídios por colônia, não puderam ser utilizados para diferenciar os fungos (Tabelas 13 e 15). As diferenças encontradas foram em relação às temperaturas. Para as duas espécies, a 34° C se obtiveram os menores valores de crescimento. As reduções foram entre 87,43 a 93,40% para o diâmetro médio da colônia e 88,30 a 96,04% para a produção de conídios.

O crescimento da colônia, representado pelo diâmetro, se relaciona linearmente com a temperatura, sendo fortemente diminuído com o aumento dela. Isto significa que o crescimento dos fungos foi mais influenciado por temperaturas altas que baixas (Tabela 14).

Entretanto, a produção de conídios por colônia apresentou ajuste quadrático com a temperatura para *B. bassiana* e linear e inversa para *B. brongniartii*. Esta diferença poderia ser devido a um melhor comportamento desta última espécie sob temperaturas baixas como já foi relatado anteriormente.

Possivelmente a temperatura ótima de produção de conídios seja próxima a 22° C, que foi a temperatura mais baixa estudada neste trabalho.

Para *B. bassiana*, que requeria temperaturas um pouco mais elevadas para produção de conídios, a temperatura ótima (24,21° C) ficou perfeitamente dentro do intervalo estudado, sendo que depois dessa, ela diminui linearmente.

A produção de conídios por cm de colônia permitiu diferenciar ambos os fungos, tendo *B. bassiana* uma colônia mais compacta ou mais densa, já que produziu 42,44% a mais de conídios por cm de colônia que o fungo *B. brongniartii*.

O ajuste destes valores com a temperatura comportou-se de maneira semelhante à já explicada para a produção de conídios por colônia.

Em relação à absorbância, os dois fungos apresentaram diferenças podendo esses resultados serem utilizados para a padronização das suspensões em trabalhos de campo, por ser um método rápido e de uma razoável precisão.

Por último, a avaliação da atividade enzimática, através da área enzimática, permitiu diferenciar ambos os fungos, já que *B. bassiana* produziu mais amilase e *B. brongniartii* mais protease. Entretanto, para índices enzimáticos os resultados só foram semelhantes aos anteriores para amilase. Com relação a protease não houve diferenças entre fungos.

As temperaturas tem influência sobre as enzimas (Tabelas 19, 20 e 23) encontrando-se que na faixa de 22 a 30°C

as áreas enzimáticas são maiores, com os ótimos entre 27 e 28°C.

O inconveniente do índice enzimático é que fungos com igual valor apresentam crescimento distintos, fato este que não aconteceria com a medição da área enzimática.

Dos fungos, *B. bassiana* foi o que mais produziu amilase sendo também a que causou maior mortalidade larval. Entretanto, *B. brongniartii* produziu mais protease e foi menos patogênica, mas este fato pode ser devido à menor quantidade de inóculo que ficou no tegumento das larvas.

Existiria uma tendência em estar a amilase relacionada à mortalidade larval por *B. bassiana*, mas como já foi citado por vários autores, a presença de uma só enzima não seria o suficiente para comprovar esta associação. Para que ocorra a morte de um inseto, um complexo de eventos deverão acontecer e a atividade enzimática seria parte desses eventos. Além disto, deve-se lembrar que o tegumento dos insetos varia muito, quando comparado ao meio de cultura, e existem diversos compostos no tegumento que ajudariam ou prejudicariam a germinação dos conídios, penetração e crescimento das hifas (FERRON, 1978; PEKRUL e GRULA, 1979; SMITH e GRULA, 1981, 1982 e 1983; CHEUNG e GRULA, 1982).

5.4. SIMULAÇÃO DO EFEITO DA APLICAÇÃO DE PATÓGENOS NA DINÂMICA POPULACIONAL DE *Diatraea saccharalis*.

O modelo de simulação utilizado representou muito bem a dinâmica populacional de *D. saccharalis*. Esta afirmação pode ser validada através dos dados obtidos por BOTELHO (1985) em tabelas de vida realizadas no campo, o qual achou os seguintes períodos para cada geração: 73, 75, 109 e 122 dias. Pelo presente modelo, os valores correspondentes para as 4 gerações, são: 75, 71, 96 e 123 dias, sendo a maior diferença observada na terceira geração (13 dias). De modo geral as diferenças observadas podem ser consideradas mínimas dentro do período anual simulado.

Quando se simula a aplicação do patógeno durante toda a geração, as diferenças entre elas são pequenas (Tabela 33), entretanto, através da Figura 11 pode-se constatar que o efeito do microrganismo é mais vantajoso quando aplicado na segunda geração, já que assim permitiria a existência de brocas durante a primeira geração para a ação dos inimigos naturais e, além disso, evitaria os danos provocados pela praga o qual não acontece com as aplicações na terceira geração.

Pode-se observar também, que não há praticamente diferenças entre os dois níveis de sobrevivência propostos (0,5 e 0,75), ou seja, entre um patógeno com mortalidade a campo de aproximadamente 40% e outro de 20% (Tabela 33 e Figuras 11, 12, 13 e 14).

Este resultado concorda com o obtido por BEALL *et alii* (1939), trabalhando no campo com *P. nubilalis* e *B. bassiana*, onde concluem que as doses não foram tão importantes como o momento da aplicação.

Ao analisar o resultado das simulações quando se subdividiu o período geracional à metade ou a um terço (Tabela 33 e Figuras 12 e 13), observou-se que as maiores reduções foram obtidas quando o patógeno atuou no início do período, sendo que, praticamente, não houve diferenças com a população sem controle quando as aplicações foram realizadas no final desses períodos.

Comparando-se uma mesma duração da ação do patógeno (24 dias) em dois momentos distintos: ao início da segunda geração ou em dois períodos de 12 dias cada um, no início da segunda e da terceira geração (Tabela 33 e Figuras 13 e 14) pode-se observar que as porcentagens de redução populacional são diferentes, ou seja, o melhor resultado foi obtido quando o patógeno atuou durante um período maior.

Isto também aconteceu quando se analisou um período de 36 dias ou dois de 24 dias (48 dias no total). A vantagem também ficou para a primeira situação (Tabela 33 e Figuras 12 e 13).

Estes resultados indicam que é muito importante não permitir que a praga alcance densidades populacionais elevadas. Se isso ocorreu, a população diminuiu inicialmente mas aumenta a taxa de crescimento, fazendo com que essa população, em pouco tempo se eleve novamente, sendo esse fenômeno conhecido como efeito Allee (ANDREWARTHA e BIRCH, 1954).

Este modelo de simulação não considera a reposição do patógeno no ambiente após uma aplicação, devido por exemplo, à disseminação por diversas formas como parasitóides, predadores e fatores climáticos. Este fenômeno provoca um aumento do patógeno na área, atuando sobre outras larvas da praga e incrementando portanto os efeitos da aplicação, sendo que em alguns casos, isto pode levar a evitar uma nova aplicação do microrganismo.

Devido a que se carece de informação sobre epizootiologia do GVDs, não foi possível incorporá-la ao modelo.

6. CONCLUSÕES

1 - As duas espécies de *Beauveria* apresentam comportamentos distintos em relação à temperatura, sendo que *B. brongniartii* é mais eficiente que *B. bassiana* nas temperaturas mais baixas.

2 - As espécies de *Beauveria* são mais virulentas e o GVDs (individual ou combinado) é mais eficiente; portanto, na escolha do melhor patógeno deve-se analisar em forma conjunta os LT_{50} e as porcentagens de mortalidade.

3 - Para o controle de *D. saccharalis* os melhores tratamentos são GVDs e *B. bassiana* + GVDs.

4 - Os dois fungos apresentam diferenças no tamanho e na forma dos conídios, podendo essas características ser utilizadas na determinação das espécies.

5 - *B. bassiana* têm colônias mais compactas que

B. brongniartii, apresentando maior produção de conídios por cm de colônia.

6 - Para determinar a atividade das exoenzimas, a medição da área enzimica permite obter diferenças entre fungos e entre exoenzimas, considerando-se este parâmetro melhor que o índice enzimico.

7 - As temperaturas afetam a mortalidade larval, LT_{50} , diâmetro médio da colônia, produção de conídios por colônia e produção de amilase e protease.

8 - A utilização do modelo desenvolvido possibilitou inferir o comportamento da dinâmica populacional de *D. saccharalis* com boa precisão, permitindo ainda uma avaliação da atuação do efeito dos patógenos em distintas situações.

9 - A porcentagem de mortalidade do patógeno não foi importante no seu efeito final avaliado através do modelo de simulação, sendo mais importante, a duração do período de atuação e o momento da aplicação do patógeno.

10 - Para um mesmo período de atuação, as reduções populacionais são maiores quando o patógeno atua apenas em um período da segunda geração ao invés de dois períodos, representados por um na segunda e outro na terceira geração.

11 - As maiores reduções populacionais são obtidas quando o patógeno atua nas etapas iniciais de uma geração.

7. LITERATURA CITADA

ABBOTT, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an inseticide. Journal of Economic Entomology, Menasha, 18:265 - 267.

ALESHINA, O.A., 1980. Composition and prospects for study of the entomopathogenic fungi of the USSR. Mikologiya i Fitopatologia, 12(6): 457-460, 1978. In: Review of Applied Entomology, London, 68(1): 83-84.

ALLEE, W.C.; A.E. EMERSON; O. PARK; T. PARK e K.P. SCHIDT, 1967. Principles of animal ecology. Saunders Company, Philadelphia. 837 p.

ALMEIDA, L.C.; N. DEGASPARI; O.H.O. PAVAN; P.S.M. BOTELHO e J.T. COLETTI, 1984. Vírus da granulose de broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.): Avaliação de um bioinseticida em potencial. In: III Congresso da STAB: 20-22.

ALVES, S.B.; L.E. de MOURA PÁDUA; E.M.V.M. de AZEVEDO e L.C. ALMEIDA, 1985. Controle da broca da cana-de-açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília 20(4): 403-406.

ANDERSON, T.E.; G.G. KENNEDY e R.E. STINNER, 1982 a. Temperature-dependent models of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) development in North Carolina. Environmental Entomology, College Park, 11: 1145-1150.

ANDERSON, T.E.; G.G. KENNEDY e R.E. STINNER, 1982 b. Temperature-dependent model for post diapause development and spring emergence of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera:Pyralidae), in North Carolina. Environmental Entomology, College Park, 11: 1307-1311.

ANDREWARTHA, H.G. e L.C. BIRCH, 1954. The distribution and abundance of animals. University of Chicago Press. Chicago, 782 p.

BARSON, G., 1977. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* as a pathogen of the larval stage of the large elm bark beetle, *Scolytus scolytus*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 29: 361-366.

BARTLETT, K.A. e C.L. LEFEBVRE, 1934. Field experiments with *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., a fungus attacking the european corn borer. Journal of Economic Entomology, Menasha, 27: 1147-1157.

BEALL, G.; G.M. STIRRETT e I.L. CONNERS, 1939. A field experiment on the control of the european corn borer, *Pyrausta nubilalis* Hubn., by *Beauveria bassiana* Vuill. II. Scientific Agriculture, Ottawa, 29: 531-534.

BERRIOS, F. e O. HIDALGO - SALVATIERRA, 1971. Estudios sobre el barrenador *Hypsipyra grandella* Zeller. VIII. Susceptibilidad de la larva a los hongos *Beauveria bassiana* (Bal.) *Beauveria tenella* (Del.) Turrialba, 21 (4): 451-454.

BIRD, F.T., 1958. Histopathology of granulosis viruses in insects. Canadian Journal of Microbiology, 4: 267-278.

BOTELHO, P.S.M., 1985. Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1974) (Lep.: Pyralidae). Piracicaba, ESALQ-USP. 110 p. (Tese de Doutorado).

- CAMERON, J.W. Mac B., 1963. Factors affecting the use of microbial pathogens in insect control. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 8: 265-286.
- CARRUTHERS, R.I., 1985. The use of simulation modeling in insect-fungal disease research. In: Summer Computer Simulation Conference, Chicago, 22-24/julho. Proceedings. 503-508.
- CHAMPLIN, F.R.; P.Y.K. CHEUNG; S. PEKRUL; R.J. SMITH; R.L. BURTON e E.A. GRULA, 1981. Virulence of *Beauveria bassiana* mutants for the pecan weevil. Journal of Economic Entomology, Menasha, 74: 617-621.
- CHEUNG, P.Y.K. e E.A. GRULA, 1982. In vivo events associated with entomopathology of *Beauveria bassiana* for the corn earworm (*Heliothis zea*). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 39: 303-313.
- COCHRAN, W.G., 1963. Sampling Techniques. New York. John Wiley & Sons, 413p.
- DAGOBERTO, E.; R. PARISI; N. IANNONE e E. FRUTOS, 1981. Incidencia del "barrenador del tallo" *Diatraea saccharalis* (F.) en el cultivo de maíz. In: Congreso Nacional de Maíz, 2º, Pergamino, 1980. Pergamino, Asociación de Ingenieros Agrónomos de la Zona Norte de la provincia de Buenos Aires, p. 194-200.

- DAGOBERTO, E. e R. LECUONA, 1982. Dinámica poblacional de *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera, Pyralidae) e incidencia del daño en el cultivo. In: Estación Experimental Regional Agropecuaria Pergamino. Carpeta de Producción Vegetal, Maiz. Tomo IV, Información nº 44, 8p.
- DAVID, W.A.L., 1975. The status of viruses pathogenic for insects and mites. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 20: 97-117.
- DAVID, W.A.L. e B.O.C. GARDINER, 1967. The effect of heat, cold, and prolonged storage on a granulosis virus of *Pieris rapae*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 9: 555-562.
- DOBERSKI, J.W., 1981. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 37: 197-200.
- ERSKAYA, G.G., 1978. Mycoses of the eastern may beetle. Mikologiya i Fitopatologiya 11 (4): 353-355, 1977. In: Review of Applied Entomology, London, 66 (6): 411.

- FALCON, L.A.; W.R. KANE e R.S. BETHEL. 1968. Preliminary evaluation of a granulosis virus for control of the codling moth. Journal of Economic Entomology, Menasha, 61(5): 1208-1213.
- FAO/OMS, 1974. El empleo de virus para combatir plagas de insectos y vectores de enfermedades. Roma, FAO/OMS. 59 p. (Serie de Informes Técnicos, '91).
- FERRON, P., 1978. Biological control of insects pests by entomogenous fungi. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 23: 409-442.
- FERRON, P., 1979. Microbiological control against the common cockchafer *Melolontha melolontha*. In: Review of Applied Entomology, London, 67 (9): 443.
- FERRON, P., 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: BURGESS, H.D. Microbial control of pest and plant diseases 1970 - 1980. New York, Burges, Academic Press. p. 465-482.
- FERRON, P., 1983. Artificial induction of an epizootic of *Beauveria brongniartii* among a population of *Melolontha melolontha*. Symbioses 15(1): 75-83, 1983. In: Review of Applied Entomology, London, 71 (10): 842.

- FORRESTER, J.W., 1976. Principles of systems. Wright Allen Press, Inc. Cambridge, 320 p.
- FRESA, R., 1979. Hongos entomopatôgenos observados en larvas de Lepidópteros perjudiciales para cultivos de la Rep. Argentina. IDIA, Buenos Aires, 373-378: 149-155.
- GABRIEL, B.P., 1968. Enzymatic activities of some entomophthorous fungi. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 11: 70-81.
- GALLO, D., 1956. Método prático e econômico para a criação dos parasitos da *Diatraea* em laboratório. Revista de Agricultura, Piracicaba, 31 (2): 139-140.
- GALLO D; O. NAKANO; S. SILVEIRA NETO; R.P.L. CARVALHO; G.C. BATISTA; E. BERTI Fº; J.R.P. PARRA; R.A. ZUCCHI e S.B. ALVES, 1978. Manual de Entomologia Agrícola. Ed. Agron. Ceres. 531 p.
- GUAGLIUMI, P., 1973. Pragas de cana-de-açúcar, nordeste do Brasil. Rio de Janeiro, Instituto do Açúcar e do Alcool, 1972/73. 622 p. (Coleção Canaviera, 10),
- HALL, I.A., 1954. Studies of microorganisms pathogenic to the sed webworm. Hilgardia, Berkeley, 22(15): 535-565.

HANKIN, L. e S.L. ANAGNOSTAKIS, 1975. The use of solid medio for detection of enzyme production by fungi. Mycologia, Bronx, 67: 597-607.

HAYWARD, K.J., 1943. A broca da cana-de-açúcar. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 22 (11): 69-74.

HOSTETTER, D.L.; R.E. PINNELL; P.A. GREER e C.M. IGNOFFO, 1973. A granulosis virus of *Pieris rapae* as a microbial control agent on cabbage in Missouri. Environmental Entomology, College Park, 2(6): 1109-1112.

HUGER, A., 1963. Granuloses of insects. In: STEINHAUS, E.A. Insect pathology. An advanced treatise. Ed. Steinhaus. Academic Press, New York. Volume 1. 531-575p.

HUSSEY; N.W. e T.W. TINSLEY, 1981. Impressions of insect pathology in the People's Republic of China. In: BURGESS, H.D. Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. New York, Burgess, Academic Press, p. 785-795.

IGNOFFO, C.M.; C. GARCIA; O.A. ALYOSHINA e N.V. LAPPA, 1979. Laboratory and field studies with Boverin: a mycoinsecticidal preparation of *Beauveria bassiana* produced in the Soviet Union. Journal of Economic Entomology, Menasha, 72: 562-565.

- INSTITUTO DO AÇÚCAR E DO ALCOOL. Planalsucar, 1984. Relatório anual, p.
- JAYARAMAIAH, M. e G.K. VEERESH, 1983. Influence of media and temperature-humidity combination on germination of spores of the entomopathogenic fungus, *Beauveria brongniartii* (Sacch.) Petch. *Journal of Soil Biology and Ecology* 2(2):53-57. 1982. In: Review of Applied Entomology, London, 71 (9): 764.
- JONES, J.W., H.D. BOWEN, F.R. BRADLEY e R.E. STINNER, 1974. Modeling interactions of boll weevil on cotton crops by analysis of behavioral patterns. *Proc. Belwid Cotton Prod. Res. Conf.*, 102-103.
- KALMAKOFF, J. e J.F. LONGWORTH, 1980. Microbial control of insect pestes: a record of lectures and practical classes presented at a UNESCO/UNEP/ICRO Regional Training Course, Dunedin. New Zealand, August, 1977. New Zealand Department of Scientific and Industrial Research, Wellington, DSIR Bulletin 228, 102 p.
- KALVISH, T.K. e N.V. KRIVTSOVA 1978. Interaction of muscardine fungi and *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*. *Izvestiya Sibirskago Otdeleniya Akademii Nauk SSSR, Biol.* 5(1): 40-46, 1978. In: Review of Applied Entomology, London, 66 (10): 635.

- KELLER, S., 1978. Biassays with the fungus *Beauveria tenella* against adult cockchafers (*Melolontha melolontha* L.) Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft 51(1): 13-19, 1978. In: Review of Applied Entomology, London, 66 (8): 515.
- KELLER, S., 1983. On the importance of fungal diseases in the regulation of cockchafer populations. Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft 55 (3/4): 392-393, 1982. In: Review of Applied Entomology, London, 71(3): 272-273.
- KELLER, S., E. KELLER e E. RAMSER, 1980. Results of a trial for the microbiological control of the cockchafer (*Melolontha melolontha* L.) with the fungus *Beauveria tenella*. Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft 52(1): 35-44, 1979. In: Review of Applied Entomology, London, 68(4): 267.
- LAING, D.R. e R.P. JAQUES, 1980. Codling moth: techniques for rearing larvae and bioassaying granulosis virus. Journal of Economic Entomology, Menasha, 73: 851-853.
- LEFEBVRE, C.L., 1931. Preliminary observations on two species of *Beauveria* attacking the corn borer, *Pyrausta nubilalis* Hubner. Phytopathology, Lancaster, 21(12):1115-1128.

LEOPOLD, J. e A. SAMSINAKOVA, 1970. Quantitative estimation of chitinase and several other enzymes in the fungus *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 15: 34-42.

LIANG, D.R., 1984. Effects of physical and chemical factors on infectivity of the granulosis virus of the cabbage moth. Insect knowledge 20(2): 73-76. 1983. In: Review of Applied Entomology, London, 72 (8): 642.

LOEWER, O.J. Jr.; R.T.HUBER; J.R. BARRETT e R.M. PEART, 1974. Simulation of the effects of weather on an insect population. Simulation, La Jolla 22(4): 113-118.

MACLEOD, D.M., 1954. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Thitirachium* Limber. Canadian Journal of Botany, Ottawa, 32(6): 818-890.

MADELIN, M.F., 1966. Fungal parasites of insects. Annual Review of Entomology. Palo Alto, 11: 423-448.

MARCHIONATTO, J.B., 1934. Algunos hongos entomógenos comunes en la República Argentina y las posibilidades de su aplicación agrícola. Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, Buenos Aires, VII; 571-584.

- MEHTA, U.K. e H. DAVID, 1980. A granulosis virus disease of sugarcane internode borer. Madras Agric. J., Coimbatore, 67(9): 616-619.
- MELO, A.B.P., 1984. Biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera-Pyralidae) em diferentes temperaturas para determinação das exigências térmicas. Piracicaba, 101 p. (ESALQ/USP). (Tese de Mestrado).
- 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.
- MOSCARDI, F., 1983. Utilização de *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. EMBRAPA. Comunicado Técnico 23. 21 p.
- NAYAK, P.; R.P. SRIVASTAVA e G. NAIK, 1980. Pathogenicity of *Beauveria brongniartii* Tenella on the rice skipper, *Parnara mathias* Fabr. Indian Journal of Entomology 40(4): 418-419.
1978. In: Review of Applied Entomology, London, 68(5): 328.

N'DOYE, M., 1976. Influence d'une infection a *Beauveria bassiana* sur les survivants et la descendance de *Chilo suppressalis* (Lep.: Pyralidae) Entomophaga, Zuirich, 24 (4): 371-376.

N'DOYE, M., 1979. The susceptibility of larval and pupal of *Chilo suppressalis* Walker to varions entomopathogenous fungi (Fungi Imperfecti) and the factors that determine susceptibility to the mycosis caused by *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.. Bolletin de l'Institut Fundamental d'Afrique Norte 39(2): 303-317, 1977. In: Review of Applied Entomology, London, 67(1): 42.

ODUM, H.T., 1983. Systems ecology. An introduction, John Wiley and Sons. New York, 644 p.

ONGARELLI, M.G.; D.M. SILVA e C.F. de CARVALHO, 1980. Vírus da granulose em células de mandarová da mandioca (*Erinnyis ello* L., 1758). Revista de Agricultura, Piracicaba, 55(3): 174.

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

- PARIS, S. e P. FERRON, 1979. Study of the virulence of some mutants of *Beauveria brongniartii* (= *Beauveria tenella*) Journal of Invertebrate Pathology, New York, 34: 71-77.
- PARIS, S. e G. SEGRETAIN, 1978. Étude de l'activité lipasique-estérasique intracellulaire de *Beauveria tenella*. Annales de Microbiologia (Inst. Past.), Paris, 129 B(2): 133-145.
- PATTEN, B.C., 1971. Systems analysis and simulation in Ecology. Academic Press. New York. 607 p.
- PAVAN, O.H.O.; E.P. RODRIGUES; S.K. VERON e L.C. ALMEIDA, 1983a. Vírus da granulose de *Diatraea saccharalis*; efeito de dose e idade do hospedeiro na mortalidade das lagartas de broca-da-cana, *D. saccharalis*. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 8, Brasília. Resumos p. 260.
- PAVAN, O.H.O.; D.G. BOUCIAS; L.C. ALMEIDA; J.O. GASPAR; P.S.M. BOTELHO e N. DEGASPARI, 1983b. Vírus de granulosis de *Diatraea saccharalis* (Fabr.): I. Patogenicidad, repetición y ultraestructura. In: Congress ISSCT, La Habana, 18. Proceedings, 2(2): 643-658.
- PAYNE, C.C. e D.C. KELLY, 1981. Identification of insect and mite virus. In: BURGESS, H.D, Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Ed. Burges. Academic Press. New York, 61-91p.

PEKRUL, S. e E.A. GRULA, 1979. Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 34: 238-247.

REAGAN, T.E., R.E. STINNER; R.L. RABB e C. TUTTLE, 1979. A simulation model depicting the production of overwintering hornworms on tobacco. Environmental Entomology, College Park, 8: 268-273.

RIBA, G., 1984. Application en essais parcellaires de plein champ d'un mutant artificiel du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Hyphomycete) contre la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidae) Entomophaga, Zurich, 29(1): 41-48.

RIBA, G.; S. MARCANDIER; G. RICHARD e I. LARGET, 1983. Susceptibility of the maize pyralide (*Ostrinia nubilalis*) (Lep.: Pyralidae) to entomopathogenic Hyphomycetes. Entomophaga 28(1): 55-64, 1983. In: Review of Applied Entomology, London, 71(6): 490.

RIBEIRO, H.C.T., 1985. Seleção genética e interação de Baculovirus em *Diatraea saccharalis* (F. 1794). Campinas, Instituto de Biologia, UNICAMP, 99 p. (Tese de Mestrado).

- ROBERT, P. e M. MARCHAL, 1980. Utilisation des larves de *Plutella maculipennis* (Lep.; Hyponomentidae) comme insecteteste de drivers hyphomycetes entomopathogènes (Fungi Imperfecti). Entomophaga, Zuirich, 23(1): 83-89.
- ROBERTS. D.W. e W.G. YENDOL, 1971. Use of fungi for microbial control of insects. In: BURGES, H.D. e N.W. HUSSEY. Microbial control of insect and mites. New York, Burges and Hussey, Academic Press. p. 125-149.
- ROBINSON, R.K, 1966. Studies on penetration of insect integument by fungi. Pest articles and news summaries 12(2-3): 131.142. Section B.
- ROSATO, Y.B.; C.L. MESSIAS e J.L. AZEVEDO, 1981. Production of extracellular enzymes by isolates of *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 38(1): 1-3.
- SAMSINAKOVA, A.; S. MISIKOVA e J. LEOPOLD, 1971. Action of enzymatic systems of *Beauveria bassiana* on the cuticle of the greater wax moth larvae (*Galleria mellonella*). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 18: 322-330.
- SAMSON, R.A., 1981. Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. In: BURGES, H.D. Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. New York, Burges, Academic Press, p. 93-106.

SEBER, G.A.F., 1977. Linear regression analysis, New York, J. Wiley and Sons, 465 p.

SGRILLO, R.B., 1979. Desenvolvimento de modelo matemático para população da broca de cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) e simulação da técnica do indivíduo estéril. Piracicaba, ESALQ/USP. 189 p. (Tese de Doutorado).

SGRILLO, R.B., 1984 a. Desenvolvimento de modelo determinístico compartimental para simulação da dinâmica populacional da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (F., 1794). Relatório Técnico - Convênio CENA/FINEP 5.4.83.0659.00. Março/1984. 84 p.

SGRILLO, R.B., 1984 b. Desenvolvimento de modelo determinístico compartimental para simulação da dinâmica populacional da broca da cana de açúcar, *Diatraea saccharalis* (F., 1794). Relatório Técnico - Convênio CENA/FINEP 5.4.83.0659.00. Outubro/1984. 74 p.

SGRILLO, R.B. e N.O. da CUNHA, 1982. Relatório final de atividades. Convênio CENA/IBM. Relatório Especial nº 03. Centro Científico IBM, Brasília, 57 p.

- SGRILLO, R.B. e N.O. da CUNHA, 1983. Um modelo para diapausa da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (F.). Relatório Técnico, Convênio CENA/FINEP B/51/80/270/00/00, NOV/1983. 54p.
- SGRILLO, R.B. e N.O. da CUNHA, 1985. A simulation model for the sugar cane borer: population management through biological control. In: Summer Computer Simulation Conference, Chicago, 22-24/Julho. Proceedings. 520-525.
- SGRILLO, R.B.; N.O. da CUNHA e L.C. BARBOSA, 1984. A simulation model for the sugar cane borer population dynamics. In: Summer Computer Simulation Conference, Boston, 23-25/julho. Proceedings. 892-896.
- SHIMIZU, T. 1975. Simulação em computador digital. Ed. Edgar Blucher Ltda., S. Paulo, 108 p.
- SILVA, J.C., 1985. Virulência de mutantes exoenzimáticos de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e seus revertentes a *Rhodnius prolixus*. Campinas, Instituto de Biologia, UNICAMP, 161 p. (Tese de Doutorado).
- SMIRNOV, O.V., 1979. Interrelations between entomopathogens in a single insect organism. Entomologicheskoe Obozrenie 57(3): 687-693. 1978. In: Review of Applied Entomology, London, 67(9): 487.

- SMITH, K.M., 1959. The use of viruses in the biological control of insect pest. Outlook on Agriculture 2:178-184.
- SMITH, R.J. e E.A. GRULA, 1981. Nutritional requeriments for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 37: 222-230.
- SMITH, R.J. e E.A. GRULA, 1982. Toxic components on the larval surface of the corn earworm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 39: 15-22.
- SMITH, R.J.; S. PEKRUL e E.A. GRULA, 1981. Requeriment for sequential enzymatic activities for penetration of the integument of the corn earworm (*Heliothis zea*). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 38: 335-344.
- SOKAL, R.R., 1958. Probit analysis on a digital computer. Journal of Economic Entomology, Menash, 51(5): 738-739.
- STEINHAUS, E.A., 1952. Microbial infections in european corn borer larvae held in the laboratory. Journal of Economic Entomology, Menasha, 45(1): 48-51.

- STEINHAUS, E.A., 1957. New records of insect-virus diseases. Hilgardia, Berkeley, 26(7): 417-430.
- STEINHAUS, E.A., 1964. Microbial diseases of insects. In: DeBACH, P. Biological control of insects pests and weed. New York, Reinhold Publishing Corporation. p. 515-547.
- STEINHAUS, E.A. e G.A. MARSH, 1962. Report of diagnoses of diseased insects 1951-1961. Hilgardia, Berkeley, 33(9): 349-490.
- STINNER, R.E.; R.L. RABB e J.R. BRADLEY, 1974. Population dynamics of *Heliothis zea* (Boddie) and *H. virescens* (F.) in North Carolina: A simulation model. Environmental Entomology, College Park, 3: 163-168.
- STIRRET, G.M.; G. BEALE e M. TIMONIN, 1937. A field experiment on the european corn borer, *Pyrausta nubilalis* Hubn., by *Beauveria bassiana* Vuill. Scientific Agriculture, Ottawa, 27; 587-591.
- TANADA, Y., 1976. Ecology of insect viruses. In: ANDERSON, J.F. e H.K. KAYA. Perspectives in Forest Entomology. Ed. Anderson e Kaya. Academic Press. New York. 265-283p.

- TATCHELL, G.M., 1981. The effects of a granulosis virus infection and temperature on the food consumption of *Pieris rapae* (Lep.: Pieridae). Entomophaga, Zurich, 26(3): 291-299.
- THOMAS, G.M. e G.O. POINAR Jr., 1973. Report of diagnosis of diseased insects, 1962-1972. Hilgardia, Berkeley, 42: 261-360.
- TINSLEY, T.W., 1979. The potential of insect pathogenic viruses as pesticidal agents. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 24: 63-87.
- VAIL, P.V.; T.J. HENNEBERRY; A.N. KISHABA e K.Y. ARAKAWA, 1968. Sodium hypochlorite and formalin as antiviral agents against nuclear-polyhedrosis virus in larvae of the cabbage looper Journal of Invertebrate Pathology, New York, 10: 84-93.
- WALKER, D.W. e M. FIGUEROA, 1964. Biology of the sugar cane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera-Crambidae) in Puerto Rico. III. Oviposition rate. Annals of the Entomological Society of America, Columbus, 57(4): 515-516.
- WALSTAD, J.D.; R.F. ANDERSON e W.J. STAMBAUGH, 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 16: 221-226.

- WHITLOCK, V.H., 1977. Effect of larval maturation on mortality induced by nuclear polyhedrosis and granulosis virus infections of *Heliothis armigera*. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 30: 80-86.
- WILLINK, E.; M.A. COSTILLA e V.M. OSORES, 1982. Caña de azúcar. Hacia el control integrado del gusano perforador. Avance Agroindustrial, San Miguel de Tucumán, 2(8): 9-13.
- WIT, C.T. de e J. GOUDRIAAN, 1978. Simulation of ecological processes. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen. 175 p.
- YADAVA, C.P.; R.P. SRIVASTAVA e P. NAYAK, 1980. Susceptibility of rice stem borers to the entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii* Sacc. Indian Journal of Entomology 41(1): 100-102. 1979. In: Review of Applied Entomology, London, 68(6): 364.

8. APÊNDICE

Dados meteorológicos referentes ao período 7 a 22/02/85 no que foi conduzido o experimento de campo.

DIA	INSOLAÇÃO (HORA/DIA)	PRECIPITA- ÇÃO (mm)	UMIDADE RELATIVA(%)	VENTOS (MÉDIA KM/H)	TEMPERATURAS (°C)		
					MAX.	MIN.	MÉDIA
07/02	9,2	0,0	72,5	8,5	32,2	19,0	25,6
08/02	6,3	1,2	85,3	8,2	31,7	19,0	25,4
09/02	9,9	0,0	75,7	6,0	32,7	19,9	26,3
10/02	8,2	47,8	81,9	9,2	32,4	20,7	26,5
11/02	4,4	0,5	84,7	5,5	31,9	19,9	25,9
12/02	7,4	0,1	84,3	7,7	30,9	21,0	25,9
13/02	7,0	4,4	88,0	8,5	31,9	19,2	25,5
14/02	8,0	0,8	77,6	5,7	32,6	19,4	26,0
15/02	9,5	0,9	74,4	8,4	33,2	19,4	26,3
16/02	8,7	0,0	75,0	5,9	33,8	19,6	26,7
17/02	7,2	1,5	84,2	8,2	33,8	20,4	27,1
18/02	6,1	0,2	77,5	7,4	33,6	20,4	27,0
19/02	10,7	0,0	69,1	8,3	33,4	20,6	27,0
20/02	7,4	0,0	65,7	6,2	34,2	20,0	27,1
21/02	6,4	26,3	84,1	7,3	33,6	21,6	27,6
22/02	1,2	5,4	93,2	8,0	33,4	20,3	26,8

```

10 REM *****
20 REM MODELO DE SIMULACAO DO EFEITO DA APLICACAO DE PATOGENOS EM LARVAS
   DE Diatraea saccharalis (F.1794)
30 REM Roberto Eduardo LECUONA ....JULHO/1985....
40 REM *****
50 REM  LISTA DE VARIAVEIS
60 REM *****
70 REM X0= CONDICAO INICIAL
80 REM C= NUMERO DE COMPARTIMENTOS OU VARIAVEIS DE ESTADO
90 REM N= NUMERO DE CLASSES DENTRO DE CADA COMPARTIMENTO
100 REM CV= COEFICIENTE DE VARIACAO
110 REM DG,DD= MOMENTO DE TRANSFERIR INSETOS DE UMA CLASSE A OUTRA
120 REM RT= TEMPO DE RESIDENCIA
130 REM DT= FRACAO DE TEMPO DE RESIDENCIA
140 REM F= FRACAO DE TRANSFERENCIA
150 REM F= PARA ZERAR APOS TRANSFERENCIA
160 REM DX= NUMERO DE INSETOS QUE SE TRANSFEREM
170 REM TM= TEMPO MAXIMO
180 REM T0= TEMPO INICIAL DE SIMULACAO
190 REM IP= INTERVALO DE IMPRESAO
200 REM CO= CONTADOR
210 REM TE= TEMPERATURA
220 REM TB= TEMPERATURA BASE
230 REM BD= TEMPERATURA PARA SAIDA DA DIAPAUSA
240 REM K= CONSTANTE TERMICA
250 REM KB= CONTADOR DA CONSTANTE TERMICA PARA A BRUÇA
260 REM (I)= SUBINDICE QUE REPRESENTA O COMPARTIMENTO (C)
270 REM (J)= SUBINDICE QUE REPRESENTA O NUMERO DE CLASSES DO COMPARTIMENTO
280 REM PE= PERIODO DE DESENVOLVIMENTO
290 REM CT= CONSTANTE PARA PROPORCAO DE DIAPAUSA
300 REM MN= MORTALIDADE NATURAL
310 REM VI= VIABILIDADE
320 REM Z= SOBREVIVENCIA FIXA PARA CADA COMPARTIMENTO :Z= (1-MN)* VI
330 REM SC= SOBREVIVENCIA FIXA MAIS A MODIFICADA POR PATOGENOS
340 REM SP= SOBREVIVENCIA QUANDO SE APLICA PATOGENOS
350 REM RS= RAZAO SEXUAL
360 REM PO= PERIODO DE OVIPOSICAO
370 REM PD= PROPORCAO DE LARVAS EM DIAPAUSA
380 REM FF=FEMEAS FERTIEIS
390 REM FC= FECUNDIDADE (OVOS/FEMEA)
400 REM A=FOTOPERIODO MEDIO ANUAL
410 REM B=AMPLITUDE ANUAL DO FOTOPERIODO
420 REM B0,B1,B2= COEFICIENTES PARA Beauveria bassiana
430 REM R0,R1,R2= COEFICIENTES PARA Beauveria brongniartii
440 REM G0,G1,G2= COEFICIENTES PARA Virus da granulose (GVDs)
450 REM BG(0),BG(1),BG(2)= COEFICIENTES PARA B.bass. + GVDs
460 REM RG(0),RG(1),RG(2)= COEFICIENTES PARA B.brong. + GVDs
470 REM *****
480 PRINT "SIMULACAO DO EFEITO DA APLICACAO DE PATOGENOS EM LARVAS DE
Diatraea saccharalis (F.1794) *** ROBERTO LECUONA"
490 LPRINT "*****"

500 LPRINT "SIMULACAO DO EFEITO DA APLICACAO DE PATOGENOS EM LARVAS DE
   Diatraea saccharalis (F.1794) *** ROBERTO LECUONA"
510 LPRINT "*****"

520 REM *****
530 REM  DADOS BIOLOGICOS E OUTROS
540 REM *****
550 INPUT "TEMPO MAXIMO DE SIMULACAO (em dias), TM="; TM
560 LPRINT "TEMPO MAXIMO DE SIMULACAO (em dias)="; TM
570 PRINT "AGUARDE UM MOMENTO PARA CONTINUAR ENTRADA DE DADOS"
580 DIM TE(14), C(15), N(15), DX(7,10), P(20), XX(20), X(10,10), TT(16), OV(TM),
   LP(TM), LG(TM), LD(TM), PU(TM), AD(TM), FP(TM)
590 DIM A(14), B(14), F1(14), F2(14), RT(7)
600 MN(1)=.80 : VI(1)=.86 : Z(1)=.172
610 MN(2)=.70 : VI(2)=.96 : Z(2)=.288
620 MN(3)=.40 : VI(3)=.99 : Z(3)=.594
630 Z(4)=.60
640 MN(5)=.15 : VI(5)=.81 : Z(5)=.698
650 MN(6)=.15 : RS=.5 : Z(6)=.425
660 FF=.77 : FC=290 : PO=4
670 C=7 : N=10 : CV=.10
680 ZP=Z(2) / (1/N)

```

```

690 B0=-608.588259
700 B1= 54.8023724
710 B2=-1.08124771
720 R0=-327.999668
730 R1= 34.4939207
740 R2=-.729061074
750 G0=-175.060791
760 G1= 20.9394389
770 G2=-.399217655
780 BG(0)=-141.624506
790 BG(1)= 18.8264546
800 BG(2)=-.371092935
810 RG(0)=-158.287694
820 RG(1)= 19.2804501
830 RG(2)=-.365780354
840 CT(1)=-82.89
850 CT(2)= 6.822
860 CT(3)=-4.3406
870 CT(4)= .2301
880 TB= 10 : BD=18
890 K(1)= 78
900 K(2)= 356
910 K(3)= 356
920 K(4)= 60
930 K(5)= 104
940 K(6)= 48
950 K(7)= 48
960 A= 11.98 : B=1.379
970 REM >>>TEMPO EM CALENDARIO JULIANO. COMENCA O 15 DE OUTUBRO>>>
980 FOR I=1 TO 14
990 READ TT(I)
1000 NEXT I
1010 DATA -15,15,46,76,107,138,166,197,227,258,288,319,350,380
1020 REM >>>TEMPERATURA DE PIRACICABA (1917 a 1970).COMENCA O 15 DE OUTUBRO>>>
1030 FOR I=1 TO 14
1040 READ TE(I)
1050 NEXT I
1060 DATA 20.4,21.5,22.5,23.2,23.6,23.5,23.1,21.1,18.4,17,16.7,18.5,20.4,21.5
1070 SO(1)=Z(1)C(1/N)
1080 SO(3)=Z(3)C(1/N)
1090 SO(4)=Z(4)C(1/N)
1100 SO(5)=Z(5)C(1/N)
1110 SO(6)=Z(6)C(1/N)
1120 REM *****
1130 REM ENTRADA DE DADOS
1140 REM *****
1150 INPUT"NUMERO DE OVOS/Ha="; X0(1)
1160 LPRINT"NUMERO DE OVOS/Ha="; X0(1)
1170 INPUT"NUMERO DE LARVAS PEQUENAS/Ha="; X0(2)
1180 LPRINT"NUMERO DE LARVAS PEQUENAS/Ha="; X0(2)
1190 INPUT"NUMERO DE LARVAS GRANDES/Ha="; X0(3)
1200 LPRINT"NUMERO DE LARVAS GRANDES/Ha="; X0(3)
1210 INPUT"NUMERO DE LARVAS EM DIAFAUSA/Ha="; X0(4)
1220 LPRINT"NUMERO DE LARVAS EM DIAFAUSA/Ha="; X0(4)
1230 INPUT"NUMERO DE PUPAS/Ha="; X0(5)
1240 LPRINT"NUMERO DE PUPAS/Ha="; X0(5)
1250 INPUT"NUMERO DE ADULTOS/Ha="; X0(6)
1260 LPRINT"NUMERO DE ADULTOS/Ha="; X0(6)
1270 INPUT"NUMERO DE FEMEAS EM POSTURA/Ha="; X0(7)
1280 LPRINT"NUMERO DE FEMEAS EM POSTURA/Ha="; X0(7)
1290 FOR I=1 TO C
1300 FOR J=1 TO N
1310 X(I,J)=X0(I)/N
1320 NEXT J: NEXT I
1330 INPUT "TEMPO INICIAL DE SIMULACAO( 15.de outubro=0),T0=";T0
1340 LPRINT "TEMPO INICIAL DE SIMULACAO( 15 de outubro=0)=";T0
1350 INPUT "INTERVALO DE TEMPO,DT=";DT
1360 LPRINT"INTERVALO DE TEMPO=";DT
1370 INPUT"INTERVALO DE IMPRESAO,IP=";IP
1380 LPRINT"INTERVALO DE IMPRESAO=";IP
1390 PRINT"DIGITE SIMULACAO DESEJADA"
1400 PRINT" 1 Beauveria bassiana"
1410 LPRINT" 1 Beauveria bassiana"
1420 PRINT" 2 Beauveria brongniartii"
1430 LPRINT" 2 Beauveria brongniartii"

```

```

1440 PRINT " 3 Virus da granulose(GVDs)"
1450 LPRINT " 3 Virus da granulose(GVDs)"
1460 PRINT " 4 B.bass.+ GVDs"
1470 LPRINT " 4 B.bass. + GVDs"
1480 PRINT " 5 B.brong.+ GVDs"
1490 LPRINT " 5 B.brong. + GVDs"
1500 PRINT " 6 Desenvolvimento natural"
1510 LPRINT " 6 Desenvolvimento natural"
1520 INPUT AA
1530 IF AA<1 OR AA>6 THEN PRINT"VALOR ERRADO": GOTO 1390
1540 LPRINT "OPCAO=";AA
1550 IF AA=6 THEN GOTO 1680
1560 PRINT "DIGITE A GERACAO ONDE APLICAR OS PATOGENOS"
1570 PRINT " 7 - PRIMEIRA(1/2 outubro - dezembro)"
1580 LPRINT " 7 - PRIMEIRA(1/2 outubro - dezembro)"
1590 PRINT " 8 - SEGUNDA(janeiro - 1/2 marco)"
1600 LPRINT " 8 - SEGUNDA(janeiro - 1/2 marco)"
1610 PRINT " 9 - TERCEIRA(1/2 marco - 1/2 junho)"
1620 LPRINT " 9 - TERCEIRA(1/2 marco - 1/2 junho)"
1630 PRINT " 10 - QUARTA(1/2 junho - 1/2 outubro)"
1640 LPRINT " 10 - QUARTA(1/2 junho - 1/2 outubro)"
1650 INPUT BB
1660 IF BB<7 OR BB>10 THEN PRINT"VALOR ERRADO": GOTO 1560
1670 LPRINT " OPCAO ="; BB
1680 PRINT "AGUARDE OS RESULTADOS. OBRIGADO/GRACIAS"
1690 LPRINT:LPRINT
1700 REM >>>CABECALHO DA TABELA>>>
1710 A$="DIA      OVOS      L.PQ.      L.GR.      L.Di.      PUPAS      ADU.      F.PO.
KB"
1720 B$="###      #####      #####      #####      #####      #####      #####      #####
####"
1730 LPRINT A$
1740 X(1,1)=X0 : XX(1)=X0
1750 F=1-N*CV[2]
1760 T=T0
1770 REM *****
1780 REM INICIO DA SIMULACAO
1790 REM *****
1800 REM >>>CONTADOR DE TEMPO>>>
1810 T=T+DT
1820 REM >>>CALCULA FOTOPERIODOS>>>
1830 F1= A+B*COS(T * 3.14/180)
1840 F2= A+B*COS((T+1) *3.14/180)
1850 REM >>>CALCULA TEMPERATURAS(anos nao bissextos)>>>
1860 FOR I=1 TO 14
1870 IF T<TT(I) THEN GOTO 1900
1880 IF T=TT(I) THEN TE=TE(I): I=14: GOTO 1900
1890 TE=TE(I)+(((T-TT(I))*(TE(I+1)-TE(I)))/(TT(I+1)-TT(I)))
1900 NEXT I
1910 REM >>>CONTADOR DA CONSTANTE TERMICA>>>
1920 KB=KB+(TE-10)*DT
1930 REM >>>FIXA AMPLITUDE DAS TEMPERATURAS ENTRE 22 e 34 C>>>
1940 IF TE< 22 THEN TD=22 : GOTO 1980
1950 IF TE> 34 THEN TD=34 : GOTO 1980
1960 TD=TE
1970 REM >>>CALCULA SOBREVIVENCIA SEGUNDO PATOGENO APLICADO>>>
1980 SP(1)= ((1-(B0+B1*TD+B2*TD[2])/100)*Z(2))[(1/N): SP(1)=SP(1)* .5
1990 SP(2)= ((1-(R0+R1*TD+R2*TD[2])/100)*Z(2))[(1/N): SP(2)=SP(2)* .5
2000 SP(3)= ((1-(G0+G1*TD+G2*TD[2])/100)*Z(2))[(1/N): SP(3)=SP(3)* .5 )*.5
2010 SP(4)= ((1-(B0+B1*TD+B2*TD[2])/100)*Z(2))[(1/N): SP(4)=SP(4)* .5
2020 SP(5)= ((1-(R0+R1*TD+R2*TD[2])/100)*Z(2))[(1/N): SP(5)=
2030 REM >>>CONTADOR DE INTERVALO DE TEMPO>>>
2040 CO=CO+DT
2050 REM >>>CALCULO DO TEMPO DE RESIDENCIA>>>
2060 FOR I=1 TO C
2070 PE(I)=K(I)/(TE-TB) : RT(I)=PE(I)/N
2080 NEXT I
2090 REM >>>QUANDO FAZER TRANSFERENCIA?>>>
2100 FOR I=1 TO C
2110 IF XX(I)=0 THEN GOTO 2150
2120 DG(I)= 1/(RT(I)*F)-P(I)/DT : DD(I)=DD(I)+DG(I)*DT
2130 IF DD(I)>= 1 THEN P(I)=1 :GOTO 2150
2140 P(I)=0
2150 NEXT I
2160 REM >>>PRIMEIRO COMPARTIMENTO>>>

```

```

2170 DX(1,1)=0
2180 FOR J=1 TO N
2190 DX(1,1)=DX(1,1)+(X(7,J)*290/N)*DT
2200 NEXT J
2210 DX(1,1)=DX(1,1)-X(1,1)*P(1)*F
2220 REM >>>SOBREVIVENCIA SEGUNDO PATOGENO APLICADO E GERACAO>>>
2230 ON AA GOTO 2250 ,2340 ,2430 ,2520 ,2610
2240 IF AA=6 THEN SO(2)=ZP: GOTO 2700
2250 ON BB-6 GOTO 2260 ,2280 ,2300 ,2320
2260 IF KB=<913 THEN SO(2)=SP(1): GOTO 2700
2270 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2280 IF KB>913 AND KB=<1869 THEN SO(2)=SP(1): GOTO 2700
2290 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2300 IF KB>1869 AND KB=<2922 THEN SO(2)=SP(1): GOTO 2700
2310 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2320 IF KB>2922 AND KB=<3934 THEN SO(2)=SP(1): GOTO 2700
2330 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2340 ON BB-6 GOTO 2350 ,2370 ,2390 ,2410
2350 IF KB=<913 THEN SO(2)=SP(2): GOTO 2700
2360 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2370 IF KB>913 AND KB=<1869 THEN SO(2)=SP(2): GOTO 2700
2380 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2390 IF KB>1869 AND KB=<2922 THEN SO(2)=SP(2): GOTO 2700
2400 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2410 IF KB>2922 AND KB=<3934 THEN SO(2)=SP(2): GOTO 2700
2420 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2430 ON BB-6 GOTO 2440 ,2460 ,2480 ,2500
2440 IF KB=<913 THEN SO(2)=SP(3): GOTO 2700
2450 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2460 IF KB>913 AND KB=<1869 THEN SO(2)=SP(3): GOTO 2700
2470 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2480 IF KB>1869 AND KB=<2922 THEN SO(2)=SP(3): GOTO 2700
2490 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2500 IF KB>2922 AND KB=<3934 THEN SO(2)=SP(3): GOTO 2700
2510 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2520 ON BB-6 GOTO 2530 ,2550 ,2570 ,2590
2530 IF KB=<913 THEN SO(2)=SP(4): GOTO 2700
2540 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2550 IF KB>913 AND KB=<1869 THEN SO(2)=SP(4): GOTO 2700
2560 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2570 IF KB>1869 AND KB=<2922 THEN SO(2)=SP(4): GOTO 2700
2580 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2590 IF KB>2922 AND KB=<3934 THEN SO(2)=SP(4): GOTO 2700
2600 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2610 ON BB-6 GOTO 2620 ,2640 ,2660 ,2680
2620 IF KB=<913 THEN SO(2)=SP(5): GOTO 2700
2630 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2640 IF KB>913 AND KB=<1869 THEN SO(2)=SP(5): GOTO 2700
2650 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2660 IF KB>1869 AND KB=<2922 THEN SO(2)=SP(5): GOTO 2700
2670 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2680 IF KB>2922 AND KB=<3934 THEN SO(2)=SP(5): GOTO 2700
2690 SO(2)=ZP: GOTO 2700
2700 REM >>>TRANSFERENCIA NAS PRIMEIRAS CLASSES DE CADA COMPARTIMENTO(2-->C)>>>
2710 FOR I=2 TO C
2720 DX(I,1)=X(I-1,N)*SO(I-1)*P(I-1)*F-X(I,1)*P(I)*F
2730 NEXT I
2740 REM >>>TRANSFERENCIA ENTRE CLASSES INTERMEDIARIAS>>>
2750 FOR I=1 TO C
2760 FOR J=2 TO N
2770 DX(I,J)=(X(I,J-1)*SO(I)-X(I,J))*P(I)*F
2780 NEXT J : NEXT I
2790 REM >>>PROPORCAO DE LARVAS EM DIAPAUSA>>>
2800 PD=1/(1+EXP(CT(1)+CT(2)*F1))*1/(1+EXP(CT(3)+CT(4)*TE))
2810 IF TE<BD AND F2<F1 THEN P(4)=0
2820 DX(4,1)=X(3,N)*P(3)*F*PD-X(4,1)*P(4)*F
2830 DX(5,1)=X(4,N)*P(4)*F*2(4)+X(3,N)*P(3)*F*(1-PD)-X(5,1)*P(5)*F
2840 REM >>>FEMEAS ULTIMO COMPARTIMENTO(que ovipositaram)>>>
2850 FOR J=2 TO N
2860 DX(7,J)=X(7,J-1)*.77-X(7,J)*P(7)*F
2870 NEXT J
2880 REM >>>ATUALIZACAO DO CONTEUDO DE CADA CLASSE>>>
2890 FOR I=1 TO C

```



```

2900 FOR J=1 TO N
2910 X(I,J)=X(I,J)+DX(I,J)
2920 NEXT J : NEXT I
2930 REM >>>TOTAL DOS COMPARTIMENTOS>>>
2940 FOR I=1 TO C
2950 XX(I)=0
2960 FOR J=1 TO N
2970 XX(I)=XX(I)+X(I,J)
2980 NEXT J
2990 NEXT I
3000 IF T>TM THEN GOTO 3190
3010 IF CO>=IP THEN GOTO 3030
3020 GOTO 1810
3030 CO=0
3040 REM *****
3050 REM     TABELA
3060 REM *****
3070 LPRINT USING B$;T;INT(XX(1));INT(XX(2));INT(XX(3));INT(XX(4));INT(XX(5));
      INT(XX(6));INT(XX(7));KB
3080 REM >>>CONTADOR PARA VARIÁVEIS DA TABELA>>>
3090 KK=KK+1
3100 REM >>>VARIÁVEIS DA TABELA>>>
3110 OV(KK)=XX(1)
3120 LP(KK)=XX(2)
3130 LG(KK)=XX(3)
3140 LD(KK)=XX(4)
3150 PU(KK)=XX(5)
3160 AD(KK)=XX(6)
3170 FP(KK)=XX(7)
3180 GOTO 1810
3190 END

```