

SELEÇÃO DE ISOLADOS DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH.) SOROK. VISANDO O CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR *DIATRAEA SACCHARALIS* (FABR., 1794)

L.O. Zappellini*, J.E.M. Almeida, A. Batista Filho, F.H.C. Giometti*

Instituto Biológico, Centro Experimental Central, CP 70, CEP 13001-970, Campinas, SP, Brasil. E-mail: luczappellini@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo testar alguns isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em condições de laboratório. Inicialmente, foi calculado o valor da concentração letal (CL_{90}), que ficou estabelecido em 5×10^8 conídios/mL. Na continuidade, foram utilizados 27 isolados diferentes, sendo estes testados quanto a sua patogenicidade e virulência em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) com aproximadamente 1,5 cm, onde os melhores isolados (mortalidades confirmadas acima de 80%) foram novamente testados, a fim de se obter uma confirmação dos resultados. Em seguida, foram calculados os valores do tempo letal (TL_{50}) para os melhores isolados, sendo estes submetidos à produção massal em arroz pré-cozido, verificando-se a esporulação média desses isolados. De uma maneira geral, as mortalidades confirmadas entre os 27 isolados variaram entre 54 a 100%, sendo que os IBCB 167, 351, 383, 384, 410, 417, 418, 425 e 481 foram capazes de provocar mortalidades superiores a 80%. Quanto ao tempo letal (TL_{50}), o IBCB 383 apresentou o menor tempo com 6,83 dias e a maior conidiogênese foi registrada para o IBCB 417 com $2,52 \times 10^9$ conídios/g.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, produção de entomopatógenos, pragas da cana-de-açúcar.

ABSTRACT

SELECTION OF ISOLATES OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH.) SOROK., AIMING AT THE CONTROL OF THE SUGARCANE BORER *DIATRAEA SACCHARALIS* (FABR., 1794). Aiming to improve the methods for controlling the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, this study tested some strains of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. Initially, the value of the lethal concentration (LC_{90}) was calculated, and set at 5×10^8 conidia/mL. Next, 27 different strains were tested for their pathogenicity and virulence in regard to larvae of *D. saccharalis* of approximately 1.5 cm, with retesting of the best isolates (confirmed mortalities above 80%) to confirm the results. Next, the values of lethal time (LT_{50}) were calculated for the best strains, which were mass produced on pre-cooked rice, verifying the average sporulation of these isolates. Generally, the mortality confirmed among the 27 isolates ranged from 54 to 100%, with IBCB 167, 351, 383, 384, 410, 417, 418, 425 and 481 able to generate mortality over 80%. In terms of lethal time (LT_{50}), IBCB 383 showed a shorter time of 6.83 days, while the greatest conidiogenesis was recorded for IBCB 417, with 2.52×10^9 conidia/g.

KEY WORDS: Microbial control, entomopathogenic production, sugarcane pests.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), uma poaceae semiperene de origem asiática, é uma das principais culturas no Brasil. A estimativa da produção nacional de cana-de-açúcar na safra 2007/2008, é de 528 mi-

lhões de toneladas, superior à safra passada em 11,2% (IEA, 2008). A área ocupada com essa cultura no Brasil é de 6,6 milhões de hectares, superior em 7,4% (456,9 mil hectares) à safra anterior. Esse comportamento do mercado está relacionado diretamente com o avanço das exportações do açúcar e à maior deman-

*Mestrando em Sanidade Vegetal, Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico.

da interna de álcool com o aumento de venda dos carros com motorização baseada na nova tecnologia *flex fuel*, carros bicomustíveis (ÚNICA, 2008).

O Estado de São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar, sendo responsável por aproximadamente 60% de toda a produção nacional, colhendo e esmagando em torno de 316,7 milhões de toneladas na safra 2007/2008 (UDOP, 2008). Grandes extensões cultivadas com uma mesma cultura favorecem o surgimento de insetos pragas e doenças.

Dentre as várias pragas que ocorrem na cultura da cana-de-açúcar, a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), é uma das principais, especificamente pelos danos ocasionados, caracterizando-se pelo complexo broca-podridão causado por micro-organismos que penetram nos colmos juntamente com a praga, além do dano direto devido à abertura de galerias ao longo da planta (GALLO *et al.*, 2002).

Vários relatos já foram descritos referenciando inimigos naturais como fungos, vírus, bactérias entomopatogênicas, predadores e parasitoides atacando a broca da cana-de-açúcar. Porém, com a introdução de um parasitoide trazido de Trinidad na América Central o braconídeo *Cotesia flavipes* é que o sucesso do controle biológico da *D. saccharalis* foi consolidado a partir da década de 70 no Brasil, devido à facilidade de criação massal e a capacidade desta vespinha em localizar seu hospedeiro (GALLO *et al.*, 2002; PINTO, 2006).

Porém, com a rápida expansão da cultura da cana-de-açúcar, a produção dos parasitoides *C. flavipes* teria que proporcionalmente acompanhar esse aumento, o que não seria possível devido ao curto espaço de tempo. Assim, a utilização de outros métodos de controle, como os fungos entomopatogênicos, incrementará o controle biológico da broca da cana-de-açúcar, além de contribuir na manutenção da baixa utilização de agrotóxicos para o controle de *D. saccharalis*.

Este trabalho teve por objetivo selecionar isolados virulentos e produtivos do fungo *M. anisopliae* em condições de laboratório, visando o controle de *D. saccharalis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados de fungos entomopatogênicos

No experimento foram utilizados 27 isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, provenientes da Coleção de Micro-organismos Entomopatogênicos "Oldemar Cardim Abreu" do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, os quais se encontram armazenados em "freezer"

a -12° C, na forma de conídios puros em tubos plásticos de 1,5 mL (Tabela 1)

Para a realização dos experimentos, os isolados de *M. anisopliae* foram repicados em placas de Petri, de 9,0 cm de diâmetro, contendo meio de cultura B.D.A. (Batata-Dextrose-Ágar). As placas foram mantidas em câmaras de germinação (B.O.D.) a 25 ± 1° C, umidade relativa 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 horas. O período de incubação foi de 10 dias, em média, e, após esse período, as placas foram armazenadas em geladeira (4° C) até a utilização nos experimentos.

Determinação da concentração letal (CL₉₀)

Foi utilizado como padrão o isolado IBCB 425 (*M. anisopliae* proveniente de solo de Iporanga, SP), utilizado em diversos programas de controle microbiano de pragas pelo Instituto Biológico.

As suspensões foram preparadas a partir da conidiogênese dos isolados em placas com o meio de cultura sólido B.D.A, descrito no item 3.1, com água destilada, estéril e espalhante adesivo (Tween 80) a 0,1%. Com o auxílio de um microscópio óptico e uma câmara de Neubauer, foi feita a contagem do número de conídios.

O experimento foi composto por cinco tratamentos contendo diferentes concentrações, 5 x 10⁶; 1 x 10⁷; 5 x 10⁷; 1 x 10⁸ e 5 x 10⁸ conídios/mL dos isolados considerados padrão, pulverizados em lagartas de *D. saccharalis* no 4° ínstar (1,5 cm de comprimento) com quatro repetições.

As lagartas da broca da cana-de-açúcar foram fornecidas pela Usina São João, sediada no Município de Araras, SP, e eram provenientes de uma criação de laboratório. A aplicação de 1 mL das suspensões do fungo *M. anisopliae* sobre as lagartas foi realizada com o auxílio de uma Torre de Potter adaptada, com pressão de 15 libras/pol.². Após a pulverização, as lagartas foram transferidas para pequenos potes plásticos (5 cm de altura e 4 cm de diâmetro) com tampas de rosca e tela, contendo um pedaço de colmo de cana-de-açúcar, os quais foram acondicionados em uma sala climatizada com temperatura de 25 ± 1° C, umidade relativa 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 horas.

As avaliações foram realizadas diariamente por um período de 15 dias, onde cada inseto morto era transferido para uma placa de Petri contendo um chumaço de algodão umedecido com água destilada, estabelecendo-se uma câmara úmida, a fim de proporcionar a extrusão dos fungos pelo tegumento do inseto. As placas foram mantidas em câmara climatizada B.O.D. com temperatura média de 25 ± 1° C, fotofase de 12 horas e umidade relativa de 70 ± 10%. Este procedimento é realizado para confirmação da mortalidade causada pelo entomopatogênico.

Tabela 1 - Identificação e procedência dos isolados do fungo *Metarhizium anisopliae*, utilizados nos experimentos com *Diatraea saccharalis*.

Isolado	Hospedeiro	Coletor	Localidade
IBCB 116	Solo	J.E.M. Almeida	Contagem, MG
IBCB 153	Solo	R. Cassol	Aral Moreira, MS
IBCB 154	Solo	R. Cassol	Guaraniaçu, PR
IBCB 155	Solo de gramado	R. Cassol	Cascavel, PR
IBCB 156	Solo	R. Cassol	Cascavel, PR
IBCB 158	Solo	R. Cassol	Cascavel, PR
IBCB 159	Solo	R. Cassol	Cascavel, PR
IBCB 167	Solo	R. Cassol	Cascavel, PR
IBCB 171	Solo de soja	R. Cassol	Aral Moreira, MS
IBCB 351	Solo de cana-de-açúcar	J.E.M. Almeida	Guariba, SP
IBCB 352	Solo de cana-de-açúcar	J.E.M. Almeida	Valparaíso, SP
IBCB 353	Solo de cana-de-açúcar	J.E.M. Almeida	Valparaíso, SP
IBCB 360	Solo de banana	L.G. Leite	Piedade, SP
IBCB 361	Solo de banana	L.G. Leite	Piedade, SP
IBCB 363	<i>Mahararva fimbriolata</i>	J.E.M. Almeida	Araras, SP
IBCB 380	<i>Mahararva fimbriolata</i>	L.G. Leite	Água Branca, SP
IBCB 382	Pão-de-galinha pastagem	J.E.M. Almeida	Passo Fundo, RS
IBCB 383	<i>Mahararva fimbriolata</i>	L.G. Leite	Água Branca, SP
IBCB 384	<i>Mahararva fimbriolata</i>	L.G. Leite	Sertãozinho, SP
IBCB 391	<i>Mahararva fimbriolata</i>	J.E.M. Almeida	Tabapuã, SP
IBCB 410	Solo de mata atlântica	E. Denardo	Iporanga, SP
IBCB 417	Solo de mata atlântica	E. Denardo	Iporanga, SP
IBCB 418	Solo de mata atlântica	E. Denardo	Iporanga, SP
IBCB 425	Solo de mata atlântica	E. Denardo	Iporanga, SP
IBCB 426	Solo de mata atlântica	E. Denardo	Iporanga, SP
IBCB 478	Solo de algodão	J.E.M. Almeida	Mogi das Cruzes, SP
IBCB 481	Solo de sorgo	L.G. Leite	Campinas, SP

A partir dos dados obtidos pela mortalidade confirmada dos insetos, por meio da análise de Probit, foi possível calcular e determinar a CL_{90} (concentração letal em conídios/mL a 90% dos insetos).

Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Etapa 1)

Com base nas concentrações selecionadas no experimento para determinação da CL_{90} , foram realizados ensaios de seleção, divididos em duas fases devido ao número de isolados (27 de *M. anisopliae*), sendo sua gr com fungo, o qual foi adicionado em um tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada mais espalhante adesivo (Tween 80) a 0,01% para a preparação de uma suspensão de conídios. As suspensões foram diluídas e quantificadas em câmara de Neubauer, com o auxílio do microscópio óptico com aumento de 400x.

Os valores de produção dos conídios foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de Duncan a 5% de probabilidade e as médias originais transformadas para análise por Raiz quadrada $x + 0,5$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da concentração letal (CL_{90})

Para o fungo *M. anisopliae*, foi possível observar, ao término das avaliações, que as maiores concentrações foram capazes de gerar as maiores mortalidades confirmadas, ou seja, para 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL foram obtidos 26 e 62% da mortalidade confirmada respectivamente (Tabela 2). Sendo que aos 10 dias das avaliações, a concentração letal 90 (CL_{90}) foi estimada em 5×10^8 conídios/mL (Fig. 1).

Estudando outras pragas que acometem a cultura da cana-de-açúcar, LOUREIRO *et al.* (2005a) observaram que a CL_{50} para ninfas da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar (*Mahararva fimbriolata*) pulverizadas com *M. anisopliae*, foi estimada em $1,2 \times 10^7$ conídios/mL.

REIS *et al.* (2001), avaliando a virulência de 3 isolados de *M. anisopliae* sobre adultos do carrapato *Amblyomma cajennense*, verificaram que as maiores mortalidades foram ocasionadas com valores de CL_{90} variando em $6,69 \times 10^9$, $3,77 \times 10^{10}$ e $6,7 \times 10^{10}$ conídios/mL.

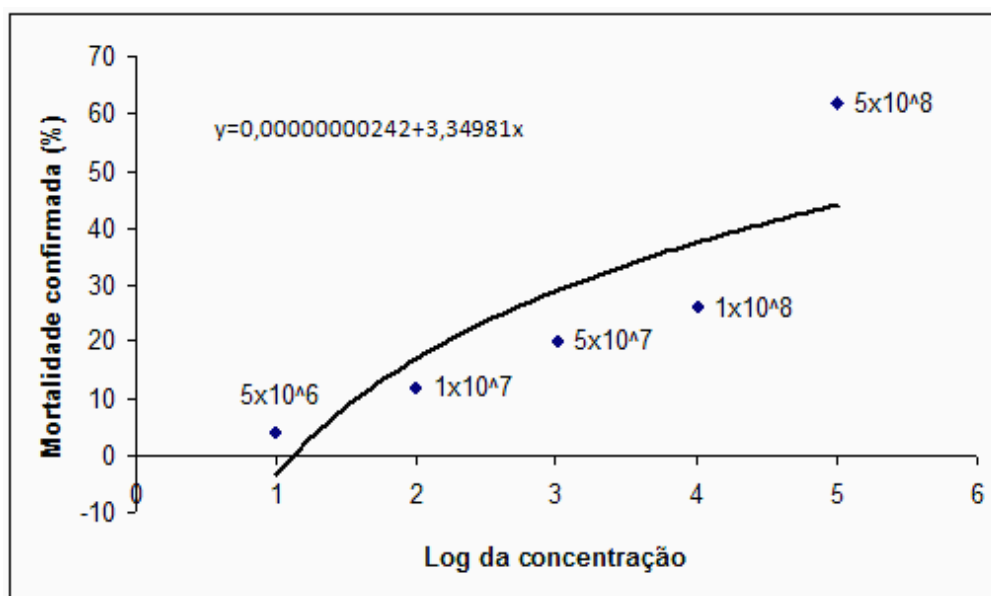


Fig. 1 - Mortalidade de lagartas de *D. saccharalis* 10 dias após a aplicação do isolado IBCB 66 de *Metarhizium anisopliae*, nas concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e 5×10^8 conídios/mL (Temp. 25° C, UR de 70% e fotofase de 12 horas).

Tabela 2 - Mortalidade confirmada (%) de *D. saccharalis* pelo fungo entomopatogênico *M. anisopliae* (Temp. 25° C, UR de 70% e fotofase de 12 horas).

Tratamentos	Patógeno <i>M. anisopliae</i> (IBCB 425)
5×10^6	4
1×10^7	12
5×10^7	20
1×10^8	26
5×10^8	62
Testemunha	0

Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Etapa 1)

Os resultados gerados pelas mortalidades confirmadas dos 27 isolados do fungo *M. anisopliae* evidenciam que todos são patogênicos à broca da cana-de-açúcar, pois a menor mortalidade foi de 49% do IBCB 158 (Tabela 3). Analisando a mesma tabela podemos observar que somente três isolados foram capazes de causar mortalidades confirmadas iguais ou superiores a 80%, quais sejam: IBCB 425 (82%), IBCB 351 (90%) e o IBCB 353 (94%). Todos os demais não se adequaram ao padrão de seleção pré-estabelecido, pois apresentaram mortalidades confirmadas abaixo de 79%.

O segundo experimento (Tabela 4) ficou caracterizado pelo fato de que dos 12 isolados testados, sete apresentaram mortalidades confirmadas acima de

80%, com destaque para o IBCB 417 que controlou 100% das lagartas de *D. saccharalis*, seguido pelo IBCB 418 com 96% de mortalidade confirmada.

Tabela 3 - Mortalidade acumulada (total e confirmada) após 15 dias da aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Temp. 25 ± 1° C e Umidade Relativa 70 ± 10% e fotofase de 12 horas).

Isolado	Nº total insetos	Mortalidade total (%)	Mortalidade confirmada (%)
IBCB 116	50	86	61
IBCB 153	50	63	59
IBCB 154	50	71	66
IBCB 155	50	55	54
IBCB 156	50	82	70
IBCB 158	50	66	49
IBCB 159	50	98	63
IBCB 167	50	59	55
IBCB 171	50	82	77
IBCB 351	50	81	90
IBCB 352	50	99	54
IBCB 353	50	99	94
IBCB 360	50	88	68
IBCB 361	50	77	68
IBCB 363	50	73	72
IBCB 425	50	85	82
Testemunha	50	2	0

ACEVEDO *et al.* (2007), estudando as interações entre diversos entomopatógenos e a broca da cana-de-

açúcar *D. saccharalis*, relataram variações nos índices de mortalidade e apontam um isolado como altamente promissor, pois esse foi capaz de provocar a mortalidade de 100% das lagartas em seu tratamento, corroborando os dados obtidos com o isolado IBCB 417.

FAVA *et al.* (2004) novamente apontam diferenças nos valores de mortalidades confirmadas de *D. saccharalis* pelo fungo *M. anisopliae*, quando aplicado em lagartas de 1° e 2° instar em concentrações de 1 a 3×10^8 conídios/mL em condições de laboratório.

Tabela 4 - Mortalidade acumulada (total e confirmada) após 15 dias da aplicação dos isolados de *Metarhizium anisopliae* em lagartas de *Diatraea saccharalis* (Temp. $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

Isolado	Nº total insetos	Mortalidade total (%)	Mortalidade confirmada (%)
IBCB 380	50	075	70
IBCB 382	50	81	78
IBCB 383	50	93	85
IBCB 384	50	97	96
IBCB 391	50	78	60
IBCB 410	50	92	84
IBCB 417	50	100	100
IBCB 418	50	97	96
IBCB 425	50	87	86
IBCB 426	50	78	72
IBCB 478	50	86	74
IBCB 481	50	85	80
Testemunha	50	2	0

Estas mesmas variações também puderam ser observadas em outros grupos de insetos. CINTRA *et al.* (2003) observaram mortalidades confirmadas entre 10 e 70% para ninfas da cigarra-de-café *Fidicina* sp. XAVIER; ÁVILA (2005), em teste de patogenicidade de alguns isolados ao percevejo castanho, também observaram variações nos valores das mortalidades confirmadas estando entre 10 e 78%. LOUREIRO *et al.* (2005b), selecionando isolados de *M. anisopliae* à cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata*, relatam que variações entre 10 a 90% também ocorreram em seus experimentos.

Foi observado que, dentre os 27 isolados de *M. anisopliae* testados, novamente 9 isolados apresentaram mortalidades confirmadas iguais ou superiores a 80%. Este valor foi adotado como padrão de seleção dos isolados com bom potencial para o controle da broca da cana-de-açúcar *D. saccharalis*. As mortalidades ocorreram principalmente entre o 5° e 12° dias após a aplicação da suspensão de conídios.

Quando as mortalidades confirmadas dos isolados são dispostas em uma distribuição de frequência (Fig. 2), podemos observar a sua separação em grupos de acordo com as porcentagens, onde 6 isolados controlam entre 41 a 60% das lagartas, 13 mostraram mortalidades entre 61 e 80% e outros 8 isolados de *M. anisopliae* alcançaram mortalidades entre 81 e 100%, sendo estes últimos selecionados para o controle de lagartas de *D. saccharalis*.

Esses dados corroboram com aqueles obtidos por LOUREIRO *et al.* (2005b), verificando que a grande maioria do isolados está abaixo do padrão estabelecido anteriormente e apenas uma minoria esta acima do padrão.

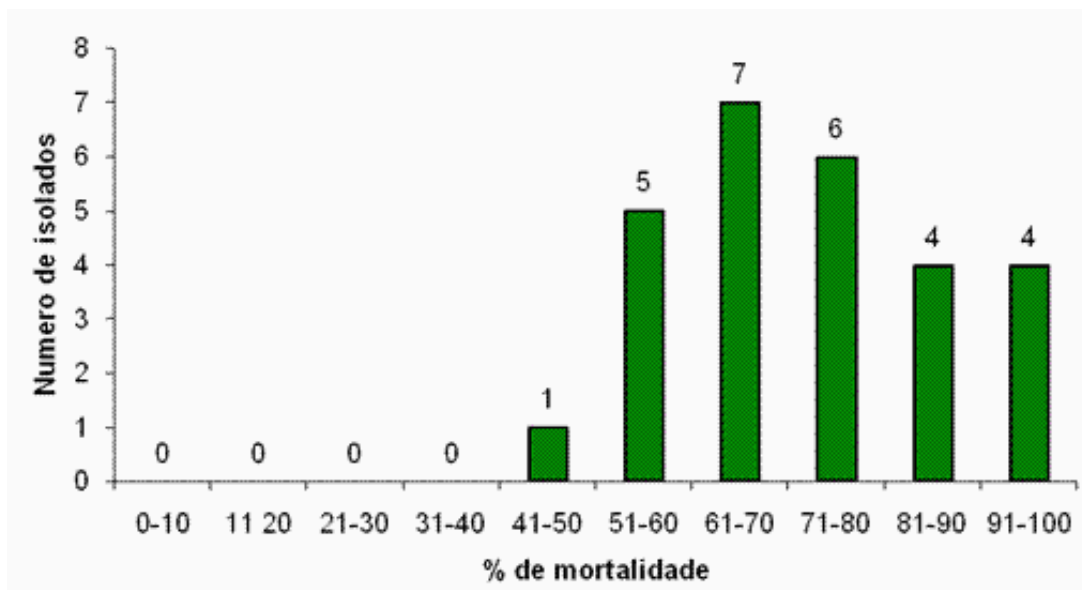


Fig. 2 - Distribuição de frequência de isolados de *M. anisopliae* em relação ao percentual de mortalidade confirmada causada em lagartas de *D. saccharalis*.

Os isolados de *M. anisopliae* selecionados foram: IBCB, 351, 353, 383, 384, 410, 417, 418, 425 e 481.

Seleção final dos isolados de *Metarhizium anisopliae* (Etapa 2)

Os isolados de *M. anisopliae* novamente apresentaram mortalidades iguais ou superiores a 62%, resultados semelhantes e/ou iguais ao primeiro teste de seleção realizado.

Os dados obtidos (Tabela 5) sugerem que houve diferença estatística apenas entre os isolados IBCB 384 e 425. Novamente podemos estabelecer uma relação positiva entre mortalidade confirmada e os valores para TL_{50} , pois foi possível observar que os menores tempos letais ocorreram para os isolados IBCB 384 e 383 com 6,47 e 6,83 dias, respectivamente, os quais provocaram as maiores porcentagens de mortalidades confirmadas, com 90 e 86%, respectivamente, sendo considerados como os mais promissores e virulentos.

Tabela 5 - Mortalidade média de lagartas de *Diatraea saccharalis* causada por isolados de *Metarhizium anisopliae* (Temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e Umidade Relativa $60 \pm 10\%$).

Isolados selecionados de <i>B. bassiana</i> ¹	Mortalidade média de lagartas (n = 5)	TL_{50} (Dias)
IBCB 351	7,40 \pm 0,89 ab	9,10
IBCB 353	7,40 \pm 2,07 ab	9,22
IBCB 383	8,60 \pm 0,54 ab	6,83
IBCB 384	9,00 \pm 0,00 a	6,47
IBCB 410	7,00 \pm 0,70 ab	10,25
IBCB 417	7,60 \pm 1,81 ab	8,66
IBCB 418	8,20 \pm 0,83 ab	8,47
IBCB 425	6,20 \pm 1,30 b	10,21
IBCB 481	7,80 \pm 0,83 ab	8,06

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Dados não transformados. CV = 17,0%.

FIGUEIREDO *et al.* (2002), estudando a patogenicidade de diferentes isolados de *M. anisopliae* sobre a broca gigante da cana de açúcar, puderam observar que os tempos letais a 50% da população de insetos variaram entre 7,3 a 17,9 dias e estes estavam inversamente relacionados com as crescentes mortalidades confirmadas obtidas, ou seja, existiu também uma correlação positiva entre menor tempo letal com a maior mortalidade.

Essas relações de acréscimo da mortalidade confirmada em função do decréscimo do tempo letal

também puderam ser observadas por SILVA *et al.* (2003) com *M. anisopliae* sobre lagartas de *Plutela xylostella*, por CÉSAR FILHO *et al.* (2001), com lagartas de *Alabama argillacea* pulverizadas com *M. anisopliae*.

Produção dos melhores isolados em arroz pré-cozido

Dentre os isolados que foram produzidos em arroz, o IBCB 417 e 481 com uma quantidade média de conídios por grama, respectivamente de $2,52$ e $2,46 \times 10^9$, foram os mais produtivos nesta fase do teste, pois diferiram estatisticamente apenas ao isolado IBCB 353, sendo que estes não diferiram significativamente dos demais isolados (Tabela 6).

Tabela 6 - Produção média de conídios dos isolados de *Metarhizium anisopliae* por grama de arroz pré-cozido. (Temperatura 25°C , Umidade Relativa 60%).

Isolados	Produção de conídios/g de arroz ($\times 10^9$) ^{1,2} (\pm EP)*
IBCB 351	1,67 \pm 0,54 ab
IBCB 353	1,31 \pm 0,59 b
IBCB 383	2,25 \pm 0,58 ab
IBCB 384	1,67 \pm 0,49 ab
IBCB 410	1,90 \pm 0,26 ab
IBCB 417	2,52 \pm 1,25 a
IBCB 418	2,20 \pm 0,46 ab
IBCB 425	2,29 \pm 0,38 ab
IBCB 481	2,46 \pm 1,06 a

*Erro padrão da média.

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. ²Médias originais, transformadas para análise por $\sqrt{x + 0,5}$.

LOUREIRO *et al.* (2005b), analisando a produção em arroz pré-cozido de isolados selecionados de *M. anisopliae* visando o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, observaram que a quantidade média de conídios variou entre 0,86 a $2,30 \times 10^{10}$ conídios/g para o isolado IBCB 425 sendo o mais produtivo, estando esses dados 10 vezes abaixo dos valores encontrados para o isolado IBCB 417 com $2,52 \times 10^9$ conídios/g de arroz.

Produzindo em condições semelhantes, TAKADA (2002) observou o rendimento médio de três isolados de *M. anisopliae* e constatou que os valores oscilaram entre 2,25 a $2,4 \times 10^8$ conídios por grama de arroz.

Os valores citados acima estão abaixo dos valores encontrados nos resultados dos testes de produção, porém, segundo TAMAI (1997), essas diferenças

na produção de conídios entre os isolados podem estar relacionadas com a dificuldade de se reproduzir, entre um experimento e outro, todas as condições disponíveis para o crescimento do fungo em arroz, tais como: umidade e tempo de cozimento do arroz, variações na temperatura e nível de contaminação.

Assim, considerando os mais altos valores do número de conídios por grama de arroz para o fungo *M. anisopliae*, os isolados com melhor potencial são o IBCB 417 e 481. Para ALVES (1998) a quantidade de conídios é um fator de seleção importante em um isolado, pois quanto maior sua produção maior será o potencial de inóculo, em determinada quantidade de arroz mais fungo a ser utilizada, viabilizando melhor o custo desse controle.

CONCLUSÕES

Todos os isolados testados são patogênicos à *D. saccharalis* em condições de laboratório. Os isolados mais virulentos de *M. anisopliae* são os IBCB 384, 383, 481, 418 e 417, sendo que a maior produção de conídios de *M. anisopliae* é obtida com os isolados IBCB 481 e 417.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento deste projeto e a Usina São João pela concessão das lagartas da broca da cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS

ACEVEDO, J.P.M.; SAMUELS, R.I.; MACHADO, I.R.; DOLINSKI, C. Interactions between isolates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* during infection of the sugar cane borer *Diatraea saccharalis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.96, p.187-192, 2007.

ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

CÉSAR FILHO, E.; MARQUES, E.J.; BARROS, R. Selection of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) and *Beauveria bassiana* (Bals.) isolates to control *Alabama argillacea* (Huebner) caterpillars. *Scientia Agrícola*, v.59, n.3, p.457-462, 2001.

CINTRA, E.R.R.; ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; SANO, A.H.; ZAPPELINI, L.O.; WENZEL, I.M.; AZEVEDO FILHO, J.A. Seleção de Isolados de

Metarhizium anisopliae para o controle da cigarra do café *Fidicina* sp. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.70, 2003. Suplemento 3. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 16., 2003, São Paulo. Resumo. 1CDROM.

FAVA, F.D.; IMWINKELRIED, J.M.; TRUMPER, E.V. Manejo del barrenador del tallo de maiz *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera:Crambidae) *Boletín del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária*, n.6, p.1-4, 2004.

FIGUEIRÊDO, M.F.S.; MARQUES, E.J.; LIMA, R.O.R.; OLIVEIRA, J.V. Screening of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. isolates against the giant borer of sugarcane *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) *Neotropical Entomology*, v.31, n.3, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SIVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Manual de entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA (São Paulo). Previsão da safra 2007/2008 de cana-de-açúcar. 2008. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/estatistica>>. Acesso em: 3 set. 2008.

LOUREIRO, E. de S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; PESSOA, L.G.A. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra a cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) em laboratório. *Neotropical Entomology*, v.34, n.5, p.791-798, 2005a.

LOUREIRO, E. de S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; PESSOA, L.G.A. Produção de isolados de *Metarhizium anisopliae*, selecionados para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 72, n. 4, p.469-472, 2005b.

PINTO, A. de S. *Controle de pragas da cana-de-açúcar*. Piracicaba, 2006. 64p. (Boletim Técnico. Biocontrol, n.1).

REIS, R.C.S.; MELO, D.R.; SOUZA, E.R.; BITTENCOURT, V.R.E.P. Ação *in vitro* de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em *Amblyoma* sp. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.53, n.5, p.544-547, 2001.

SILVA, V.C.A. Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotropical Entomology*, v.32, n.4, p.653-658, 2003.

TAKADA, H.M. *Patogenicidade e seleção de isolados de Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria*

bassiana (Balls.) Vuill. para o controle de *Oryzophagus oruzae* (Costa Lima, 1936) (Coleóptera: Curculionidae). 2002. 75f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.

TAMAI, M.A. Avaliação de fungos entomopatogênico para o controle de *Tetranychus urticae* Koch. 1997. 86f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

UDOP - UNIÃO DOS PRODUTORES DE BIOENERGIA. 2008. Disponível em: <http://www.udop.com.br/download/estatistica/acomp_safra_bra_0708_seg_levantamento.pdf>. Acesso em: 3 set. 2008.

UNICA - União da Agroindústria Canavieira de São Paulo. 2008. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/estatistica>>. Acesso em: 3 set. 2008.

XAVIER, L.M.S.; ÁVILA, C.J. Patogenicidade, DL50 e TL50 de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o percevejo castanho das raízes *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae). *Ciência Rural*, v.35, n.4, p.763-768, 2005.

Recebido em 24/11/08

Aceito em 18/1/09