

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO
DA BIODIVERSIDADE

EFEITO DE BIOINSETICIDAS COMERCIAIS UTILIZADOS NA CULTURA DA
CANA-DE-AÇÚCAR SOBRE O PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891)
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

CAMILA ROSSONI

DOURADOS, MS
(MARÇO/2013)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO
DA BIODIVERSIDADE

EFEITO DE BIOINSETICIDAS COMERCIAIS UTILIZADOS NA CULTURA DA
CANA-DE-AÇÚCAR SOBRE O PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891)
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

CAMILA ROSSONI

Orientadora: Dr^a. Elisângela de Souza Loureiro

Co-orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

DOURADOS, MS

(MARÇO/2013)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO
DA BIODIVERSIDADE

EFEITO DE BIOINSETICIDAS COMERCIAIS UTILIZADOS NA CULTURA DA
CANA-DE-AÇÚCAR SOBRE O PARASITOIDE *Cotesia flavipes* (CAMERON, 1891)
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

CAMILA ROSSONI

Orientadora: Dr^a. Elisângela de Souza Loureiro

Co-orientador: Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

DOURADOS, MS
(MARÇO/2013)

“Efeito de bioinseticidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar sobre o parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae)”

Por


CAMILA ROSSONI

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Entomologia


Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro
Orientadora – UFMS


Profa. Dra. Rosilda Mara Mussury Franco Silva
Membro Titular – UFGD


Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Membro Titular – UFGD


Prof. Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida
Membro Titular – Instituto Biológico de São Paulo

Aprovado em: 19 de março de 2013

Aos meus pais Vilmar José Rossoni e Vera Lúcia Sebben Rossoni. A minha irmã Regina Rossoni, a minha sobrinha Bianca Rossoni Kronbauer e ao meu noivo Samir Oliveira Kassab, pelos momentos de compreensão, convívio, amizade, respeito e amor incondicional compartilhados.

Aos meus familiares, amigos, colegas e professores,
Pelos ensinamentos, apoio, incentivo e companheirismo.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por estar a meu lado sempre me guiando no caminho certo e me dando forças para completar cada etapa da minha vida.

A Universidade Federal da Grande Dourados, em especial aos professores e funcionários, pela a oportunidade oferecida no curso de Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A Prof^a. Dr^a. Elisângela de Souza Loureiro, minha orientadora, pelo incentivo, confiança, apoio, amizade, auxílio nos experimentos e correções da dissertação.

Ao Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira, meu co-orientador, pela amizade, confiança, ajuda nos experimentos e sugestões na dissertação.

Aos membros da Banca examinadora Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida e Dr^a. Rosilda Mara Mussury Franco Silva pelas correções e considerações feitas e por estarem presente neste momento importante da minha formação.

Aos meus familiares, por estarem sempre me aconselhando e me protegendo nos momentos difíceis, me alegrando nos momentos de tristeza e me confortando nos momentos de desespero. A minha sogra Rosana Aparecida de Oliveira Kassab pelos bons conselhos a mim concedidos. Ao meu noivo Samir Oliveira Kassab por estar sempre ao meu lado dividindo sua sabedoria, experiência e por todo seu carinho.

A minha amiga Ana Paula Catalano Neto pelos momentos divertidos e descontraídos.

Aos meus amigos Daniele Costa Perassa, Rogério Barbosa e Maikon Ávalo Bernt pela colaboração na criação dos insetos e nos experimentos.

Aos graduandos, mestrandos, doutorandos e pós-doutorandos que fazem parte do LECOBIOLOG (Laboratório de Entomologia e Controle Biológico) pela compreensão.

As Empresas Biotech Controle Biológico Ltda.[®], Itaforte Bioprodutos[®], Ballagro Agro Tecnologia[®] e Biocana[®], pelos produtos concedidos para a realização dos experimentos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

SUMÁRIO

	página
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS.....	3
REFERÊNCIAS.....	4
Capítulo I - Efeito de bioinseticidas comerciais usados na cultura da cana-de-açúcar sobre adultos do parasitoide <i>Cotesia flavipes</i> (Hymenoptera: Braconidae).....	8
Resumo.....	9
Abstract.....	11
Introdução.....	13
Material e Métodos.....	15
Resultados.....	18
Discussão.....	21
Conclusão.....	23
Agradecimentos.....	24
Referências.....	24
Tabelas, Figuras e Legendas.....	31
Capítulo II - Efeitos da aplicação dos bioinseticidas comerciais a base de <i>Metarhizium anisopliae</i> e <i>Beauveria bassiana</i> (Hypocreales: Clavicipitaceae) sobre pupas de <i>Cotesia flavipes</i> (Hymenoptera: Braconidae).....	38
Resumo.....	39
Abstract.....	41
Introdução.....	43

Material e Métodos.....	44
Resultados.....	48
Discussão.....	50
Conclusão.....	53
Agradecimentos.....	54
Referências.....	54
Tabelas, Figuras e Legendas.....	58
Considerações finais.....	61
Normas da Revista Florida Entomologist.....	62

Esta dissertação está de acordo com as normas da ABNT, com adaptações para as “Normas para Redação de Dissertações e Teses” da Universidade Federal da Grande Dourados.

RESUMO GERAL

Dentre as pragas que podem causar injúrias à cana-de-açúcar, destacam-se as mais importantes *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) é produzido em escala comercial em laboratórios do Brasil e liberado em plantios de cana-de-açúcar mostrando-se eficiente na regulação de populações de *D. saccharalis*. *Mahanarva fimbriolata* atualmente pode ser controlada com o uso do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales: Clavicipitaceae). Assim o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de formulações comerciais à base de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *M. anisopliae* sobre as características biológicas do parasitoide *C. flavipes*. Para o desenvolvimento do primeiro experimento dez fêmeas do parasitoide foram expostas, em copos descartáveis com tampa, a uma superfície de contato de 9 cm² tratada com 1 mL das suspensões dos bioinseticidas comerciais Biometha WP Plus[®], Biovéria G[®], Metarril WP[®], Boverril WP[®] e Metiê WP[®], em três concentrações 1×10⁹ con.mL⁻¹, 5×10⁹ con.mL⁻¹ e 10×10⁹ con.mL⁻¹. Foram utilizadas, separadamente, duas superfícies de contato: folhas de cana-de-açúcar desinfestadas com solução de hipoclorito (0,02%) e papel filtro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, cada bioensaio foi composto por 16 tratamentos contendo 5 repetições com 10 fêmeas do parasitoide, totalizando 50 fêmeas por tratamento e a mortalidade foi avaliada diariamente após 24, 48, 72, 96 e 120 horas. De maneira geral, sobre a superfície da folha de cana-de-açúcar todos os bioinseticidas a base de *M. anisopliae* e *B. bassiana* causaram baixa mortalidade aos adultos de *C. flavipes* após 24 horas da aplicação. Apenas Biometha WP Plus[®] (*M. anisopliae*) sobre a superfície de contato papel filtro causou mortalidade acumulada mais alta que a testemunha para todas as concentrações testadas e Metiê WP[®] (*M. anisopliae*) na concentração de 1×10⁹ con.mL⁻¹ na avaliação de 48 horas depois da aplicação. Para os bioinseticidas a base do fungo *B. bassiana* em todas as concentrações, foram os mais eficientes não causando mortalidade 24 horas depois da aplicação. Analisando os tratamentos que causaram as menores mortalidades através de uma análise de regressão linear, foi observado que em ambos os tratamentos até 72 horas depois da aplicação ocorreram mortalidades abaixo de 30% nos adultos de *C. flavipes*, permitindo que o adulto do parasitoide sobreviva tempo suficiente para realizar

o parasitismo de *D. saccharalis*, podendo então ser realizadas liberações deste inimigo natural na mesma área onde se foi utilizada aplicações destes bioinseticidas sem que seja reduzida a eficiência no controle de *D. saccharalis*. O segundo experimento realizado com as pupas de *C. flavipes* foi composto pelos mesmos bioinseticidas nas mesmas concentrações e a testemunha sem aplicação dos entomopatógenos, totalizando 16 tratamentos, em um delineamento experimental inteiramente casualizado. Na primeira parte deste experimento cada tratamento foi representado por 10 massas de pupas de *C. flavipes* e cada repetição apresentou uma massa de pupas com potencial de emergência de 50 adultos do parasitoide. As características biológicas avaliadas foram: emergência, progênie, número de machos e fêmeas, longevidade de machos e fêmeas e parasitismo. Em uma segunda parte deste experimento foi avaliado a emergência dos adultos de *C. flavipes* oriundos das lagartas parasitadas anteriormente e a longevidade destes machos e fêmeas (Geração F1). Ocorreram reduções na longevidade das fêmeas no tratamento Metarril WP[®] $10 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$ e na longevidade dos machos nos tratamentos Metiê WP[®] $1 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$, Biometha WP Plus[®] $5 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$, Metarril WP[®] $10 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$, Biometha WP Plus[®] $1 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$, Metarril WP[®] $1 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$, Metiê WP[®] $10 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$ e Metarril WP[®] $5 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$ para produtos a base de *M. anisopliae*. Nos tratamentos com os produtos a base de *B. bassiana* a longevidade das fêmeas e dos machos foi menor para Boverril WP[®] $1 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$ e $10 \times 10^9 \text{ con.mL}^{-1}$, porém a redução não influenciou no parasitismo das fêmeas de *C. flavipes*. O parasitismo é a principal relação estabelecida entre o parasitoide e o hospedeiro. Relatando então que os fungos entomopatogênicos ao entrarem em contato com as pupas de *C. flavipes* este fato não vai influenciar no controle de *D. saccharalis* podendo então ser viável o uso conjunto destas duas formas de controle biológico na cultura da cana-de-açúcar.

ABSTRACT

Among the pests that can cause injuries to sugar cane, we highlight the most important *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) and *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) is produced on a commercial scale in laboratories in Brazil and released in plantations of sugar cane showing to be efficient in regulating populations of *D. saccharalis*. *Mahanarva fimbriolata* currently can be controlled using the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales: Clavicipitaceae). So the goal of this research was to evaluate the effect of commercial formulations based on *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae) and *M. anisopliae* on the biological characteristics of the parasitoid *C. flavipes*. For the development of the first experiment ten females of the parasitoid were exposed in disposable cups with lids, a contact surface of 9 cm² treated with 1 ml of the suspensions of commercial bioinsecticides Biometha WP Plus[®], Biovéria G[®], Metarril WP[®], Boverril WP[®] e Metiê WP[®] in three concentrations 1×10⁹ con.mL⁻¹, 5×10⁹ con.mL⁻¹ and 10×10⁹ con.mL⁻¹. Were used separately two contact surfaces, which are leaves of sugar cane, disinfected with hypochlorite solution (0.02%) and paper filter. The experimental design was randomized comprising, each test consisted of 16 treatments with 5 replications with 10 parasitoid females, totaling 50 females per treatment and mortality was assessed daily after 24, 48, 72, 96 and 120 hours. In general, on the surface of the sheet of sugar cane all the bioinsecticides base *M. anisopliae* and *B. bassiana* caused low mortality to adults of *C. flavipes* after 24 hours application. Only Biometha WP Plus[®] (*M. anisopliae*) on the contact surface of filter paper caused higher cumulative mortality than the control in all concentrations tested and Metiê WP[®] (*M. anisopliae*) at a concentration of 1×10⁹ con.mL⁻¹ in the evaluation 48 hours after application. For the bioinsecticides based on the fungus *B. bassiana* at all concentrations were the most effective and did not cause mortality 24 hours after application. Analyzing the treatments that caused low mortalities through a linear regression was observed in both treatments until 72 hours after application occurred mortalities below 30% in adult of *C. flavipes*, allowing the adult parasitoid survive long enough to perform the parasitism of *D. saccharalis*, can then be performed releases of this natural enemy in the same area where applications of these biopesticides was used without being reduced efficiency in controlling *D. saccharalis*. The second

experiment with the pupae of *C. flavipes* was composed of the same bioinsecticides in the same concentrations and the control without application of entomopathogens, totaling 16 treatments in a completely randomized design. In the first part of this experiment each treatment was represented by 10 mass of pupae *C. flavipes* and each repetition with a mass of pupae with potential emergence of 50 adults parasitoid. The biological characteristics evaluated: emergency, progeny, number of males and females, male and female longevity and parasitism. In a second part of this experiment was evaluated adult emergence of *C. flavipes* from the previously parasitized caterpillars and longevity of males and females (F1 generation). Commercial products Biometha WP Plus[®] (*M. anisopliae*) and Boverril WP[®] (*B. bassiana*) in the three concentrations had accumulated the highest mortality in the evaluations of 48 and 72 hours after application for both the contact surfaces. There were reductions in longevity of females in treatment Metarril WP[®] $10 \times 10^9 \text{ con mL}^{-1}$ and longevity of males in treatments Metiê WP[®] $1 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$, Biometha WP Plus[®] $5 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$, Metarril WP[®] $10 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$, Biometha WP Plus[®] $1 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$, Metarril WP[®] $1 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$, Metiê WP[®] $10 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$ and Metarril WP[®] $5 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$ for products based on *M. anisopliae*. In the treatments with products based on *B. bassiana* the longevity of females and males was lower for Boverril WP[®] $1 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$ and $10 \times 10^9 \text{ con. mL}^{-1}$, but the reduction did not affect the parasitism of females of *C. flavipes*. Parasitism is the primary relationship between the host and parasitoid. Reporting that entomopathogenic fungi on contact with the pupae of *C. flavipes* this fact will not influence the control of *D. saccharalis* may then be feasible using interrelationship of these two forms of biological control in the culture of sugar cane.

INTRODUÇÃO GERAL

A área cultivada de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) no Brasil encontra-se em um momento de grande expansão. O setor sucroalcooleiro apresenta posição de destaque no cenário socioeconômico brasileiro (UPON, 2012), dada sua importância na geração de renda e empregos para o País. Na safra de 2012/2013, a indústria brasileira beneficiou 295,81 milhões de toneladas para a manufatura do etanol e 300,82 milhões para a produção de açúcar (CONAB, 2012).

O Estado de Mato Grosso do Sul (MS) ocupa a 5^a posição no ranking nacional da produção de cana-de-açúcar e na última safra o cultivo da cultura aumentou. O Estado de MS apresenta 22 usinas em funcionamento, 3 em instalação e 1 unidade fase de estudo (BIOSUL, 2012). Devido à importância desta cultura, os insetos podem causar injúrias as folhas, colmos e raiz e quando suas populações aumentam de maneira desordenada, por causa de favorecimento das condições climáticas e ausência de inimigos naturais, esses causam prejuízos econômicos sendo denominadas pragas (PINTO et al., 2009).

Dentre as pragas que podem danificar plantas de cana-de-açúcar, destacam-se as mais importantes *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) conhecida como broca-da-cana e *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) denominada popularmente como cigarrinha-da-raiz (MENDONÇA, 2005; TIAGO et al., 2011; DINARDO-MIRANDA et al., 2011; KASSAB et al., 2012).

Diatraea saccharalis em sua fase larval causa prejuízos diretos como a abertura de galerias que vão ocasionar perda de biomassa na cana-de-açúcar e provocar a morte das gemas apicais (BOTELHO & MONTEIRO, 2011) cujo sintoma é conhecido por "coração morto". A utilização de inseticidas químicos é pouco eficiente no controle de *D. saccharalis*, pois lagartas de 3^o ínstar habitam galerias no colmo da cana-de-açúcar (PINTO et al., 2006; CRUZ et al., 2011). Assim, há necessidade de alternativas biológicas para o controle desta praga e o interesse pela utilização de parasitoides tem aumentado.

Himenópteros parasitoides abrangem entre meio a dois milhões de espécies sendo o grupo mais rico em espécies de insetos (GODFRAY, 2004). Pesquisas demonstraram o potencial destes insetos em causar mortalidade nas populações de *D. saccharalis* (LV et al., 2011).

O primeiro parasitoide utilizado no controle de *D. saccharalis*, em cana-de-açúcar foi a mosca cubana *Lixophaga diatraea* Townsend, 1916 (Diptera: Tachinidae) introduzida nos Estados Unidos em 1915 (BOTELHO, 1992). Na década de 50 foi introduzida no Estado de São Paulo e em 1973, a mosca *L. diatraea* foi levada para canaviais da região nordeste, porém este inimigo natural apresentou baixa eficiência no controle de *D. saccharalis* (PLANALSUCAR, 1973). Em 1932, dois outros parasitoides da broca-da-cana foram registrados na região Amazônica: *Paratheresia claripalpis* Van Der Wulp, 1896 (Diptera: Tachinidae) e *Metagonistylum mimense* Townsend, 1927 (Diptera: Tachinidae) (BOTELHO, 1992). Atualmente, o controle biológico tem sido realizado por meio do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) e *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sendo o último utilizado para o controle de ovos de *D. saccharalis* (NIYIBIGIRA et al., 2004; BROGLIO-MICHELETTI et al., 2007).

O parasitoide *C. flavipes* tem sido produzido em escala comercial em laboratórios do Brasil e liberado em plantios comerciais de cana-de-açúcar mostrando-se eficiente na regulação de populações de *D. saccharalis* (VACARI et al., 2012). Este parasitoide é liberado de forma inundativa em mais de três milhões de hectares e a utilização para o controle de *D. saccharalis* na cana-de-açúcar é o maior programa de controle biológico com parasitoides do mundo (VACARI & DE BORTOLI, 2010; SIMÕES et al., 2012).

Outra alternativa de controle para regular populações de insetos é a utilização de fungos entomopatogênicos, em canaviais brasileiros, cuja ação natural, aplicações inundativas e inoculativas tem se mostrado importante alternativa para reduzir populações de pragas agrícolas (KURTTI & KEYHANI, 2008; ZHANG & XIA, 2008). Os fungos entomopatogênicos se destacam por ocasionar aproximadamente 80% das doenças em insetos e por apresentar várias vantagens em relação aos demais métodos de controle, como alta variabilidade genética, infecção em diferentes estádios do desenvolvimento do hospedeiro, penetração via tegumento e propágulos de alta capacidade de disseminação no campo (ALVES, 1998).

Diatraea saccharalis é suscetível aos fungos entomopatogênicos e os testes realizados no campo, com a espécie *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae) causou mortalidade média de 44 e 89% para as concentrações de 1×10^{13} conídios.ha⁻¹ e 5×10^8 conídios.mL⁻¹, respectivamente (ALVES, 1998; WENZEL et al., 2006). Oliveira et al. (2008) demonstraram que o uso

de suspensões fúngicas de *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales: Clavicipitaceae), em doses subletais, comprometeu as características biológicas de *D. saccharalis*, tais como longevidade, fecundidade e viabilidade de ovos.

Mahanarva fimbriolata é outra importante praga da cana-de-açúcar e o uso do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* para o controle de *M. fimbriolata* é eficiente, economicamente viável e ecologicamente sustentável (MENDONÇA, 2005).

Neste contexto, na cultura da cana-de-açúcar podem ocorrer interações entre os agentes de controle microbiano (fungos entomopatogênicos) utilizados no controle de *M. fimbriolata* e outros insetos-praga, com o parasitoide *C. flavipes* empregados no combate de *D. saccharalis*. Estudos demonstraram que os fungos entomopatogênicos podem causar impacto sobre o desenvolvimento de parasitoides e outros insetos não-alvo (ALVES, 1998; KIM, 2005; LOUREIRO & MOINO JUNIOR, 2007; ALVES & LOPES, 2008). Estes agentes de controle biológico podem agir sinergicamente ou antagonicamente. Interações sinérgicas entre patógenos e inimigos naturais aumentam a eficácia de controle, considerando que interações antagonicas as reduzem (FUENTES-CONTRERAS & NIEMEYER, 2000; STOLZ et al., 2002). As interações entre hospedeiro-parasitoide-patógeno estão presentes em muitos sistemas agrícolas e podem causar efeitos prejudiciais sobre populações e comunidades ecológicas. Assim entender os padrões de mortalidade e as interações entre fungos entomopatogênicos e inimigos naturais é importante para se aprimorar programas de controle biológico e auxiliar na seleção de entomopatógenos específicos, não patogênicos a insetos úteis dentro do manejo integrado de pragas (ALMEIDA et al., 1998; SANTOS JR. et al., 2006).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar se os bioinseticidas comerciais a base de *M. anisopliae* e de *B. bassiana* interferem nas características biológicas do parasitoide *C. flavipes*.

Objetivos específicos

Avaliar se os bioinseticidas comerciais a base de *M. anisopliae* e de *B. bassiana* interferem na mortalidade dos adultos do parasitoide *C. flavipes*.

Avaliar se os bioinseticidas comerciais a base de *M. anisopliae* e de *B. bassiana* quando aplicados sobre as pupas do parasitoide *C. flavipes* interferem na emergência, longevidade e parasitismo deste inimigo natural.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B.; Jr MOINO, A.; LOPES, R.B. Controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) com iscas Termitrap impregnadas com inseticidas e associadas ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Anais da Sociedade Entomológica**, v.27, p.639-644, 1998.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. (Ed.). *In: Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: Fealq, 1998. p. 289-381.

ALVES, S.B.; LOPES, R.B. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. (Ed.). *In: Controle Microbiano de Pragas na América Latina*. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 279-302.

BIOSUL. Associação dos Produtores de Bioenergia de Mato Grosso do Sul. Unidades Associadas. 2012. Disponível em <http://www.biosulms.com.br/associados>. Acesso em: 27 out. 2012.

BOTELHO, P.S.M. Quinze anos de controle biológico da *Diatraea saccharalis* utilizando parasitoides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 255-262, 1992.

BOTELHO, A.A.A.; MONTEIRO, A.C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v.70, p.361-369, 2011.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; PEREIRA-BARROS, J.L.; SANTOS, A.J.N.; CARVALHO, L.W.T.; CARVALHO, L.H.T.; OLIVEIRA, C.J.T. Effect of the number of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults released by successive weeks, to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 53-58, 2007.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Dados sobre projeção e consumo da cana-de-açúcar. 2012. Disponível em <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 23 out. 2012.

CRUZ, I.; REDOAN, A.C.; SILVA, R.B.; FIGUEIREDO, M.L.C.; PENTEADO-DIAS, A.M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, v.68, p.252-254, 2011.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; FRACASSO, J.V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, v.70, p.577-585, 2011.

FUENTES-CONTRERAS, E.; NIEMEYER, H.M. Effect of wheat resistance, the parasitoid *Aphidius rhopalosiphi*, and the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidis*, on population dynamics of the cereal aphid *Sitobion avenae*. **Entomology**, v. 97, p.109-114, 2000.

GODFRAY, H.C.J. Parasitoids. **Current Biology**, v.14, p. 456-456, 2004.

KASSAB, S.O.; LOUREIRO, E.S.; BARBOSA, R.H.; DA FONSECA, P.R.B; MOTA, T. A. ; ROSSONI, C. Alteração no método de amostragem de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hem.: Cercopidae) e avaliação da eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hyp.: Clavicipitaceae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 621-625, 2012.

KIM, J.J.; KIM, K.C.; ROBERTS, D.W. Impact of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* on development of an aphid parasitoid, *Aphidius colemani*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.88, p.254-256, 2005.

KURTTI, T.J.; KEYHANI, N.O. Intracellular infection of tick cell lines by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Microbiology**, v.154, p.1700-1709, 2008.

LOUREIRO, E.S.; MOINO JUNIOR, A. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos a *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). **BioAssay**, v.2, p.1-8, 2007.

LV, J.; WILSON, L.T.; BEUZELIN, J.M.; WHITE, W.H.; REAGAN, T.E.; WAY, M.O. Impact of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as an augmentative biocontrol agent for the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) on rice. **Biological Control**, v.56, p.159-169, 2011.

MENDONÇA, A.F. **Cigarrinhas da cana-de-açúcar: Controle biológico**. Maceió: Insecta, 2005, 317 p.

NIYIBIGIRA, E.I.; OVERHOLT, W.A.; STOUTHAMER, R. *Cotesia flavipes* **Brasil açucareiro** Cameron (Hymenoptera: Braconidae) does not exhibit complementary sex determination (ii) Evidence from laboratory experiments. **Applied Entomology and Zoology**, v.39, p.717-725, 2004.

OLIVEIRA, M.A.P DE.; MARQUES, E. J.; TEIXEIRA, V.W.; BARROS, R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). **Acta Scientiarum: Agronomy**, v.30, p.220-224, 2008.

PINTO, A.S.; GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M. Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. **Controle Biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: CP2, 2006. p.65-74.

PINTO, A. de S.; BOTELHO, P.S.M.; OLIVEIRA, H.N. de. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP2, 2009.160 p.

PLANALSUCAR. Novo lote de parasitos para Alagoas. **Brasil açucareiro**. Rio de Janeiro, v. 82, p. 1, 1973.

SANTOS Jr., H.J.G.; MARQUES, E.J.; BARROS, R.; GONDIM Jr., M.G.C. Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e o Parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre Larvas da Traça-das-Crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, v.35, p.241-245, 2006.

SIMÕES, R.A.; LETÍCIA, R.G.; BENTO, J.M.S.; SOLTER, L.F.; DELALIBERA Jr., I. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema sp.* (Microsporidia: Nosematidae). **Biological Control**, v.63, p.164-171, 2012.

STOLZ, I.; NAGEL, P.; LOMER, C.; PEVELING, R. Susceptibility of the hymenopteran parasitoids *Apoanagyrus* (= *Epidinocarsis*) *lopezi* (Encyrtidae) and *Phanerotoma* sp. (Braconidae) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biocontrol Science and Technology**, v.12, p.349-360, 2002.

TIAGO, P.V.; SOUZA, H.M.L.; MOYSÉS, J.B.; OLIVEIRA, N.T.; LIMA, E.A.L.A. Differential pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and the control of the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.54, p.435-440, 2011.

União dos Produtores de Bioenergia (UPON). Evolução da produtividade da cana-de-açúcar: safras 2005/2006 a 2010/2011. 2012. <http://www.udop.com.br/download/estatistica/area_cultivada/01mar12_evolucao_produktividade.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2013.

VACARI, A.M.; DE BORTOLI, S.A. Situação atual e perspectivas da comercialização de agentes de controle biológico no Brasil. In: BUSOLI, A.C.; ANDRADE, D.J.; JANINI, J.C.; BARBOSA, C.L.; FRAGA, D.F.; SANTOS, L.C.; RAMOS, T.O.; PAES, V.S. (Eds.), **Tópicos em Entomologia Agrícola III**. Gráfica e Editora Multipress. Jaboticabal, 2010. p.91-102.

VACARI, A.M.; DE BORTOLI, S.A.; BORBA, D.F.; MARTINS, M.I.E.G. Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. **Biological Control**, v.63, p.102-106, 2012.

WENZEL, I.M.; GIOMETTI, F.H.C.; ALMEIDA, J.E.M. Patogenicidade do isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* à broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, p.259-261, 2006.

ZHANG, S.; XIA, Y. Identification of genes preferentially expressed during microcycle conidiation of *Metarhizium anisopliae* using suppression subtractive hybridization. **Federation of European Microbiological Societies**, v.286, p.71-77, 2008.

CAPÍTULO I

Efeito de bioinseticidas comerciais utilizados na cultura da cana-de-açúcar sobre adultos do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)

1 Breve cabeçalho: Efeito de bioinseticidas sobre adultos de *Cotesia flavipes*

2
3 Por favor, Endereçe a correspondência para:

4 Camila Rossoni
5 Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
6 Universidade Federal da Grande Dourados
7 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul.
8 e-mail: camilasrossoni@gmail.com
9

10 EFEITO DE BIOINSETICIDAS COMERCIAIS UTILIZADOS NA CULTURA DA
11 CANA-DE-AÇÚCAR SOBRE ADULTOS DO PARASITOIDE *Cotesia flavipes*
12 (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

13
14 CAMILA ROSSONI¹, ELISÂNGELA DE SOUZA LOUREIRO² E FABRICIO
15 FAGUNDES PEREIRA¹

16
17 ¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande
18 Dourados, 79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

19 ²Campus de Chapadão do Sul, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79.560-
20 000, Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul, Brasil.

21
22
23
24
25
26
27
28 Autor de correspondência; E-mail: camilasrossoni@gmail.com
29

RESUMO

30
31
32 Entender os padrões de mortalidade e as interações entre fungos entomopatogênicos e
33 parasitoides é importante para se aprimorar programas de controle biológico de insetos.
34 Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito de formulações comerciais à base de *Beauveria*
35 *bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales:
36 Clavicipitaceae) sobre a mortalidade do parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera:
37 Braconidae). Para o desenvolvimento experimental, dez fêmeas de *C. flavipes* foram expostas,
38 em copos descartáveis com tampa, a uma superfície de contato de 9 cm² tratada com 1 mL
39 das suspensões dos bioinseticidas comerciais Biometha WP Plus[®], Biovéria G[®], Metarril WP
40 [®], Boverril WP[®] e Metiê WP[®], em três concentrações 1×10⁹ con.mL⁻¹, 5×10⁹ con.mL⁻¹ e
41 10×10⁹ con.mL⁻¹. Foram utilizadas, separadamente, duas superfícies de contato: folhas de
42 cana-de-açúcar desinfestadas com solução de hipoclorito (0,02%) ou papel filtro. O
43 delineamento experimental foi inteiramente casualizado, cada bioensaio foi composto por 16
44 tratamentos contendo 5 repetições com 10 fêmeas do parasitoide, totalizando 50 fêmeas por
45 tratamento e a mortalidade foi avaliada diariamente após 24, 48, 72, 96 e 120 horas. De
46 maneira geral, sobre a superfície da folha de cana-de-açúcar todos os bioinseticidas a base de
47 *M. anisopliae* e *B. bassiana* causaram menor mortalidade aos adultos de *C. flavipes* após 24
48 horas da aplicação. Apenas Biometha WP Plus[®] (*M. anisopliae*) sobre a superfície de contato
49 papel filtro causou mortalidade acumulada maior que a testemunha para todas as
50 concentrações testadas e Metiê WP[®] (*M. anisopliae*) na concentração de 1×10⁹ con.mL⁻¹ na
51 avaliação de 48 horas depois da aplicação. Para os bioinseticidas a base do fungo *B. bassiana*
52 em todas as concentrações, foram os menos patogênicos não causando mortalidade 24 horas
53 depois da aplicação. Analisando os tratamentos que causaram as menores mortalidades
54 através de uma análise de regressão linear, foi observado que em ambos os tratamentos até 72

55 horas depois da aplicação ocorreram mortalidades abaixo de 30% nos adultos de *C. flavipes*,
56 permitindo que o adulto do parasitoide sobreviva tempo suficiente para realizar o parasitismo
57 de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), podendo então ser realizadas liberações de
58 *C. flavipes* na mesma área onde se foi utilizado aplicações destes bioinseticidas sem que seja
59 reduzida a eficiência no controle de *D. saccharalis*.

60

61 Palavras-chave: Controle biológico, *Saccharum officinarum*, *Diatraea saccharalis*,
62 entomopatígeno, parasitoide larval.

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

ABSTRACT

80
81
82 Understand the mortality patterns and interactions between fungi and parasitoids are
83 important to enhance biological control programs of insects. Thinking about it, the goal of this
84 research was to evaluate the effect of commercial formulations based on *Beauveria bassiana*
85 (Hypocreales: Clavicipitaceae) and *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) on
86 the mortality of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). For the
87 experimental development ten females *C. flavipes* were exposed in disposable cups with lids,
88 a contact surface of 9 cm² treated with 1 ml of the suspensions of commercial bioinsecticides
89 Biometha WP Plus[®], Biovéria G[®], Metarril WP[®], Boverril WP[®] e Metiê WP[®] in three
90 concentrations 1×10⁹con.mL⁻¹, 5×10⁹con.mL⁻¹ and 10×10⁹con.mL⁻¹. Were used separately
91 two contact surfaces, which are leaves of sugar cane, disinfected with hypochlorite solution
92 (0.02%) or paper filter. The experimental design was randomized comprising, each test
93 consisted of 16 treatments with 5 replications with 10 parasitoid females, totaling 50 females
94 per treatment and mortality was assessed daily after 24, 48, 72, 96 and 120 hours. In general,
95 on the surface of the sheet of sugar cane all the bioinsecticides base *M. anisopliae* and *B.*
96 *bassiana* caused less mortality to adults of *C. flavipes* after 24 hours application. Only
97 Biometha WP Plus[®] (*M. anisopliae*) on the contact surface of filter paper caused more
98 cumulative mortality than the control in all concentrations tested and Metiê WP[®] (*M.*
99 *anisopliae*) at a concentration of 1×10⁹ con.mL⁻¹ in the evaluation 48 hours after application.
100 For the bioinsecticides based on the fungus *B. bassiana* at all concentrations were the less
101 pathogenic did not cause mortality 24 hours after application. Analyzing the treatments that
102 caused low mortalities through a linear regression was observed in both treatments until 72
103 hours after application occurred mortalities below 30% in adult of *C. flavipes*, allowing the
104 adult parasitoid survive long enough to perform the parasitism of *Diatraea saccharalis*

105 (Lepidoptera: Crambidae), can then be performed releases of *C. flavipes* in the same area
106 where applications of these biopesticides was used without being reduced efficiency in
107 controlling *D. saccharalis*.

108

109 Keywords: Biological control, *Saccharum officinarum*, *Diatraea saccharalis*,
110 entomopathogen, larval parasitoid.

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129 O Setor sucroalcooleiro é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e
130 atualmente 8 milhões de hectares são cultivados com cana-de-açúcar no Brasil. A cultura da
131 cana-de-açúcar encontra-se em expansão, pois o Brasil produz e exporta açúcar e etanol. O
132 Estado de Mato Grosso do Sul é o quinto produtor do ranking nacional e o cultivo da
133 monocultura aumentou 15,27% em área plantada na safra 2012/2013 (Conab 2012).

134 O crescimento das áreas destinadas ao cultivo de cana-de-açúcar pode favorecer a
135 incidência de populações de insetos praga, dentre eles destacam-se a cigarrinha-da-raíz
136 *Mahanarva fimbriolata* Stål (Hemiptera: Cercopidae) e a broca da cana-de-açúcar *Diatraea*
137 *saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) (Pinto et al. 2009; Kassab et al. 2012; Vacari
138 et al. 2012).

139 *Diatraea saccharalis* é uma das principais pragas da cultura da cana-de-açúcar no
140 Brasil (Dinardo-Miranda et al. 2011). As injúrias de indivíduos desta espécie promovem
141 prejuízos diretos por meio da abertura de galerias no caule e indiretos devido às infestações
142 de micro-organismos, resultando em perdas na produção de açúcar e álcool, ocasionando
143 perda de biomassa e provocando a morte das gemas apicais da cana-de-açúcar cujo sintoma é
144 conhecido por "coração morto" (Botelho & Monteiro 2011).

145 O controle biológico ajuda a reduzir populações de *D. saccharalis* e dentre seus
146 inimigos naturais destacam-se os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin
147 (Hypocreales: Clavicipitaceae), *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales:
148 Clavicipitaceae) e o parasitoide *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae)
149 (Oliveira et al. 2008; Vacari & De Bortoli 2010). O parasitoide é utilizado com sucesso no
150 controle de *D. saccharalis* minimizando os danos, devido à capacidade deste himenóptero em
151 buscar e localizar seu hospedeiro no interior de colmos de cana-de-açúcar, além da facilidade
152 de criação massiva deste inimigo natural (Zappelini et al. 2010).

153 *Mahanarva fimbriolata* também se destaca como uma das principais pragas da cana-
154 de-açúcar (Barbosa et al. 2011). A mecanização da colheita das áreas destinadas ao cultivo da
155 cana-de-açúcar proporcionou o acúmulo de palhada sobre o solo e os restos culturais
156 associados à elevada temperatura e umidade favoreceu o desenvolvimento das populações de
157 *M. fimbriolata* (Dinardo-Miranda et al. 1999; Dinardo-Miranda et al. 2003; Dinardo-Miranda
158 et al. 2007). O aumento no número de cigarrinhas promove perdas significativas na
159 produtividade e qualidade da cana-de-açúcar (Dinardo-Miranda et al. 2000; Dinardo-Miranda
160 et al. 2002; Madaleno et al. 2008).

161 *Metarhizium anisopliae* também é utilizado no controle de *M. fimbriolata*, reduzindo a
162 população da praga a níveis inferiores aos de dano econômico (Loureiro et al. 2005; Dinardo-
163 Miranda et al. 2006; Almeida et al. 2007; Alves & Lopes 2008; Loureiro et al. 2012).

164 Estudos relacionados à interação dos agentes de controle como fungos
165 entomopatogênicos e parasitoides necessitam de pesquisas para esclarecer a coexistência de
166 ambos no mesmo ambiente, definindo a forma de suas interações, sejam elas sinérgicas ou
167 não (Alves 1998; Santos Jr. et al. 2006a; Hayashida et al. 2012). Ressalta-se ainda, que o
168 sucesso de programas de controle biológico depende do entendimento mais abrangente
169 possível sobre os organismos envolvidos, tanto de inimigos naturais como seus hospedeiros,
170 levando em conta os demais fatores que podem afetar o desenvolvimento destes agentes, para
171 que sua utilização seja eficiente (Magalhães et al. 1998; Pereira et al. 2010).

172 O uso de agentes de controle biológico tem sido frequente para o manejo das
173 populações de insetos-praga na cultura da cana-de-açúcar (Goebel & Sallam 2011). Os fungos
174 *B. bassiana* e *M. anisopliae* já foram isolados de espécies de microhimenópteros parasitoides,
175 enfatizando a necessidade de avaliar os possíveis efeitos negativos destes entomopatógenos
176 sobre estes inimigos naturais (De La Rosa et al. 2001; Oliveira et al. 2008). O objetivo desta
177 pesquisa foi investigar os efeitos na mortalidade da fêmea adulta de *C. flavipes* quando

178 expostas a produtos comerciais a base de *M. anisopliae* e de *B. bassiana*, fungos
179 entomopatogênicos mais utilizados para controle de pragas em canaviais.

180

181 MATERIAL E MÉTODOS

182

183 O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico
184 (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Laboratórios de Microbiologia e
185 Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade
186 Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, com as seguintes
187 etapas:

188

189 Obtenção das formulações comerciais a base de *M. anisopliae* e *B. bassiana*

190

191 As formulações comerciais utilizadas no experimento foram Biometha WP Plus[®]
192 isolado PL 43, pó molhável; Biovéria G[®], arroz esporulado; Metarril WP[®] ESALQ E9 e
193 Boverril WP[®] ESALQ PL 63, ambas pó molhável e Metiê WP[®] IBCB 425, pó molhável,
194 fornecidas pelas empresas, Biotech Controle Biológico Ltda., Itaforte BioProdutos e Ballagro
195 Agro Tecnologia respectivamente. Todas as formulações comerciais obtiveram mais de 95%
196 de viabilidade dos esporos.

197

198 Criação do hospedeiro *D. saccharalis*

199

200 Ovos de *D. saccharalis* da criação do LECOBIOL foram colocados em frascos de
201 vidro (8,5 cm de diâmetro e 13 cm de altura) contendo dieta artificial a base de germe de
202 trigo, farelo de soja e levedura de cana para alimentação das lagartas recém eclodidas, onde

203 permaneceram até iniciado o último instar. Essas lagartas foram transferidas para placas de
204 Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura) com dieta de realimentação a base
205 de farelo de soja e levedura de cana até a formação das pupas. As pupas foram recolhidas,
206 selecionadas por características morfológicas e acondicionadas em potes plásticos telados,
207 permanecendo até a fase adulta. Os adultos foram separados em casais com 20 machos e 30
208 fêmeas, e colocados em gaiolas de tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 22 de altura). As
209 gaiolas foram fechadas com papel sulfite e elástico, revestidas internamente com folhas de
210 papel sulfite como substrato para oviposição sendo os ovos coletados diariamente, lavados
211 com solução de sulfato de cobre e armazenados em câmara climatizada à temperatura de
212 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas, segundo uma adaptação da
213 metodologia proposta por Parra (2007).

214

215 Criação do parasitoide *C. flavipes*

216

217 Lagartas de *D. saccharalis* da criação do LECOBIOL foram utilizadas para a criação
218 de *C. flavipes*, parasitoide que foi concedido pela empresa Biocana[®]. Lagartas de *D.*
219 *saccharalis* de 4^o instar foram individualizadas e expostas ao parasitismo por uma fêmea de *C.*
220 *flavipes* acasalada com 24 horas de emergência. Após o parasitismo, as lagartas foram
221 transferidas para placas de Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura) em
222 número de quatro por placa contendo uma porção de dieta de realimentação. As placas foram
223 acondicionadas em sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de
224 14 horas até a formação das pupas de *C. flavipes*. Após a formação das pupas do parasitoide,
225 estas foram removidas e acondicionadas em copos descartáveis com tampa (capacidade
226 volumétrica 100 mL) contendo uma gota de mel para a alimentação dos adultos. Estes copos
227 foram mantidos em sala climatizada nas condições de temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14

228 horas e $70\pm 10\%$ de UR até a emergência dos parasitoides. Esta metodologia foi adaptada dos
229 procedimentos propostos por Garcia et al. (2009).

230

231 Desenvolvimento Experimental

232

233 Fêmeas de *C. flavipes* recém emergidas foram expostas as formulações comerciais
234 Biometha WP Plus[®], Metarril WP[®] e Metiê WP[®] a base de *M. anisopliae* e aos produtos
235 Bioveria G[®] e Boverril WP[®] a base de *B. bassiana*, ambos, com três concentrações de
236 1×10^9 con.mL⁻¹, 5×10^9 con.mL⁻¹ e 10×10^9 con.mL⁻¹. As concentrações dos produtos a base de
237 *M. anisopliae* são recomendadas pelos fabricantes para o controle de *M. fimbriolata* e houve a
238 padronização destas doses para as formulações de *B. bassiana* usadas nos experimentos.

239 Dez fêmeas de *C. flavipes* foram acondicionadas em copos descartáveis com tampa
240 (capacidade volumétrica de 100 mL) contendo uma gota de mel na parte interna. Cada copo
241 descartável recebeu uma superfície de contato representada por um quadrado com área total
242 de 9 cm². As superfícies de contato foram compostas por folhas de cana-de-açúcar
243 desinfestadas com hipoclorito (0,02%) ou papel filtro tratadas com o auxílio de uma
244 micropipeta com 1 mL das suspensões dos bioinseticidas padronizadas nas diferentes
245 concentrações com o auxílio de câmara de Neubauer[®] (Alves & Lecuona 1998). Após
246 tratadas, as superfícies de contato, foram acondicionadas sobre folhas de papel absorvente por
247 quase uma hora para secagem (Cardoso et al. 2007; Do Carmo et al. 2010). Os experimentos
248 foram distintos e conduzidos separadamente de acordo com a superfície de contato. Cada
249 bioensaio foi composto por 16 tratamentos, contendo 5 repetições com 10 fêmeas do
250 parasitoide, totalizando 50 fêmeas por tratamento, em um delineamento experimental
251 inteiramente casualizado.

252 A mortalidade foi avaliada diariamente após 24, 48, 72, 96 e 120 horas em ambos os
253 experimentos. Cada inseto morto foi transferido para microtubos tipo Eppendorf[®] graduado
254 (capacidade volumétrica 1,5 mL) tampados com algodão hidrófilo levemente umedecido com
255 água destilada esterilizada. O microtubos foram mantidos em câmaras climatizadas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,
256 com fotofase de 14 horas e $70\pm 10\%$ de UR, para verificação do crescimento do
257 entomopatógeno e confirmação da mortalidade do inseto ocasionada pelo fungo por meio da
258 observação do crescimento do corpo de frutificação do patógeno no corpo do inseto, sendo
259 esta estrutura utilizada para identificação taxonômica.

260 Os dados da mortalidade acumulada, não transformados, foram submetidos à análise
261 de variância (teste F) e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de
262 probabilidade, os resultados obtidos para cada tratamento foram analisados, utilizando o
263 programa estatístico Assistat[®]. E também foi feita análise de regressão linear da mortalidade
264 em função do tempo daqueles tratamentos que apresentaram os menores valores de
265 mortalidade.

266

267

RESULTADOS

268

269 Superfície de contato folha de cana-de-açúcar

270

271 A mortalidade acumulada dos insetos que entraram em contato com os diferentes
272 produtos comerciais à base de *M. anisopliae* nas diferentes concentrações não diferiu
273 estatisticamente entre eles e quando comparados com os valores da testemunha na avaliação
274 de 24 horas depois da aplicação (HDA). No entanto, na avaliação de 24, 48 e 72 HDA não
275 ocorreu mortalidade no tratamento Metarril WP[®] na concentração de 1×10^9 con.mL⁻¹. Na
276 avaliação de 96 HDA o tratamento Metiê WP[®] (5×10^9 con.mL⁻¹) causou 42% de mortalidade

277 acumulada diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, exceto para o tratamento Metiê
278 WP[®] na concentração de 10×10^9 con.mL⁻¹ (48%), valores estes menores do que os observados
279 na testemunha (94%) (Tabela 1). Na avaliação de 120 HDA os valores de mortalidade não
280 diferiram estatisticamente entre os tratamentos e testemunha.

281 A análise de regressão linear da mortalidade em função do tempo demonstrou que
282 Metarril WP[®] na concentração de 1×10^9 con.mL⁻¹ causou mortalidade de *C. flavipes* de 80%
283 em 96 HDA, sendo menor que a mortalidade da testemunha as 24, 48 e 72 HDA (Fig. 1 B).

284 A mortalidade acumulada dos insetos que entraram em contato com os produtos
285 comerciais à base de *B. bassiana* nas diferentes concentrações, em 24 HDA, foi observada
286 diferença significativa apenas para o tratamento Boverril WP[®] na concentração de 10×10^9
287 con.mL⁻¹ quando comparado aos demais tratamentos testados causando 8% de mortalidade.
288 Na avaliação de 48 HDA foi observada mortalidade acumulada baixa dos adultos de *C.*
289 *flavipes* tratados com o bioinseticida Biovéria G[®] nas 3 concentrações tratadas, não diferindo
290 entre si e quando comparado com a testemunha. O bioinseticida Biovéria G[®] (10×10^9 con.mL⁻¹)
291 ¹) causou a menor mortalidade acumulada (12%) decorridos 72 HDA. Nas avaliações de 96 e
292 120 HDA os valores de mortalidade acumulada dos adultos nos tratamentos testados não
293 diferiram estatisticamente entre si (Tabela 2).

294 Analisando a mortalidade em função do tempo em uma regressão linear com os
295 produtos a base de *B. bassiana* foi observado que Biovéria G[®] (10×10^9 con.mL⁻¹) causou
296 mortalidade de 100% somente 96 HDAa, sendo as porcentagens das avaliações anteriores
297 menores que 12% (Fig. 1 C).

298

299 Superfície de contato papel filtro

300

301 Nas avaliações de mortalidade acumulada comparando os diferentes produtos
302 comerciais à base de *M. anisopliae* e as diferentes concentrações destes produtos, pode-se
303 observar que com 24 não houve diferença estatística entre os valores dos tratamentos. Na
304 avaliação de 48 HDA os tratamentos Metiê WP[®] nas concentrações de 5×10^9 con.mL⁻¹ e
305 10×10^9 con.mL⁻¹, Metarril WP[®] em todas as dosagens e a testemunha proporcionaram os
306 menores valores de mortalidade acumulada, não diferindo estatisticamente entre si. O
307 bioinseticida Metarril WP[®] (1×10^9 con.mL⁻¹) causou baixa mortalidade aos adultos de *C.*
308 *flavipes* (10 %), não diferindo estatisticamente dos valores do bioinseticida Metiê WP[®]
309 (10×10^9 con.mL⁻¹) após 72 HDA. Na avaliação de 96 HDA Metarril WP[®] (1×10^9 con.mL⁻¹)
310 causou 56% de mortalidade acumulada e na avaliação de 120 HDA não houve diferença
311 estatística entre os valores dos tratamentos (Tabela 3).

312 O produto comercial Metarril WP[®] (1×10^9 con.mL⁻¹) a base de *M. anisopliae* causou
313 mortalidade de 80% em adultos de *C. flavipes* as 96 HDA, sendo que até 72 HDA a
314 mortalidade se encontrava baixa com 10%, segundo a análise de regressão linear (Fig. 2 B).

315 A mortalidade acumulada dos produtos comerciais à base de *B. bassiana* comparando
316 as diferentes concentrações em 24, 96 e 120 HDA não diferiu estatisticamente entre os
317 tratamentos testados. Biovéria G[®] (10×10^9 con.mL⁻¹) diferiu dos demais bioinseticidas
318 testados, não diferindo dos valores da testemunha causando a menor mortalidade (0,00 e
319 26%) após 48 e 72 HDA, respectivamente (Tabela 4).

320 O produto comercial Biovéria G[®] (10×10^9 con.mL⁻¹) a base de *B. bassiana* depois de
321 96 HDA obteve 100% de mortalidade, valores iguais da testemunha nesta avaliação, porém se
322 diferencia da testemunha 72 HDA com um valor menor de mortalidade de 80% enquanto a
323 testemunha obteve 100% de mortalidade (Fig. 2 C).

324

325

DISCUSSÃO

326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350

De maneira geral, sobre a superfície da folha de cana-de-açúcar todos os bioinseticidas a base de *M. anisopliae* e *B. bassiana* causaram baixa mortalidade aos adultos de *C. flavipes* após 24 horas depois da aplicação (HDA), sendo que a sobrevivência média do adulto em laboratório é em torno de 24 horas a uma temperatura de $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Botelho & Macedo 2002). Hayashida et al. (2012) observaram que o isolado IBCB 425 de *M. anisopliae* nas concentrações de $0,5\times 10^8$ con.mL⁻¹, $0,5\times 10^9$ con.mL⁻¹ e 1×10^9 con.mL⁻¹ após 24HDA não causou mortalidade aos adultos de *C. flavipes*, dados concordantes aos encontrados no presente estudo. Metiê WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ e 10×10^9 con.mL⁻¹, Metarril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ (*M. anisopliae*) e Bioveria G[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ (*B. bassiana*) obtiveram mortalidades acumuladas baixas em relação à testemunha e aos demais tratamentos na avaliação de 72 HDA. Metiê WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ 72 HDA foi o que causou menor mortalidade nos adultos de *C. flavipes* em condições de contato direto do patógeno testado ao adulto do parasitoide, concordando ao que Folegatti et al. (1990) relataram sobre a inocuidade de *M. anisopliae* ao parasitoide *C. flavipes* onde o entomopatógeno causou uma mortalidade próxima a 43% nos adultos e possibilitou 80% de emergência quando aplicado sobre as pupas do parasitoide. Concordando também com o que Folegatti (1990) relata quanto à susceptibilidade deste parasitoide a *B. bassiana* após 48 HDA, ressaltando ainda que estes resultados podem estar relacionados ao isolado usado nas formulações destes bioinseticidas comerciais e as condições de exposição, não generalizando a susceptibilidade deste inimigo natural às espécies *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

Apenas Biometha WP Plus[®] (*M. anisopliae*) sobre a superfície de contato papel filtro causou mortalidade acumulada mais alta que a testemunha para todas as concentrações testadas e Metiê WP[®] (*M. anisopliae*) na concentração de 1×10^9 con.mL⁻¹ na avaliação de 48

351 HDA, porém na avaliação de 72 HDA a mortalidade acumulada das três concentrações de
352 Biometha WP Plus® (*M. anisopliae*) foi maior que a do Metiê WP® (1×10^9 con.mL⁻¹). Para os
353 bioinseticidas a base do fungo *B. bassiana* em todas as concentrações, foram os mais
354 eficientes não causando mortalidade 24 HDA. O tratamento Biovéria G® (*B. bassiana*)
355 (10×10^9 con.mL⁻¹) apresentou valores de mortalidade acumulada semelhantes nas duas
356 superfícies de contato demonstrando então que a diferença na superfície de contato não
357 influenciou no resultado das avaliações, portanto as duas formas de exposição do patógeno
358 são válidas para experimentos de avaliação do contato de patógenos com parasitoides.

359 A susceptibilidade de parasitoides a fungos entomopatogênicos vem sendo relatada
360 por autores como Mesquita et al. (1999) que observaram em condições de alta umidade
361 relativa adultos de *Aphelinus asychis* Walker (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoide do
362 pulgão-russo-do-trigo, suscetíveis ao fungo *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown &
363 Smith (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Observações semelhantes foram feitas por
364 Broglio-Micheletti et al. (2006) testando a ação de alguns produtos fitossanitários biológicos
365 para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) mostram
366 que a cepa 159E de *M. anisopliae* reduziu o parasitismo de ovos de *D. saccharalis* em
367 78,26%, enquanto a cepa IPA 139E não diferiu da testemunha, mostrando assim que tanto a
368 espécie, como a cepa do fungo podem influenciar no parasitismo.

369 Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os resultados obtidos por Santos
370 Jr et al. (2006b) para o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera:
371 Eulophidae) utilizando os isolados Esalq 447 de *B. bassiana* e E9 de *M. anisopliae*, na
372 concentração de 10^7 conídios mL⁻¹ em que verificaram que ambos os fungos
373 entomopatogênicos testados não reduziram a longevidade média do parasitoide, porém *B.*
374 *bassiana* apresentou maior mortalidade confirmada (21%) em relação a *M. anisopliae* (9%),
375 sendo que este foi menos nocivo ao parasitoide nas condições testadas.

376 Outros trabalhos como o de Vázquez (2002) também demonstram a patogenicidade de
377 *B. bassiana* a parasitoides. Este trabalho realizado com *Cotesia americanus* (Lepeletier)
378 (Hymenoptera: Braconidae) relatou que *B. bassiana* causou mortalidade confirmada a este
379 parasitoide de 84,5% quando aplicado sobre a massa formada de pupas e de 82,3% quando os
380 adultos em contato com uma superfície representada por um retângulo de papel filtro tratado
381 com este fungo entomopatogênico.

382 Trabalhos de seletividade e efeito de fungos entomopatogênicos com parasitoides
383 apresentam resultados bastante diversificados, devido ao fato da variação na virulência de
384 diferentes isolados de uma mesma espécie de entomopatógeno, grandes variações nas
385 concentrações usadas e nas condições dos experimentos, porém, para evitar ou minimizar
386 esses efeitos negativos, torna-se necessário selecionar patógenos específicos para os insetos-
387 alvo (Goettel & Hajek 2001).

388 Levando em conta que a sobrevivência média de um adulto de *C. flavipes* em uma
389 temperatura de $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ é de 24 horas e o fato deste inimigo natural localizar seu hospedeiro
390 através de substâncias hidrossolúveis presentes nas fezes das lagartas de *D. saccharalis* este
391 parasitoide realiza o parasitismo em um período de 3 a 6 dias, passando por uma fase de pré
392 oviposição de 24 horas (Bennet 1977; Botelho & Macedo 2002). Neste sentido, ao se observar
393 que os maiores números de mortalidade ocorreram após 96 horas de contato de *C. flavipes*
394 com os entomopatógenos testados os dois métodos de controle biológico podem agir de forma
395 sinérgica no manejo integrado de pragas na cultura da cana-de-açúcar.

396

397

CONCLUSÃO

398

399 Os bioinseticidas comerciais testados a base dos fungos *Beauveria bassiana* e

400 *Metarhizium anisopliae* nas concentrações de $1\times 10^9\text{con.mL}^{-1}$, $5\times 10^9\text{con.mL}^{-1}$ e

401 10×10^9 con.mL⁻¹, não afetaram as fêmeas de *C. flavipes* até 72 horas depois da aplicação,
402 permitindo que a fêmea do parasitoide sobreviva tempo suficiente para realizar o parasitismo
403 de *D. saccharalis*.

404

405

AGRADECIMENTOS

406

407 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela
408 concessão da bolsa de estudo. A Universidade Federal da Grande Dourados e ao programa de
409 pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela oportunidade de cursar
410 o mestrado.

411

412

REFERÊNCIAS

413

- 414 ALMEIDA, J. E. M., BATISTA FILHO, A., AND DA COSTA, E. A. D. 2007. Efeito de
415 adjuvantes em associação com Thiamethoxam 250 WG e *Metarhizium anisopliae*
416 (Metsch.) Sorokin no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva*
417 *fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). Arq. Inst. Biol. 74: 135-140.
- 418 ALVES, S. B. 1998. Fungos entomopatogênicos. (Ed.), pp. 289-381. *In*: Controle microbiano
419 de insetos. Piracicaba: Fealq. Brasil.
- 420 ALVES, S. B., AND LECUONA, R.E. 1998. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano
421 de insetos. (Ed.), pp. 97-169. *In*: Controle microbiano de insetos. Piracicaba: Fealq.
422 Brasil.
- 423 ALVES, S.B., AND LOPES, R.B. 2008. Interação de microrganismos com outros agentes de
424 controle de pragas e doenças. (Ed.), pp. 279-302. *In*: Controle Microbiano de Pragas
425 na América Latina. Piracicaba: Fealq. Brasil.

- 426 BARBOSA, R.H., KASSAB, S.O., FONSECA, P.R.B., ROSSONI, C., AND SILVA, A.S.
427 2011. Associação de *Metarhizium anisopliae* (Hyp.: Clavicipitaceae) e thiamethoxam
428 para o controle da cigarrinha-das-raízes em cana-de-açúcar. *Ensaios e Ciência*. 15: 41-
429 51.
- 430 BENNET, F.D. 1977. A comparison of the reproductive strategies and certain other biological
431 characteristics of *Apanteles* spp. and the tachinid parasites of *Diatraea saccharalis*
432 (Fabr.). *Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol.* 1: 523-527.
- 433 BOTELHO, P.S.M., AND MACEDO, N. 2002. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea*
434 *saccharalis*. (Ed.), pp.409-425. *In: Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e*
435 *Predadores*. São Paulo: Manole. Brasil.
- 436 BOTELHO, A.A.A., AND MONTEIRO, A.C. 2011. Sensibilidade de fungos
437 entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar.
438 *Bragantia*.70: 361-369.
- 439 BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F., SANTOS, A.J.N., AND PEREIRA-BARROS, J.L. 2006.
440 Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi,
441 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciência e Agrotecnologia*. 30: 1051-1055.
- 442 CARDOSO, E.R., FREITAS, S de, NUNES, H. T., AND PESSOA, L.G.A. 2007.
443 Seletividade de *Lecanicillium lecanii* e *Metarhizium anisopliae* para larvas de primeiro
444 ínstar de *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) em laboratório. *Acta Sci.*
445 *Agron.* 29: 563-568.
- 446 CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. 2012. Dados sobre projeção e consumo da
447 cana-de-açúcar. Disponível em <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 23 de outubro de
448 2012.
- 449 DE LA ROSA, W., SEGURA, H.R., BARRERA, J.F., AND WILLIAMS, T.
450 2001. Laboratory evaluation of the impact of entomopathogenic fungi on *Prorops*

- 451 *nasuta* (Hymenoptera: Bethyilidae), a parasitoid of the coffee berry borer. Environ.
452 Entomol. 29: 126-131.
- 453 DINARDO-MIRANDA, L.L., FIGUEIREDO, P., LANDELL, M.G.A., FERREIRA, J.M.G.,
454 AND CARVALHO, P.A.M. 1999. Estimativa de danos causados pelas cigarrinhas das
455 raízes (*Mahanarva fimbriolata*) a diversos genótipos de cana-de-açúcar. STAB:
456 Açúcar, Álcool e Subprodutos. 17: 48-52.
- 457 DINARDO-MIRANDA, L.L., FERREIRA, J.M.G., AND CARVALHO, P.A.M. 2000.
458 Influência das cigarrinhas das raízes, *Mahanarva fimbriolata*, sobre a qualidade
459 tecnológica da cana-de-açúcar. STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos. 19: 34-35.
- 460 DINARDO-MIRANDA, L.L., GARCIA, V., AND PARAZZI, V.J. 2002. Efeito de
461 inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e de
462 nematóides fitoparasitos na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-
463 açúcar. Neotrop. Entomol. 31: 609-614.
- 464 DINARDO-MIRANDA, L.L., NAKAMURA, G., ZOTARELLI, L., BRAZ, B.A., AND
465 EUZÉBIO, O. 2003. Viabilidade técnica e econômica de Actara 250 WG, aplicado em
466 diversas doses, no controle de cigarrinha-das-raízes. STAB: Açúcar, Álcool e
467 Subprodutos. 22: 39-43.
- 468 DINARDO-MIRANDA, L.L., PIVETA, J.P., AND FRACASSO, J.V. 2006. Eficiência de
469 inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e
470 seus efeitos sobre a qualidade e produtividade da cana-de-açúcar. BioAssay. 1: 1-7.
- 471 DINARDO-MIRANDA, L.L., AND GIL, M.A. 2007. Estimativa do nível de dano econômico
472 de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar.
473 Bragantia. 66: 81-88.

- 474 DINARDO-MIRANDA, L.L., FRACASSO, J.V., AND PERECIN, D. 2011. Variabilidade
475 espacial de populações de *Diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de
476 amostragem. *Bragantia*. 70: 577-585.
- 477 DO CARMO, E.L., BUENO, A.F., BUENO, R.C.O.F., VIEIRA, S.S., GOULART, M.M.P.,
478 AND CARNEIRO, T.R. 2010. Seletividade de produtos fitossanitários utilizados na
479 cultura da soja para pupas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:
480 Trichogrammatidae). *Arq. Inst. Biol.* 77: 283-290.
- 481 FOLEGATTI, M.E.G., ALVES, S.B., AND BOTELHO, P.S.M. 1990. Patogenicidade do
482 fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok para pupas e adultos de *Apanteles*
483 *flavipes* (Cam.). *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 25: 247- 251.
- 484 FOLEGATTI, M.E.G. 1990. Interação entre o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill., e os
485 principais parasitoides da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.,
486 1794). Tese de doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 131 p.
- 487 GARCIA, J.F., BOTELHO, P.S.M., AND MACEDO, L.P.M. 2009. Criação do parasitoide
488 *Cotesia flavipes* em laboratório, pp.199- 219. *In: BUENO, V.H.P.(Ed.)*. Controle
489 biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: Editora UFLA.
490 Brasil.
- 491 GOEBEL, F.R., AND SALLAM, N. 2011. New pest threats for sugarcane in the new
492 bioeconomy and how to manage them. *Curr. Opin. Env. Sust.* 3: 81–89.
- 493 GOETTEL, M.S., AND HAJEK, A.E. 2001. Evaluation of non-target effects of pathogens
494 used for management of arthropods, pp. 81-97. *In: WAJNBERG, E. et al. (Ed.)*.
495 Evaluating indirect ecological effects of biological control. New York: CAB.
- 496 HAYASHIDA, E.K., KASSAB, S.O., DA FONSECA, P.R.B, ROSSONI, C., LOUREIRO,
497 E.S., AND PESSOA, L.G.A. 2012. Efeito dos isolados de *Metarhizium anisopliae*

- 498 (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) sobre parasitoide *Cotesia*
499 *flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Nucleus. 9: 74-79.
- 500 KASSAB, S.O., LOUREIRO, E.S., BARBOSA, R.H., DA FONSECA, P.R.B, MOTA, T.A.,
501 AND ROSSONI, C. 2012. Alteração no método de amostragem de *Mahanarva*
502 *fimbriolata* (Stal, 1854) (Hem.: Cercopidae) e avaliação da eficiência de *Metarhizium*
503 *anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hyp.: Clavicipitaceae). Arq. Inst.
504 Biol. 79: 621-625.
- 505 LOUREIRO, E.S., BATISTA FILHO A., ALMEIDA, J.E.M., AND PESSOA, L.G.A. 2005.
506 Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. contra a cigarrinha da
507 raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em
508 laboratório. Neotrop. Entomol. 34: 791-798.
- 509 LOUREIRO, E.S., BATISTA FILHO, A., ALMEIDA, J.E.M., MENDES, J.M., AND
510 PESSOA, L.G.A. 2012. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.)
511 Sorok. no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*
512 (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em condições de campo. Arq. Inst. Biol.79: 47-
513 53.
- 514 MADALENO, L.L., RAVANELI, G.R., PRESOTTI, L.E., MUTTON, M.A., FERNANDES,
515 O.A., AND MUTTON, M.J.R. 2008. Influence of *Mahanarva fimbriolata* (Stål)
516 (Hemiptera: Cercopidae) Injury on the Quality of Cane Juice. Neotropical
517 Entomology. 37: 68-73.
- 518 MAGALHÃES, B.P., MONNERAT, R., AND ALVES, S.B. 1998. Controle microbiano de
519 insetos, pp.195-216. In: ALVES, S.B. (Ed.). Interações entre entomopatógenos,
520 parasitóides e predadores. Piracicaba: Fealq. Brasil.
- 521 MESQUITA, A.L.M., LACEY, L.A., CEIANU, C. S., AND DABIRE, R. 1999. Predatory
522 and parasitic activity of *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) following

- 523 exposure to the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus*
524 (Deuteromycotina: Hyphomycetes) under different humidity regimes. Anais da
525 Sociedade Entomológica. 28: 661-673.
- 526 OLIVEIRA, M. A. P. de, MARQUES, E. J., TEIXEIRA, V. W., AND BARROS, R. 2008.
527 Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.
528 sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae).
529 Acta Sci. Biol. Scien. 30: 220-224.
- 530 PARRA, J.R.P. 2007. Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle
531 Biológico. 134 p. 6 ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ. Brasil.
- 532 PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, J.C., PASTORI, P.L., CHICHERA, R.A., ANDRADE, G.S.,
533 AND SERRÃO, J.E. 2010. Reproductive biology of *Palmistichus elaeisis*
534 (Hymenoptera: Eulophidae) with alternative and natural hosts. Soc. Bras. Zool. 27:
535 887–891.
- 536 PINTO, A. de S., BOTELHO, P.S.M., AND OLIVEIRA, H.N. de. 2009. Guia ilustrado de
537 pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar. 160 p. Piracicaba: CP 2. Brasil.
- 538 SANTOS Jr., H. J. G., MARQUES, E. J., BARROS, R., AND GONDIM Jr., M. G. C. 2006a.
539 Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.)
540 Vuill. e o Parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae)
541 sobre Larvas da Traça-das-Crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:
542 Plutellidae). Neotrop. Entomol. 35: 241-245.
- 543 SANTOS Jr., H.J.G., MARQUES, E.J., BARROS, R., GONDIM Jr., M.G.C., ZAGO, H.B.,
544 AND SILVA, C.C.M. 2006b. Efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e
545 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre adultos de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov)
546 (Hymenoptera: Eulophidae). Acta Sci. Agron. 28: 241-245.

- 547 VACARI, A.M., AND DE BORTOLI, S.A. 2010. Situação atual e perspectivas da
548 comercialização de agentes de controle biológico no Brasil. pp.91-102. *In*: BUSOLI,
549 A.C., ANDRADE, D.J., JANINI, J.C., BARBOSA, C.L., FRAGA, D.F., SANTOS,
550 L.C., RAMOS, T.O., PAES, V.S. (Eds.), Tópicos em Entomologia Agrícola III.
551 Gráfica e Editora Multipress. Jaboticabal.
- 552 VACARI, A.M., DE BORTOLI, S. A., BORBA, D.F., AND MARTINS, M.I.E.G. 2012.
553 Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host
554 densities and the estimated cost of its commercial production. *Biol. Control*. 63: 102-
555 106.
- 556 VÁZQUEZ, L.L. 2002. Efecto de *Verticillium lecanii* y *Beauveria bassiana* sobre *Cotesia*
557 *americanus* (Lepeletier) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de larvas de la
558 primavera de la yuca (*Erinnyis ello* L.) Fitosanidad. 6: 24-27.
- 559 ZAPPELINI, L.O., ALMEIDA, J.E.M., BATISTA FILHO, A., AND GIOMETTI, F.H.C.
560 2010. Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*
561 (Metsch.) Sorok. visando o controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*
562 (Fabr., 1794). *Arq. Inst. Biol.* 77: 75-82.
- 563
564
565
566
567
568
569
570
571

572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589

TABELAS, FIGURAS E LEGENDAS

Tabela 1. Mortalidade de adultos de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) expostos a diferentes produtos comerciais a base de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) inoculados em folha de cana-de-açúcar. (Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas)

Tratamentos	<i>Metarhizium anisopliae</i>					(n)
	Mortalidade acumulada (%) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>					
	24 HDA ^{ns}	48 HDA	72 HDA	96 HDA	120 HDA	
Testemunha (não tratada)	2,00 ± 2,00 a	8,00 ± 3,00 c	38,00 ± 2,29 b	94,00 ± 2,25 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biometha WP Plus [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	42,00 ± 2,70 b	96,00 ± 1,25 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biometha WP Plus [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	94,00 ± 4,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biometha WP Plus [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,00 ± 2,00 a	50,00 ± 2,76 b	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metiê WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	8,00 ± 2,83 a	18,00 ± 3,16 c	36,00 ± 1,68 b	88,00 ± 1,16 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metiê WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	8,00 ± 2,83 a	10,00 ± 2,25 c	10,00 ± 1,75 c	42,00 ± 2,41 c	100,00 ± 0,00 a	50
Metiê WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,00 ± 2,00 a	2,00 ± 2,00 c	4,00 ± 2,44 c	48,00 ± 2,36 c	100,00 ± 0,00 a	50
Metarril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00 c	72,00 ± 2,96 b	100,00 ± 0,00 a	50
Metarril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	4,00 ± 2,44 c	90,00 ± 2,33 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metarril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	4,00 ± 2,44 a	6,00 ± 2,66 c	52,00 ± 1,57 b	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
CV	ns	87,27	35,72	23,58	ns	-

ns - dados não significativos

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

CV - Coeficiente de variação

HDA - Horas depois da aplicação

(n) - Número de insetos utilizados no tratamento

590 Tabela 2. Mortalidade de adultos de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) expostos
 591 a diferentes produtos comerciais a base de *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae)
 592 inoculados em folha de cana-de-açúcar. (Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de
 593 70±10% e fotofase de 14 horas)

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>					(n)
	Mortalidade acumulada (%) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>					
	24 HDA	48 HDA	72 HDA	96 HDA	120 HDA	
Testemunha (não tratada)	2,00 ± 2,00 b	8,00 ± 3,00 c	38,00 ± 2,29 b	94,00 ± 2,25 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biovéria G [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 b	4,00 ± 1,44 c	96,00 ± 1,50 a	98,00 ± 2,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biovéria G [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 b	2,00 ± 2,00 c	60,00 ± 1,95 b	96,00 ± 1,88 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biovéria G [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,00 ± 2,00 b	2,00 ± 2,00 c	12,00 ± 1,84 c	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Boverril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 b	56,00 ± 1,69 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Boverril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 b	28,00 ± 1,95 b	98,00 ± 2,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Boverril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	8,00 ± 2,74 a	28,00 ± 2,72 b	96,00 ± 1,78 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
CV	131,23	84,22	26,83	ns	ns	-

ns - dados não significativos

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

CV - Coeficiente de variação

HDA - Horas depois da aplicação

(n) - Número de insetos utilizados no tratamento

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608 Tabela 3. Mortalidade de adultos de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) expostos
 609 a diferentes produtos comerciais a base de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales:
 610 Clavicipitaceae) inoculados em papel filtro. (Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de
 611 70±10% e fotofase de 14 horas)

Tratamentos	<i>Metarhizium anisopliae</i>					(n)
	Mortalidade acumulada (%) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>					
	24 HDA ^{ns}	48 HDA	72 HDA	96 HDA	120 HDA	
Testemunha (não tratada)	0,00 ± 0,00 a	6,00 ± 4,00 b	52,00 ± 2,17 b	78,00 ± 2,07 b	100,00 ± 0,00 a	50
Biometha WP Plus [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	4,00 ± 2,44 a	52,00 ± 3,32 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biometha WP Plus [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	32,00 ± 4,16 a	98,00 ± 1,66 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biometha WP Plus [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	4,00 ± 2,44 a	46,00 ± 1,79 a	94,00 ± 3,40 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metiê WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,00 ± 2,00 a	60,00 ± 3,20 a	88,00 ± 4,40 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metiê WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	4,00 ± 2,44 a	6,00 ± 2,65 b	44,00 ± 3,32 b	96,00 ± 3,33 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metiê WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	20,00 ± 3,54 c	92,00 ± 3,66 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metarril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	10,00 ± 2,45 c	56,00 ± 1,45 c	100,00 ± 0,00 a	50
Metarril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	80,00 ± 3,23 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Metarril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	90,00 ± 2,34 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
CV	ns	86,17	31,24	13,05	ns	-

ns - dados não significativos

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

CV - Coeficiente de variação

HDA - Horas depois da aplicação

(n) - Número de insetos utilizados no tratamento

612

613

614

615

616

617

618

619

620

621

622

623

624

625 Tabela 4. Mortalidade de adultos de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) expostos
 626 a diferentes produtos comerciais a base de *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae)
 627 inoculados em papel filtro. (Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase
 628 de 14 horas)

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>					(n)
	Mortalidade acumulada (%) de adultos de <i>Cotesia flavipes</i>					
	24 HDA	48 HDA	72 HDA	96 HDA	120 HDA	
Testemunha (não tratada)	0,00 ± 0,00 a	6,00 ± 4,00 b	52,00 ± 2,17 b	78,00 ± 2,07 b	100,00 ± 0,00 a	50
Biovéria G [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	12,00 ± 2,00 b	90,00 ± 4,72 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biovéria G [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	38,00 ± 3,78 a	92,00 ± 4,78 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Biovéria G [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	26,00 ± 4,35 b	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Boverril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	38,00 ± 3,78 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Boverril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 b	90,00 ± 3,47 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
Boverril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	0,00 ± 0,00 a	54,00 ± 3,68 a	96,00 ± 4,00 a	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	50
CV	ns	53,34	29,21	10,24	ns	-

ns - dados não significativos

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

CV - Coeficiente de variação

HDA - Horas depois da aplicação

(n) - Número de insetos utilizados no tratamento

629

630

631

632

633

634

635

636

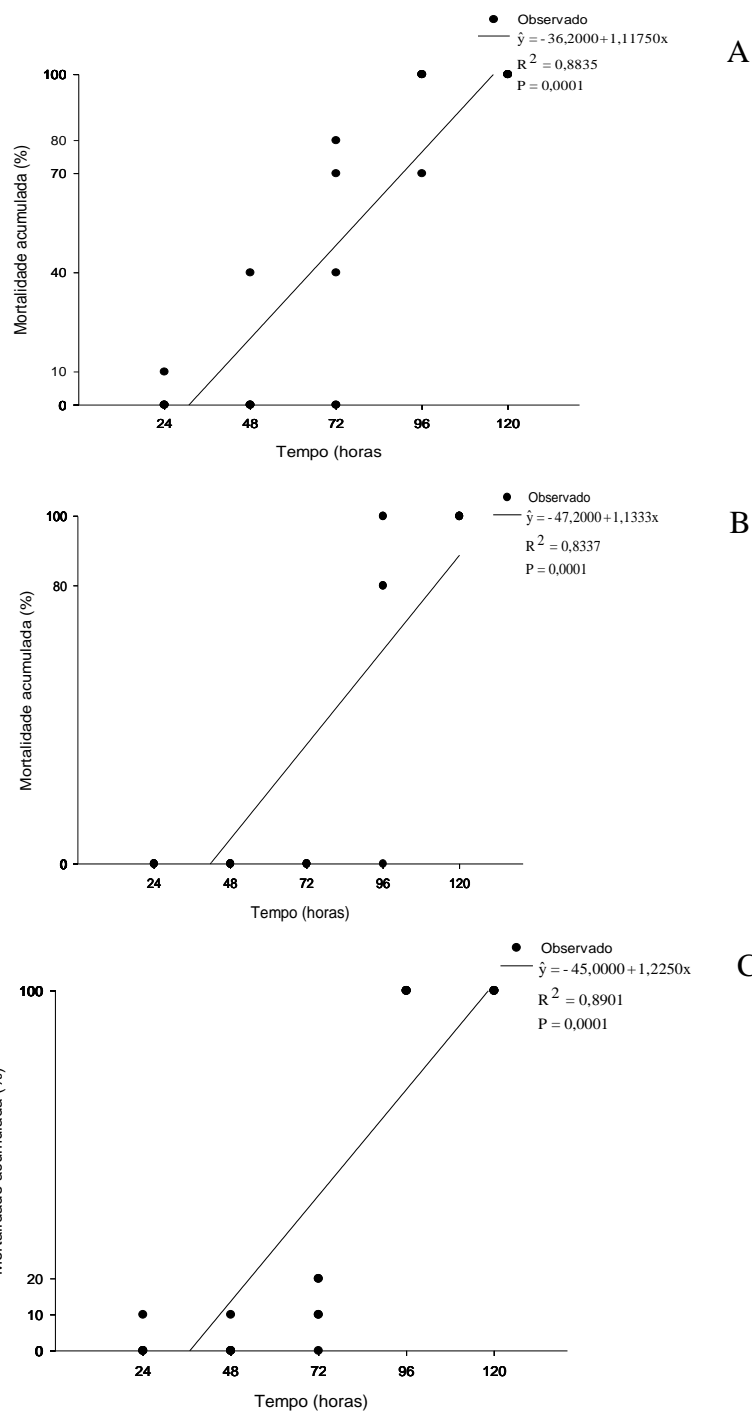
637

638

639

640

641



642

643

644

645

646

647

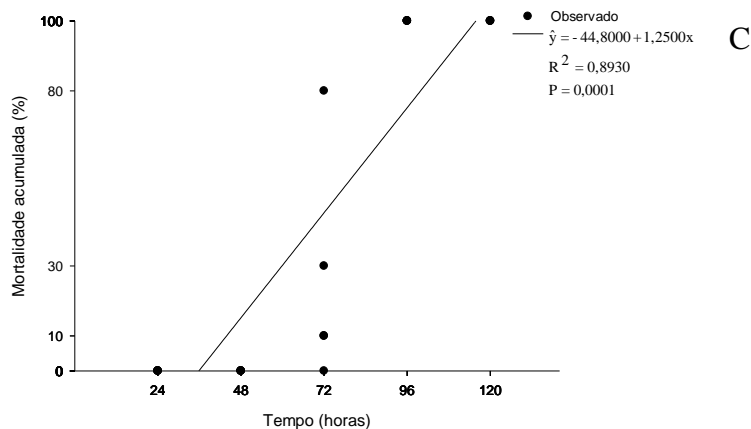
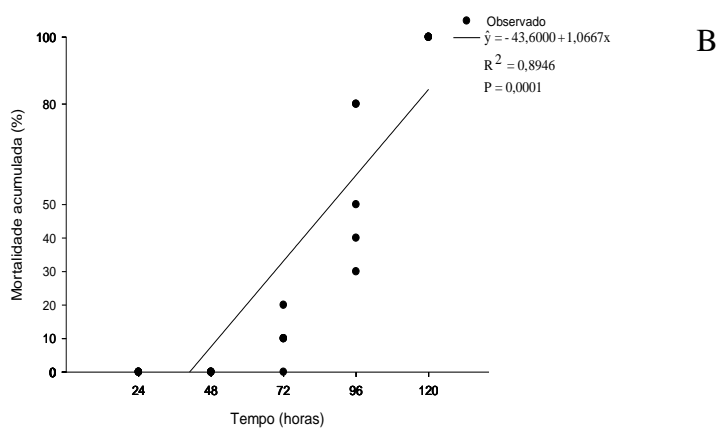
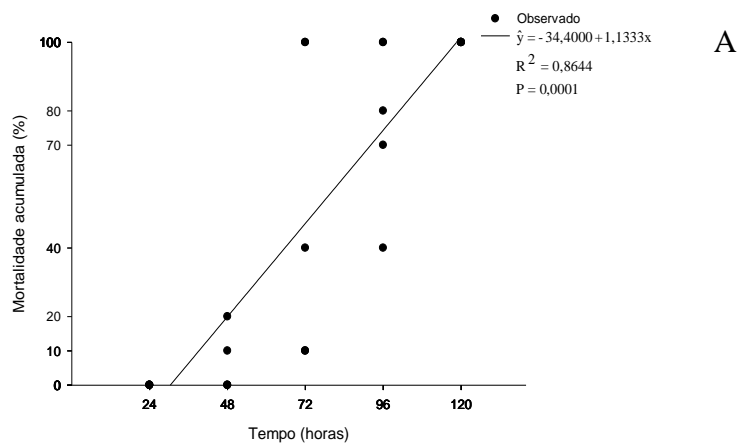
648

649

650

651

Fig. 1. Testemunha (A) e mortalidade de adultos de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) expostos a concentração de 1×10^9 de Metarril WP[®] *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) (B) e 10×10^9 de Biovéria G[®] *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) (C), inoculados em folha de cana-de-açúcar. (Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas).



657 Fig. 2. Testemunha (A) e mortalidade de adultos de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera:
 658 Braconidae) expostos a concentração de 1×10^9 de Metarril WP[®] *Metarhizium anisopliae*
 659 (Hypocreales: Clavicipitaceae) (B) e 10×10^9 de Biovéria G[®] *Beauveria bassiana*
 660 (Hypocreales: Clavicipitaceae) (C), inoculados em papel filtro. (Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$,
 661 umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas)

CAPÍTULO II

Efeitos da aplicação dos bioinseticidas comerciais a base de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) sobre pupas de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae)

1 Breve cabeçalho: Efeito de bioinseticidas sobre pupas de *Cotesia flavipes*

2

3

Por favor, Endereçe a correspondência para:

4

Camila Rossoni

5

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

6

Universidade Federal da Grande Dourados

7

79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul.

8

e-mail: camilasrossoni@gmail.com

9

10 EFEITOS DA APLICAÇÃO DOS BIOINSETICIDAS COMERCIAIS A BASE DE

11 *Metarhizium anisopliae* E *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE)

12 SOBRE PUPAS DE *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE)

13

14 CAMILA ROSSONI¹, ELISÂNGELA DE SOUZA LOUREIRO² E FABRICIO FAGUNDES

15

PEREIRA¹

16

17 ¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados,

18

79.804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

19

²Campus de Chapadão do Sul, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 79.560-000,

20

Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul, Brasil.

21

22

23

24

25

26

27

28

Autor de correspondência; E-mail: camilasrossoni@gmail.com

29

RESUMO

30
31
32 O uso de agentes biológicos no controle de insetos-praga agrícolas no Brasil tem aumentado
33 consideravelmente nos últimos anos. Dentre estes, os fungos entomopatogênicos e os
34 parasitoides são usados para o controle de insetos na cultura da cana-de-açúcar. O objetivo
35 deste trabalho foi avaliar o efeito dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e
36 *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae), quando aplicados sobre pupas do
37 parasitoide *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). O experimento foi composto pelos
38 bioinseticidas comerciais Biometha WP Plus[®], Biovéria G[®], Metarril WP[®], Boverril WP[®] e
39 Metiê WP[®] com três concentrações 1×10^9 con.mL⁻¹, 5×10^9 con.mL⁻¹, 10×10^9 con.mL⁻¹ e a
40 testemunha (sem aplicação dos entomopatógenos), totalizando 16 tratamentos com 10
41 repetições, cada repetição representada por uma massa com potencial de emergência de 50
42 adultos de *C. flavipes* em um delineamento experimental inteiramente casualizado. As
43 características biológicas avaliadas foram: emergência, progênie, número de machos e
44 fêmeas, longevidade de machos e fêmeas e parasitismo. Em uma segunda parte deste
45 experimento foi avaliado a emergência dos adultos de *C. flavipes* oriundos das lagartas
46 parasitadas anteriormente e a longevidade destes machos e fêmeas (Geração F1). Ocorreram
47 reduções na longevidade das fêmeas no tratamento Metarril WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ e na
48 longevidade dos machos nos tratamentos Metiê WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Biometha WP Plus[®]
49 5×10^9 con.mL⁻¹, Metarril WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹, Biometha WP Plus[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Metarril
50 WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Metiê WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ e Metarril WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ para
51 produtos a base de *M. anisopliae*. Nos tratamentos com os produtos a base de *B. bassiana* a
52 longevidade das fêmeas e dos machos foi menor para Boverril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ e
53 10×10^9 con.mL⁻¹, porém a redução não influenciou no parasitismo das fêmeas de *C. flavipes*.
54 Sendo o parasitismo o principal fator da eficiência do parasitoide em campo, relata-se que se

55 os fungos entrarem em contato com as pupas de *C. flavipes* este fato não vai influenciar no
56 controle de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) podendo então ser viável o uso
57 conjunto destas duas formas de controle biológico na cultura da cana-de-açúcar.

58

59 Palavras-chave: Agentes biológicos, Controle biológico, entomopatógenos, entomófagos.

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

ABSTRACT

80
81
82 The use of biological agents in controlling agricultural pests insect in Brazil has increased
83 considerably in recent years. Among these, the entomopathogenic fungi and parasitoids are
84 used to control insects in the culture of sugar cane. So the objective of this study was to
85 evaluate the effect of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria*
86 *bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae), when applied pupae of the parasitoid *Cotesia*
87 *flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). The experiment was composed of commercial
88 biopesticides Biometha WP Plus[®], Biovéria G[®], Metarril WP[®], Boverril WP[®] e Metiê WP[®]
89 with three concentrations 1×10^9 con.mL⁻¹, 5×10^9 con.mL⁻¹, 10×10^9 con.mL⁻¹ and the control
90 (without application of entomopathogens), totaling 16 treatments with 10 replicates, each
91 replicate represented by a mass with potential emergence of 50 adults of *C. flavipes* in a
92 completely randomized design. The biological characteristics evaluated: emergency, progeny,
93 number of males and females, male and female longevity and parasitism. In a second part of
94 this experiment was evaluated adult emergence of *C. flavipes* from the previously parasitized
95 caterpillars and longevity of males and females (F1 generation). There were reductions in
96 longevity of females in treatment Metarril WP[®] 10×10^9 con mL⁻¹ and longevity of males in
97 treatments Metiê WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Biometha WP Plus[®] 5×10^9 con.mL⁻¹, Metarril WP[®]
98 10×10^9 con.mL⁻¹, Biometha WP Plus[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Metarril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Metiê
99 WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ and Metarril WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ for products based on *M. anisopliae*.
100 In the treatments with products based on *B. bassiana* the longevity of females and males was
101 lower for Boverril WP[®] 1×10^9 con. mL⁻¹ and 10×10^9 con. mL⁻¹, but the reduction did not affect
102 the parasitism of females of *C. flavipes*. How the Parasitism is the main factor in the
103 efficiency of parasitoid in the field, it is reported that if the fungi come into contact with the
104 pupae of *C. flavipes* this fact will not influence the control of *Diatraea saccharalis*

105 (Lepidoptera: Crambidae) may then be feasible using together this two forms of biological
106 control in the culture of sugar cane.

107

108 KeyWords: Biological agents, Biological Control, Entomopatogenous, Entomofagus.

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130 O uso de agentes biológicos no controle de insetos-praga agrícolas no Brasil tem
131 aumentado consideravelmente nos últimos anos (Parra 2001; Cardoso et al. 2007). Dentre
132 estes, os fungos entomopatogênicos apresentam grande potencial para o controle destes
133 insetos. Esses agentes foram os primeiros a serem utilizados no controle microbiano. A
134 ocorrência desses fungos em condições naturais, tanto enzoótica como epizooticamente, tem
135 sido no Brasil (Alves & Lecuona 1998) e em outros países, um fator importante na redução
136 das populações de pragas (Alves & Lopes 2008).

137 Na cultura da cana-de-açúcar o fungo entomopatogenico *Metarhizium anisopliae*
138 (Metchnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) é utilizado em mais de 2,5 milhões de
139 hectares para o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stål)
140 e cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) Simi et al. (2011),
141 mostrando ser eficiente, economicamente viável e ecologicamente sustentável (Mendonça
142 2005).

143 A broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae)
144 também é suscetível aos fungos entomopatogênicos e os testes realizados em campo, com a
145 espécie *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Clavicipitaceae) causou
146 mortalidade média de 44 e 89% para as concentrações de 1×10^{13} conídios.ha⁻¹ e 5×10^8
147 conídios.mL⁻¹, respectivamente (Wenzel et al. 2006; Oliveira et al. 2008).

148 Outros agentes de controle biológico como os parasitoides têm atraído considerável
149 atenção devido ao seu potencial para regular a abundância de insetos nos ecossistemas
150 naturais ou agroecossistemas. Diversas espécies de insetos-praga são efetivamente
151 controlados por meio da conservação ou liberações de parasitoides em programas de controle
152 biológico em todo o mundo (Godfray 2004; Mills 2009).

153 O parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) tem sido
154 produzido em escala comercial em laboratórios do Brasil e liberado em plantios comerciais de

155 cana-de-açúcar mostrando-se eficiente na regulação de populações de *D. saccharalis* (Vacari
156 et al. 2012). Este parasitoide é liberado de forma inundativa em mais de três milhões de
157 hectares e a utilização para o controle de *D. saccharalis* na cana-de-açúcar é o maior
158 programa de controle biológico do mundo (Vacari & De Bortoli 2010; Simões et al. 2012).

159 Em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), táticas de segmentos diferentes
160 de controle biológico podem ser utilizadas simultaneamente, principalmente em culturas de
161 maior importância econômica e com alta diversidade de pragas (Dalvi et al. 2007) como a
162 cultura da cana-de-açúcar.

163 Embora o uso de fungos entomopatogênicos seja considerado seguro em relação ao
164 meio ambiente, se fazem necessárias pesquisas que demonstram o impacto que estes agentes
165 podem causar sobre inimigos naturais. Além disso, sabe-se que a utilização integrada de
166 fungos entomopatogênicos e parasitoides pode melhorar a eficiência do controle biológico,
167 sendo fundamental o conhecimento sobre a interação entre agentes biológicos. Assim o
168 objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e
169 *B. bassiana*, quando aplicados sobre pupas do parasitoide *C. flavipes*.

170

171 MATERIAL E MÉTODOS

172

173 O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico
174 (LECOBIOL) da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Laboratórios de Microbiologia e
175 Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade
176 Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados, Mato Grosso do Sul, com as seguintes
177 etapas:

178

179 Obtenção das formulações comerciais a base de *M. anisopliae* e *B. bassiana*

180 As formulações comerciais utilizadas no experimento foram Biometha WP Plus[®]
181 isolado PL 43, pó molhável e Biovéria G[®], arroz esporulado (Biotech Controle Biológico
182 Ltda.), Metarril WP[®] ESALQ E9 e Boverril WP[®] ESALQ PL 63, ambas pó molhável
183 (Itaforte BioProdutos) e Metiê WP[®] IBCB 425, pó molhável (Ballagro Agro Tecnologia),
184 fornecidas pelas empresas. Todas as formulações comerciais obtiveram mais de 90% de
185 viabilidade dos esporos.

186

187 Criação do hospedeiro *D. saccharalis*

188

189 Ovos de *D. saccharalis* foram retirados da criação do LECOBIOL. Estes ovos foram
190 colocados em frascos de vidro (8,5 cm de diâmetro e 13 cm de altura) contendo dieta artificial
191 para alimentação das lagartas recém eclodidas, onde permaneceram até iniciado o último
192 instar. Essas lagartas foram transferidas para placas de Petri descartáveis (6,5 cm de diâmetro
193 e 2,5 cm de altura) com dieta de realimentação até a formação das pupas. As pupas foram
194 recolhidas, selecionadas por características morfológicas e acondicionadas em potes plásticos
195 telados, permanecendo até a fase adulta. Os adultos foram separados em casais com 20
196 machos e 30 fêmeas, e colocados em gaiolas de tubos de PVC (10 cm de diâmetro e 22 de
197 altura). As gaiolas foram fechadas com papel sulfite e elástico, revestidas internamente com
198 folhas de papel sulfite como substrato para oviposição sendo os ovos coletados diariamente,
199 lavados com uma solução de sulfato de cobre e armazenados em câmara climatizada à
200 temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 14 horas, segundo uma
201 metodologia adaptada de Parra (2007).

202

203 Criação do parasitoide *C. flavipes*

204

205 Lagartas de 4^o ínstar de *D. saccharalis* foram individualizadas e expostas ao
206 parasitismo por fêmeas de *C. flavipes* acasaladas com 24 horas de emergência. Após o
207 parasitismo, as lagartas foram transferidas para placas de Petri descartáveis (6,5 cm de
208 diâmetro e 2,5 cm de altura) em número de quatro por placa contendo uma porção de dieta de
209 realimentação. As placas foram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de
210 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ UR e fotofase de 14 horas até a formação das pupas de *C. flavipes*. Após a
211 formação das massas de pupas do parasitoide, estas foram removidas e acondicionados em
212 copos descartáveis com tampa (capacidade volumétrica 100 mL) contendo uma gota de mel
213 para a alimentação dos adultos. Estes copos foram mantidos em sala climatizada nas
214 condições de temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14 horas e $70\pm 10\%$ de UR até a emergência
215 dos parasitoides. Esta metodologia foi adaptada de Garcia et al. (2009).

216

217 Desenvolvimento Experimental

218

219 Massas de pupas de *C. flavipes* recém formadas foram tratadas por inoculação tópica
220 com o auxílio de uma micropipeta contendo 1 mL de suspensão padronizada dos
221 bioinseticidas. Foram utilizados os bioinseticidas Biometha WP Plus[®], Metarril WP[®] e Metiê
222 WP[®] a base de *M. anisopliae* e Bioveria G[®] e Boverril WP[®] a base de *B. bassiana* nas
223 concentrações de 1×10^9 con.mL⁻¹, 5×10^9 con.mL⁻¹ e 10×10^9 con.mL⁻¹. Após a inoculação do
224 patógeno as massas de pupas de *C. flavipes* foram acondicionadas sobre papel absorvente por
225 uma hora e depois de secas, transferidas para copos descartáveis com tampa (capacidade
226 volumétrica de 100 mL). Os copos descartáveis com tampa foram acondicionados em câmara
227 climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de temperatura, fotofase de 14 horas e $70\pm 10\%$ UR até a emergência
228 dos adultos do parasitoide, metodologia adaptada de (Folegatti et al. 1990).

229 O experimento foi composto por cinco bioinseticidas com três concentrações e a
230 testemunha (sem aplicação dos entomopatógenos), totalizando 16 tratamentos com 10
231 repetições, cada repetição representada por uma massa com potencial de emergência de 50
232 adultos de *C. flavipes* em um delineamento experimental inteiramente casualizado.

233 Os dados sem transformação foram submetidos à análise de variância (teste F) e as
234 médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, os resultados obtidos
235 para cada tratamento foram analisados, utilizando o programa estatístico Assistat[®].

236 Após a emergência dos insetos, 20 fêmeas e 20 machos de cada tratamento foram
237 individualizados em microtubos tipo Eppendorf[®] graduado (capacidade volumétrica de 1,5
238 mL) contendo uma gota de mel e tampados com algodão hidrófilo para avaliação da
239 longevidade (dias) de *C. flavipes*. Os Eppendorfs[®] contendo os insetos foram acondicionados
240 em câmara climatizada a temperatura de $25\pm 2^{\circ}$ C, fotofase de 14 horas e $70\pm 10\%$ UR.

241 A porcentagem de parasitismo (avaliação do número de lagartas parasitadas por
242 tratamento, descontando-se a mortalidade natural do hospedeiro) também foi avaliada e para
243 isto 5 lagartas de 4^o instar de *D. saccharalis* foram expostas ao parasitismo por 5 fêmeas do
244 parasitoide *C. flavipes* com 24 horas de idade para cada repetição, cada lagarta foi parasitada
245 por uma fêmea do parasitoide sendo este parasitismo de forma imediata assim que o
246 parasitoide entra em contato com o hospedeiro. O tratamento foi composto por 10 repetições,
247 perfazendo um total de 50 lagartas parasitadas. As lagartas parasitadas foram colocadas em
248 placas de Petri descartáveis (6 cm de diâmetro) contendo dieta artificial, citada anteriormente,
249 e transferidas para sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}$ C, fotofase de 14 horas e
250 $70\pm 10\%$ UR.

251 Foi avaliada a porcentagem de emergência do inimigo natural que se formou a partir
252 das lagartas parasitadas (geração filial – F1). O número de indivíduos emergidos foram

253 contabilizados e comparados ao da testemunha (progênie). Também foi feita a avaliação da
254 longevidade (dias) dos indivíduos de *C. flavipes* emergidos das lagartas parasitadas.

255 Os dados sem transformação foram submetidos à análise de variância (teste F) e as
256 médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, os resultados obtidos
257 para cada tratamento foram analisados, utilizando o programa estatístico Assistat[®].

258

259 RESULTADOS

260

261 Geração Parental (G:P)

262

263 Avaliando a progênie das pupas de *C. flavipes* que foram tratadas com os diferentes
264 produtos comerciais e concentrações de *M. anisopliae*, foi observado que o número de
265 indivíduos que emergiram destas pupas não diferiu estatisticamente do número de indivíduos
266 emergidos das pupas não tratadas (testemunha). O número de machos e fêmeas também foi
267 semelhante entre os tratamentos (Tabela 1).

268 A longevidade das fêmeas emergidas das pupas tratadas com Biometha WP Plus[®]
269 10×10^9 con.mL⁻¹ (2,05 dias) e Metiê WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ (2,20 dias) não diferiram
270 estatisticamente da testemunha (2,25 dias). No entanto, foi observado menor longevidade para
271 o tratamento Metarril WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ com o valor de 1,25 dias. A longevidade dos
272 machos foi maior para os tratamentos Biometha WP Plus[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ (2,0 dias) e Metiê
273 WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ (2,15 dias) não diferiram estatisticamente da testemunha (2,1 dias). Para
274 os tratamentos Metiê WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Biometha WP Plus[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ e Metarril
275 WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ com 1,65 dias respectivamente, a longevidade foi menor porém estes
276 valores não diferiram estatisticamente dos valores dos tratamentos Biometha WP Plus[®]

277 1×10^9 con.mL⁻¹, Metarril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, Metiê WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ e Metarril WP[®]
278 5×10^9 con.mL⁻¹ com 1,70 dias, 1,85 dias, 1,90 dias e 1,90 dias, respectivamente (Tabela 1).

279 O parasitismo das fêmeas originadas das pupas tratadas pelos diferentes produtos
280 comerciais e concentrações de *M. anisopliae* não diferiu estatisticamente do parasitismo das
281 fêmeas emergidas das pupas não tratadas (Tabela 1).

282 O número de indivíduos emergidos (progênie) das pupas de *C. flavipes*, bem como o
283 número de machos e fêmeas emergidos das pupas tratados com os diferentes produtos
284 comerciais e diferentes concentrações de *B. bassiana* não diferiram estatisticamente do
285 número de indivíduos emergidos da testemunha (Tabela 1).

286 As fêmeas emergidas das lagartas destes tratamentos com *B. bassiana* obtiveram a
287 menor longevidade quando tratados com Boverril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ e 10×10^9 con.mL⁻¹
288 com valores respectivamente de 1,10 dias e 1,20 dias. Os machos obtiveram a menor
289 longevidade também quando tratados com Boverril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ e 10×10^9 con.mL⁻¹
290 que foi de 1,15 dias e 1,05 dias, respectivamente (Tabela 1).

291 O parasitismo das fêmeas emergidas das lagartas dos tratamentos com *B. bassiana* foi
292 menor apenas no tratamento Boverril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ com valor de 58% diferindo
293 significativamente dos valores da testemunha (94%) (Tabela 1).

294

295 Geração filial (G:F1)

296

297 A emergência dos adultos do parasitoide originados das lagartas que foram parasitadas
298 por fêmeas de *C. flavipes* emergidas das pupas tratadas foi menor para os tratamentos de *M.*
299 *anisopliae* Metarril WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ e Metarril WP[®] 10×10^9 con.mL⁻¹ com 33,33 e
300 57,5%, respectivamente (Fig. 1A).

301 A menor longevidade destes adultos foi de 2,20 dias para fêmeas emergidas do
302 tratamento Metiê WP[®] 5×10⁹ con.mL⁻¹, seguido por Metarril WP[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,25
303 dias, Metiê WP[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,30 dias, Metarril WP[®] 1×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,45 dias
304 e Biometha WP Plus[®] 1×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,55 dias. Os machos obtiveram a menor
305 longevidade no tratamento Metiê WP[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 1,65 dias (Tabela 2).

306 A emergência de adultos das lagartas parasitadas por fêmeas dos tratamentos com *B.*
307 *bassiana* foi menor para Biovéria G[®] na concentração de 5×10⁹ con.mL⁻¹ com 36,3%, seguido
308 por Biovéria G[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 49,5% e Boverril WP[®] 5×10⁹ con.mL⁻¹ com 54,9%
309 (Fig. 1B).

310 A longevidade destas fêmeas emergidas foi menor para aquelas que emergiram do
311 tratamento de Biovéria G[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,00 dias, seguido pelos tratamentos
312 Boverril WP[®] 5×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,15 dias e Boverril WP[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 2,40 dias.
313 Para os machos emergidos destes tratamentos as menores longevidades ocorreram para
314 Boverril WP[®] 5×10⁹ con.mL⁻¹ com 1,80 dias e Biovéria G[®] 10×10⁹ con.mL⁻¹ com 1,90 dias
315 (Tabela 2).

316

317 DISCUSSÃO

318

319 Geração Parental (G:P)

320

321 O número de indivíduos emergidos das pupas tratadas com os diferentes bioinseticidas
322 nas diferentes concentrações e o número de machos e fêmeas não diferiu estatisticamente do
323 número de indivíduos da testemunha, para os produtos a base de *M. anisopliae* e *B. bassiana*.
324 Portanto, conclui-se que estes bioinseticidas aplicados sobre as pupas do parasitoide não
325 afetaram de forma negativa o desenvolvimento dos imaturos de *C. flavipes*, podendo ser

326 devido ao fato do parasitoide estar na fase de pupa do seu ciclo biológico, sendo esta a fase
327 mais resistente dificultando a penetração do fungo e a infecção do imaturo pelo patógeno.

328 A longevidade das fêmeas destes indivíduos foi menor para os bioinseticidas Metarril
329 WP[®] (*M. anisopliae*) na concentração de 10×10^9 con.mL⁻¹ com 1,25 dias e para Boverril WP[®]
330 (*B. bassiana*) nas concentrações de 1×10^9 con.mL⁻¹ e 10×10^9 con.mL⁻¹ com 1,10 dias e 1,20
331 dias, respectivamente, diferindo da testemunha em cerca de 1 dia. Porém, a diminuição da
332 longevidade das fêmeas não causou redução no parasitismo para os produtos a base de *M.*
333 *anisopliae*, o qual obteve porcentagens de parasitismo que não diferiram do valor da
334 testemunha. O produto comercial a base de *B. bassiana* Boverril WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹ causou
335 redução no parasitismo sendo 58%, sendo este resultado explicado pela debilidade das fêmeas
336 que emergiram das pupas tratadas com este produto comercial nesta concentração. A
337 explicação para a não diminuição do parasitismo para a maioria dos tratamentos deve-se ao
338 fato de *C. flavipes* realizar o parasitismo quase imediato no hospedeiro depois de localizado,
339 pois o tempo médio de vida descrito por Wiedenmann et al. (1992) é de 24 horas a uma
340 temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$. A longevidade observada neste trabalho não foi diferente da
341 observada por estes autores, sendo mais um indício de que o fungo não prejudicou o
342 desenvolvimento de *C. flavipes*.

343 A longevidade dos machos emergidos destas pupas tratadas foi menor para Metiê
344 WP[®] 1×10^9 con.mL⁻¹, no entanto seu valor não diferiu estatisticamente do valor da maioria dos
345 outros tratamentos, não podendo afirmar que a queda da longevidade destes machos foi
346 acarretada pelo fungo *M. anisopliae*.

347 Para os machos emergidos das pupas tratadas com *B. bassiana* o produto Boverril
348 WP[®] nas concentrações de 1×10^9 e 10×10^9 con.mL⁻¹ foram os que causaram maior diminuição
349 da longevidade com 1,15 e 1,05 dias, respectivamente, sendo esta metade da longevidade dos
350 machos da testemunha.

351 Estes resultados são diferentes dos encontrados por Potrich et al. (2009) para o
352 parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) emergidos de
353 ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) onde a longevidade das fêmeas
354 que parasitaram ovos de *A. kuehniella* tratados com *B. bassiana* e *M. anisopliae* não diferiu da
355 testemunha tanto no pré como no pós-parasitismo e o número de parasitoides emergidos por
356 ovo diferiu entre os tratamentos para *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

357

358 Geração Filial (G:F1)

359

360 A emergência da segunda geração dos parasitoides oriundos das lagartas que foram
361 parasitadas por fêmeas que entraram em contato com os fungos entomopatogênicos testados
362 foi menor para Metarril WP[®] (*M. anisopliae*) nas concentrações de 5×10^9 e 10×10^9 con.mL⁻¹
363 com uma diferença da testemunha de aproximadamente 43 e 19% respectivamente,
364 concordando com o que Broglio-Micheletti et al.(2006) em que relataram para *Trichogramma*
365 *galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) provenientes de ovos de *D. saccharalis*,
366 onde *M. anisopliae* (IPA 159E) influenciou negativamente na emergência dos adultos.

367 Entre os tratamentos com *B. bassiana*, Biovéria G[®] na concentração de 5×10^9 e
368 10×10^9 con.mL⁻¹ não diferiram estatisticamente entre si, ambos com os menores valores de
369 emergência, seguido por Boverril WP[®] 5×10^9 con.mL⁻¹ com diferença da testemunha de
370 aproximadamente 40, 27 e 22%, respectivamente.

371 A longevidade das fêmeas foi menor apenas para Metiê WP[®] (5×10^9 con.mL⁻¹) e
372 Biovéria G[®] (10×10^9 con.mL⁻¹) porém, este valores não diferiram estatisticamente da maioria
373 dos tratamentos relatando que este comportamento pode não ser relacionado ao contato do
374 fungos com a geração anterior destes parasitoides. Para os machos os tratamentos Metiê WP[®]

375 (10×10^9 con mL⁻¹), Boverril WP[®] (5×10^9 con mL⁻¹) e Biovéria G[®] (10×10^9 con mL⁻¹) reduziram
376 em cerca de 1,5 dias a longevidade destes indivíduos.

377 Ao avaliar o efeito de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre as características biológicas
378 de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae)
379 Polanczyk et al. (2010), relataram que estes fungos entomopatogênicos não afetaram de forma
380 negativa a longevidade, a capacidade de parasitismo, viabilidade, número de indivíduos e
381 razão sexual deste parasitoide, diferentemente dos resultados apresentados neste trabalho onde
382 estes fungos diminuíram a longevidade, e emergência de *C. flavipes*. Em relação ao
383 parasitismo, os autores não observaram efeito negativo, dado este semelhante aos observados
384 no presente trabalho em que apenas o produto Boverril WP[®] (1×10^9 con mL⁻¹) afetou o
385 parasitismo.

386 Os resultados deste estudo sugerem que a maioria destas formulações de fungos
387 entomopatogênicos não é prejudicial quando em contato com as pupas de *C. flavipes*, embora
388 alguns produtos tenham reduzido à longevidade de fêmeas do parasitoide, a progênie foi
389 semelhante para todos os tratamentos e o parasitismo foi alto para a maioria dos tratamentos
390 com exceção de Boverril WP[®] 1×10^9 con mL⁻¹ (*B. bassiana*). Como o parasitismo é o
391 principal fator da eficiência do parasitoide em campo, relata-se que se os fungos entrarem em
392 contato com as pupas de *C. flavipes* este fato não vai influenciar no controle de *D.*
393 *saccharalis*, sendo estas informações essenciais para uma maior eficiência nos programas de
394 controle biológico realizados na cana-de-açúcar.

395

396

CONCLUSÃO

397

398 O contato dos bioinseticidas comerciais usados neste trabalho com as pupas do
399 parasitoide *C. flavipes* não causa a diminuição na porcentagem de parasitismo realizado pelas

400 fêmeas do parasitoide nos tratamentos, exceto para Boverril WP[®] (1×10^9 con mL⁻¹) podendo
401 então ser viável o uso conjunto destas duas formas de controle biológico na cultura da cana-
402 de-açúcar.

403

404

AGRADECIMENTOS

405

406 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela
407 concessão da bolsa de estudo. A Universidade Federal da Grande Dourados e ao programa de
408 pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela oportunidade de cursar
409 o mestrado.

410

411

REFERÊNCIAS

412

413 ALVES, S. B., AND LECUONA, R.E. 1998. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano
414 de insetos. (Ed.), pp. 97-169. *In: Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: Fealq.
415 Brasil.

416 ALVES, S.B., AND LOPES, R.B. 2008. Interação de microrganismos com outros agentes de
417 controle de pragas e doenças. (Ed.), pp. 279-302. *In: Controle Microbiano de Pragas*
418 *na América Latina*. Piracicaba: Fealq. Brasil.

419 BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F., SANTOS, A.J.N., AND PEREIRA-BARROS, J.L. 2006.
420 Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi,
421 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciência e Agrotecnologia*. 30: 1051-1055.

422 CARDOSO, E.R., FREITAS, S. de, NUNES, H.T., AND PESSOA, L.G.A. 2007.

423 Seletividade de *Lecanicillium lecanii* e *Metarhizium anisopliae* para larvas

424 de primeiro ínstar de *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera: Chrysopidae) em

- 425 laboratório. Acta Sci. Agron. 29: 563-568.
- 426 DALVI, L.P., POLANCZYK, R.A., PRATISSOLI, D., DE MELO, R.L., AND HOLTZ,
427 A.M. 2007. Seletividade de *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & W. Gams (Classe-
428 Forma: Hyphomycetes) ao parasitóide *Trichogramma atopovirilia*
429 Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. agrotec. 31:
430 1392-1395.
- 431 FOLEGATTI, M.E., ALVES, S.B., AND MACHADO, P.S. 1990. Patogenicidad do fungo
432 *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok para pupas e adultos de *Apanteles flavipes*
433 (Cam.). Pesquisa Agropecuaria Brasileira. 24: 247-251.
- 434 GARCIA, J.F., BOTELHO, P.S.M., AND MACEDO, L.P.M. 2009. Criação do parasitoide
435 *Cotesia flavipes* em laboratório, pp.199- 219. In: BUENO, V.H.P.(Ed.). Controle
436 biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Lavras: Editora UFLA.
437 Brasil.
- 438 GODFRAY, H.C.J. 2004. Parasitoids. Current Biology.14:456-456.
- 439 GOETTEL, M.S., AND HAJEK, A.E. 2001. Evaluation of non-target effects of pathogens
440 used for management of arthropods, pp. 81-97. In: WAJNBERG, E. et al. (Ed.).
441 Evaluating indirect ecological effects of biological control. New York: CAB.
- 442 MENDONÇA, A.F. 2005. Cigarrinhas da cana-de-açúcar: Controle biológico. 317 p. Maceió:
443 Insecta. Brasil.
- 444 MILLS, N. 2009. Parasitoids. p.748-751. In: RESH, V. H., CARDE, R. T. Encyclopedia of
445 Insects. 2ª ed. Elsevier-EUA.
- 446 OLIVEIRA, M. A. P. de, MARQUES, E. J., TEIXEIRA, V. W., AND BARROS, R. 2008.
447 Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.
448 sobre características biológicas de *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae).
449 Acta Sci. Biol. Scien. 30: 220-224.

- 450 PARRA, J.R.P. 2007. Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle
451 Biológico. 134 p. 6 ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ. Brasil.
- 452 POLANCZYK, R.A., PRATISSOLI, D., DALVI, L.P., GRECCO, E.D., AND FRANCO, C.
453 R. 2010. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae*
454 (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman
455 & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciência e agrotecnologia. 34:
456 1412-1416.
- 457 POTRICH, M., ALVES, L.F.A., HAAS, J., DA SILVA, E.R.L., DAROS, A., VANDA
458 PIETROWSKI, V., AND NEVES, P.M.O.J. 2009. Seletividade de *Beauveria bassiana*
459 e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:
460 Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 38: 822-826.
- 461 SIMI, L.D., BATISTA FILHO A.; ALMEIDA, A.M.B., SCHMIDT FS, PINTO, A.P.F.,
462 AND ALMEIDA, J.E.M. 2011. Interação entre *Cotesia flavipes* E *Metarhizium*
463 *anisopliae* sobre a mortalidade da broca-da-cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*. 12º
464 SICONBIOL, Simpósio de Controle Biológico. PT.03.32.
- 465 SIMÕES, R.A., LETÍCIA, R.G., BENTO, J.M.S., SOLTER, L.F., AND DELALIBERA Jr., I.
466 2012. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes*
467 (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema sp.* (Microsporidia:
468 Nosematidae). Biol. Control. 63: 164-171.
- 469 VACARI, A.M., AND DE BORTOLI, S.A. 2010. Situação atual e perspectivas da
470 comercialização de agentes de controle biológico no Brasil. pp.91-102. In: BUSOLI,
471 A.C., ANDRADE, D.J., JANINI, J.C., BARBOSA, C.L., FRAGA, D.F., SANTOS,
472 L.C., RAMOS, T.O., PAES, V.S. (Eds.), Tópicos em Entomologia Agrícola III.
473 Gráfica e Editora Multipress. Jaboticabal.

- 474 VACARI, A.M., DE BORTOLI, S. A., BORBA, D.F., AND MARTINS, M.I.E.G. 2012.
475 Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host
476 densities and the estimated cost of its commercial production. Biol. Control. 63: 102-
477 106.
- 478 WENZEL, I.M., GIOMETTI, F.H.C., AND ALMEIDA, J.E.M. 2006. Patogenicidade do
479 isolado IBCB 66 de *Beauveria bassiana* à broca da cana-de-açúcar *Diatraea*
480 *saccharalis* em condições de laboratório. Arq. Inst. Biol..73:259-261.
- 481 WIEDENMANN, R.N., SMITH JR., J.W., AND DARNELL, P.O. 1992. Laboratory rearing
482 and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using
483 *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. Environ. Entomol. 21: 1160-
484 1167.
- 485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498

499
500
501
502
503
504

TABELAS, FIGURAS E LEGENDAS

Tabela 1. Características biológicas e parasitismo da geração parental (G:P) de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) expostos a diferentes tratamentos com fungos entomopatogênicos inoculados em massas de pupas do parasitoide. (Temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas)

Tratamentos	<i>Metarhizium anisopliae</i>									
	Características biológicas de <i>Cotesia flavipes</i>									
	Progênie	Fêmeas	Machos	(n ¹)	Longevidade de fêmeas (dias)	Longevidade de machos (dias)	(n ²)	Parasitismo (%)	(n ³)	
Testemunha (não tratada)	82,00 ± 6,67 a	46,40 ± 0,88 a	28,70 ± 0,67 a	10	2,25 ± 0,10 a	2,10 ± 0,10 a	40	94,00 ± 3,05 a	50	
Biometha WP Plus [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	63,70 ± 5,26 a	28,20 ± 0,74 a	35,50 ± 0,81 a	10	1,65 ± 0,15 b	1,70 ± 0,14 b	40	80,00 ± 3,43 a	50	
Biometha WP Plus [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	52,80 ± 4,71 a	29,40 ± 0,93 a	23,40 ± 0,56 a	10	1,90 ± 0,19 b	1,65 ± 0,18 b	40	88,00 ± 3,68 a	50	
Biometha WP Plus [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	67,30 ± 7,85 a	32,90 ± 0,95 a	34,40 ± 0,70 a	10	2,05 ± 0,15 a	2,00 ± 0,16 a	40	80,00 ± 3,05 a	50	
Metiê WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	60,90 ± 5,13 a	25,70 ± 0,85 a	35,20 ± 0,86 a	10	1,55 ± 0,13 b	1,65 ± 0,11 b	40	78,00 ± 3,52 a	50	
Metiê WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	51,90 ± 6,46 a	27,60 ± 0,63 a	24,30 ± 0,59 a	10	2,20 ± 0,20 a	2,15 ± 0,17 a	40	92,00 ± 3,43 a	50	
Metiê WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	55,40 ± 4,81 a	30,60 ± 0,92 a	24,80 ± 0,73 a	10	1,80 ± 0,17 b	1,90 ± 0,16 b	40	88,00 ± 3,26 a	50	
Metarril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	61,60 ± 3,47 a	20,70 ± 0,81 a	40,90 ± 0,77 a	10	2,45 ± 0,19 a	1,85 ± 0,18 b	40	92,00 ± 3,42 a	50	
Metarril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	43,70 ± 1,92 a	19,40 ± 0,87 a	24,30 ± 0,56 a	10	1,50 ± 0,16 b	1,90 ± 0,19 b	40	78,00 ± 8,01 a	50	
Metarril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	68,41 ± 6,41 a	14,10 ± 0,69 a	59,50 ± 0,96 a	10	1,25 ± 0,09 c	1,65 ± 0,23 b	40	82,00 ± 6,13 a	50	
CV	ns	ns	ns	-	40,49	41,25	-	ns	-	
Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>									
	Características biológicas de <i>Cotesia flavipes</i>									
	Progênie	Fêmeas	Machos	(n ¹)	Longevidade de fêmeas (dias)	Longevidade de machos (dias)	(n ²)	Parasitismo (%)	(n ³)	
Testemunha (não tratada)	82,00 ± 6,67 a	46,40 ± 0,88 a	28,70 ± 0,67 a	10	2,25 ± 0,10 a	2,10 ± 0,10 a	40	94,00 ± 3,05 a	50	
Biovéria G [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	74,40 ± 3,05 a	35,40 ± 0,95 a	14,90 ± 0,64 a	10	1,60 ± 0,10 b	1,75 ± 0,22 b	40	96,00 ± 3,01 a	50	
Biovéria G [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	71,20 ± 3,19 a	19,80 ± 0,83 a	41,10 ± 0,67 a	10	1,75 ± 0,16 b	1,85 ± 0,17 b	40	80,00 ± 5,88 a	50	
Biovéria G [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	83,50 ± 3,81 a	37,40 ± 0,98 a	33,00 ± 0,78 a	10	1,80 ± 0,18 b	1,45 ± 0,12 b	40	92,00 ± 4,42 a	50	
Boverril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	73,10 ± 5,38 a	29,30 ± 1,04 a	25,30 ± 0,85 a	10	1,10 ± 0,05 c	1,15 ± 0,05 c	40	58,00 ± 5,57 b	50	
Boverril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	78,50 ± 4,26 a	33,50 ± 0,83 a	36,40 ± 0,69 a	10	1,50 ± 0,12 b	1,60 ± 0,15 b	40	86,00 ± 5,33 a	50	
Boverril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	67,30 ± 3,27 a	24,00 ± 1,02 a	32,50 ± 0,58 a	10	1,20 ± 0,14 c	1,05 ± 0,05 c	40	84,00 ± 5,68 a	50	
CV	ns	ns	ns	-	34,13	43,76	-	24,35	-	

CV - Coeficiente de variação

^aDados não significativos

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

n¹ - Número de massas de pupas de *Cotesia flavipes* tratadas com os bioinseticidas

n² - Número de adultos de *Cotesia flavipes* utilizados para avaliar a longevidade

n³ - Número de adultos de *Cotesia flavipes* e lagartas de *Diatraea saccharalis* utilizadas para avaliar o parasitismo

505
506
507
508
509
510
511
512

513 Tabela 2. Longevidade de machos e fêmeas da geração filial 1 (G:F1) de *Cotesia flavipes*
 514 (Hymenoptera: Braconidae) expostos a diferentes tratamentos com fungos
 515 entomopatogênicos. (Temperatura de 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14
 516 horas)

Tratamentos	<i>Metarhizium anisopliae</i>		(n)
	Características biológicas de <i>Cotesia flavipes</i>		
	Longevidade de fêmeas (dias)	Longevidade de machos (dias)	
Testemunha (não tratada)	3,20 ± 0,19 a	3,00 ± 0,19 a	40
Biometha WP Plus [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,55 ± 0,15 b	2,40 ± 0,24 a	40
Biometha WP Plus [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	3,40 ± 0,24 a	2,30 ± 0,20 a	40
Biometha WP Plus [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,75 ± 0,19 a	2,25 ± 0,19 a	40
Metiê WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	3,25 ± 0,21 a	2,70 ± 0,21 a	40
Metiê WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,20 ± 0,23 b	2,45 ± 0,26 a	40
Metiê WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,30 ± 0,16 b	1,65 ± 0,15 b	40
Metarril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,45 ± 0,19 b	2,25 ± 0,20 a	40
Metarril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	3,05 ± 0,25 a	2,50 ± 0,17 a	40
Metarril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,25 ± 0,16 b	2,10 ± 0,15 a	40
CV	33,95	38,06	-

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>		(n)
	Características biológicas de <i>Cotesia flavipes</i>		
	Longevidade de fêmeas (dias)	Longevidade de machos (dias)	
Testemunha (não tratada)	3,20 ± 0,19 a	3,00 ± 0,19 a	40
Biovéria G [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	3,05 ± 0,24 a	2,30 ± 0,25 a	40
Biovéria G [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	3,00 ± 0,25 a	2,15 ± 0,16 a	40
Biovéria G [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,00 ± 0,20 b	1,90 ± 0,19 b	40
Boverril WP [®] (1x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,70 ± 0,14 a	2,20 ± 0,26 a	40
Boverril WP [®] (5x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,15 ± 0,15 b	1,80 ± 0,15 b	40
Boverril WP [®] (10x10 ⁹ con.mL ⁻¹)	2,40 ± 0,15 b	2,30 ± 0,14 a	40
CV	33,95	38,06	-

CV - Coeficiente de variação

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

n - Número de adultos de *Cotesia flavipes* utilizados para avaliar a longevidade

517

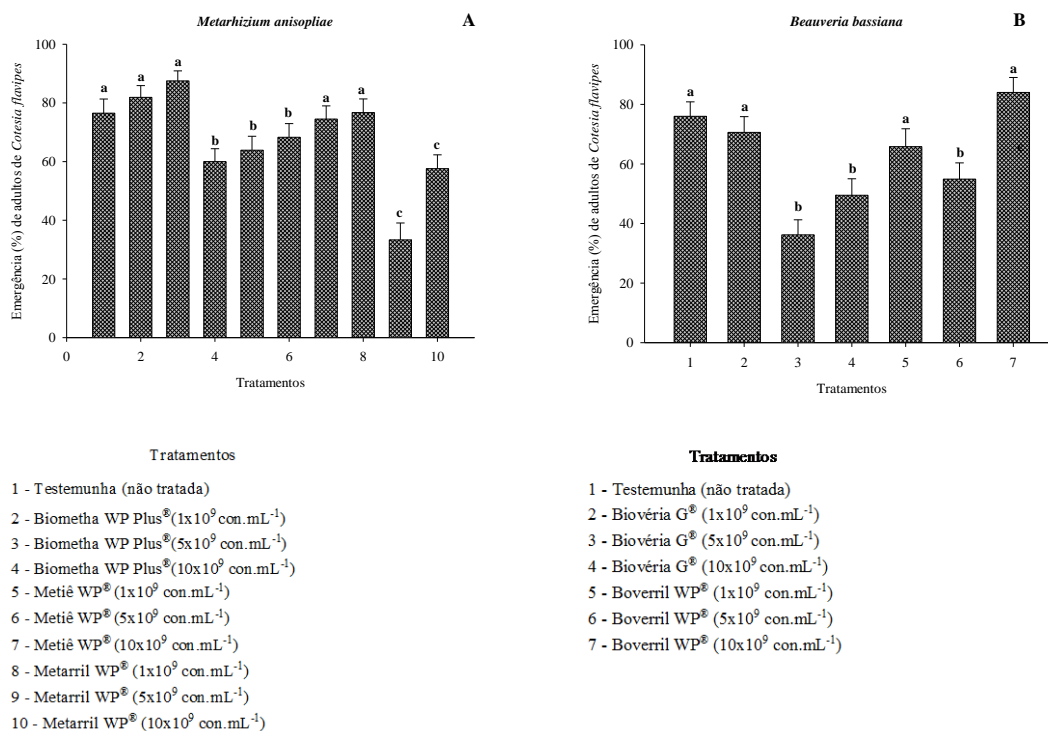
518

519

520

521

522



523 Fig. 1. Emergência (%) de adultos da geração filial 1 (G:F1) de *Cotesia flavipes*
 524 (Hymenoptera: Braconidae) expostos a diferentes tratamentos com *Metarhizium anisopliae*
 525 (A) e *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Clavicipitaceae) (B). (Temperatura de 25±2°C,
 526 umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas)

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os bioinseticidas comerciais, a base dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* não afetaram a longevidade de fêmeas de *C. flavipes* até 72 horas depois da aplicação, permitindo que a fêmea do parasitoide sobreviva tempo suficiente para realizar o parasitismo de *D. saccharalis*.

O contato dos bioinseticidas com pupas do parasitoide *C. flavipes* não reduziu o parasitismo realizado pelas fêmeas do parasitoide, exceto o produto Boverril WP[®] (1×10^9 con mL⁻¹). Dessa forma, como o parasitismo é o principal fator da eficiência do parasitoide em campo, caso os fungos entomopatogênicos entrem em contato com as pupas de *C. flavipes* este fato não vai influenciar no controle de *D. saccharalis*.

Portanto, cinco dias após a liberação de *C. flavipes*, a aplicação de fungos entomopatogênicos não compromete o desempenho do parasitoide.

NORMAS DA REVISTA FLORIDA ENTOMOLOGIST
EDITORIAL COMMENTS

*<http://www.flaentsoc.org/authins.html>
Richard Mankin*

Disk & Typescript Submission Requirements:

1. Please use the following guidelines when submitting articles for publication:
All submissions must be in MICROSOFT WORD. ALL TEXT SHOULD BE LEFT JUSTIFIED. DO NOT USE HYPHENATION ON LINE ENDINGS. Incompatible files can not be used and will not be published.

Title Page

2. Number pages as 1 -title page, 2 -abstract and key words, 3 -Resumen, 4+ text.
3. All words in title in uppercase letters.
4. Insert (Order: Family) in the title.
5. Use either ESA accepted common name or Latin binomial, not both.
6. Delete systematic authority from Latin binomial in title.
7. Authors' names in uppercase letters. If authors are not from a single affiliation, type author names, separated by commas. Use a superscript numeral to designate each affiliation. Drop down and type the affiliations in order of appearance on the author line and designate by the appropriate superscript.
- 8 Name, address, and phone number for galley proofs belong in the upper right corner beginning one line below the running head.
9. Type a running head of no more than 55 characters (including author designation) beginning in the upper left corner of the title page. Underline except for words that would normally be in italics. Use the form: Jones: New Method for Fly Control; For two authors use Jones & Smith., and for more than two, Jones et al.:. Scientific Notes carry a running head of Scientific Notes. DO NOT PLACE RUNNING HEAD ON SAME LINE AS ANY OTHER TEXT.

Order

10. Sections of the manuscript should be in the following order: title page, abstract, key words, resumen, text, acknowledgment or end note, references cited, footnotes, tables, figure legends, figures. The title page, abstract and resumen, footnotes, each table, and the list of figure legends must be on separate pages.

Abstract

11. CENTER the word ABSTRACT, typed entirely in capital letters and not underlined. Indent the first paragraph. On the page following the English abstract center the title RESUMEN. If you have prepared a Spanish translation place it here, other wise leave it blank. Do not attempt a translation unless you or your translator are very fluent in Spanish. Spanish abstract Editor will provide translation.

12. Give the systematic authority at first mention in the abstract and the text. Spell out all authorities except Linnaeus and Fabricius.

Key Words

13. Type 4-6 key words other than those in the title directly below abstract.

Text

14. Indent first paragraph of the introduction and do not type the first words entirely in capitals.

15. Routine use of common name acronyms is not encouraged. Please write out the common name or use the Latin binomial with the genus abbreviated. Ensure that you have not unnecessarily repeated the name of the organism where it is clear to which animal you are

referring. If the article is about the cabbage looper, you do not have to say "cabbage looper larvae", just say "the larvae".

16. Use "approximately", "about", or a similar term, not "ca."

17. Avoid the term "prior to". Use "before".

18. The words "since" and "while" should be used only in a temporal sense. Do not use "since" as a synonym for "because".

19. "That" is used of persons, animals, or things; "which", only of animals or things ("who" preferably designates the individual or distinguishes each member of a group, whereas "that" identifies the group or class itself). Clauses essential to the sense of a sentence (called restrictive clauses) are introduced by "that". Nonrestrictive clauses--those that describe their antecedents--are introduced by "which". Nonrestrictive clauses are parenthetical and may be omitted without harm.

20. "compared with," not "compared to."

21. Plural/singular noun requires plural/singular verb.

22. No comma, the terms are not equal (the lycaenid Eumaeus atala).

23. Insert comma, the terms are equal (a lycaenid, Eumaeus atala).

24. Improper abbreviation. See CBE Style Manual.

25. Use "per" unless reporting unit/unit measurement.

26. Use metric units only. Report English units in parentheses if deemed necessary.

27. Do not abbreviate "liter".

28. Specify photoperiod as "a photoperiod of __:__(L:D)."

29. Use "h" to abbreviate hour. Use "hours" for military time (1330 hours). Use "s" to abbreviate second.

Headings

30. Please use the heading MATERIALS AND METHODS not Methods and Materials.

31. Delete the heading "Introduction". This section is not labeled.

32. PRIMARY HEADINGS are CENTERED and in ALL CAPITAL LETTERS. DO NOT UNDERLINE.

33. SECONDARY HEADINGS are placed flush left with capitalization of the first letter of each major term. Do not underline. Drop down one line, and indent to begin the first sentence of the section.

34. Tertiary Headings. These are indented with capitalization of the first letter of each major term, underlined to indicate italics, and followed by a period. Immediately begin the first sentence of the section.

Citations in Text

35. Tables and figures must be cited in numerical order in the text. Each figure or table must be cited.

36. Reference citations in the text are separated by commas, not semicolons. Do not use a comma between author's name and date.

37. Use an ampersand (&) for "and" in text citations.

38. Do not underline "et al.", "ad hoc", or similar Latin phrases. Properly abbreviate "al."

39. If unpublished data is all from the authors of the paper cite as "(unpublished data)." If the data are from only 1 (or more) of the authors, cite as "(R.F.K & R.M.N., unpublished data)."

40. Unpublished data or a personal communication from a person other than the authors will not be published without a corroborating letter from the person cited. Please provide an affiliation sufficient for a reader to contact the communicant when citing unpublished work or personal communications.

41. In parentheses, give the manufacturer's name and address, and model number or similar identifier if relevant.

Statistical Presentation

42. Describe statistical methods in full in Materials and Methods together with citation of the methodology or software used.

43. When presenting the results of analysis of variance (or t test), specify F (or t), degrees of freedom, and Probability (or α) level either in text or in appropriate table footnotes. Present similar parameters for other statistical tests.

44. Multiple mean separation tests (Duncan, SNK, Dunnet, various so-called 'Ryans' tests, etc.) are increasingly in disfavor throughout the statistical community, having been called into question by such luminaries as Fisher, Yates, and even Duncan. The use of such tests is strongly discouraged. (If you are compelled to use an MMST we suggest the Waller-Duncan k-ratio t test). In many cases the simple presentation of means with descriptive statistics such as standard deviation, standard error of the mean, coefficient of variation, confidence limits, or variance will suffice.

Insecticides and Similar Compounds

45. Define terms such as EC, WP; then use abbreviation.

46. Use accepted common names for insecticides. Trade names may be given in parentheses at first mention in text, with name and location of manufacturer. Provide the chemical name for those without an accepted common name at first use in abstract and text.

Acknowledgment or Endnote

47. Place disclaimers, journal series numbers, funding sources, address changes other than correspondent, work as part of postgraduate degree requirements, etc. here, not in a footnote. If only acknowledgment is included, head as "ACKNOWLEDGMENT", if other information is included, head as "ENDNOTE." Do not use titles before names. Generally, people precede institutions and institutions precede grants. Spell out institutions.

Footnotes

48. Generally to be avoided. Use to indicate the address to which reprint requests should be sent, if different from the address (affiliation) of the senior author.

Figures

49. Figures must be submitted appropriately assembled (camera ready). Paste up separate units of a multiple figure into a single plate. Label appropriately.

50. Provide a separate legend for each figure or combine into a plate.

51. Photo may not reproduce well.

52. Photo or figure does not seem necessary.

53. Photo or figure not cited in text.

Tables

54. Table legend in uppercase.

55. Cite table in text.

56. Prepare table as in CBE style manual or consult past issues of Florida Entomologist.

57. Use superscript numbers to reference table footnotes.

References Cited

58. Begin on a new page.

59. All author names should be in uppercase, e.g., JONES, E. G., AND HOWARD, A. B. 1988.

60. When citing references from a book use following order: JONES, E. G. 1988. Sampling techniques, pp. 34-45 IN A. B. Howard [ed.] Insect Collecting Procedures. Bradberry Publications N. Y. 200 pp.

61. Not in journal style, change as indicated or check recent issues for style.

62. Spell out place or geographic names in journal titles (Mexicana, Georgia, Canadian, Australian, Florida, etc.)

Scientific Notes

63. Short contributions with a maximum text length of 1000 words.

64. Title page and text in logical order without headings, except "SUMMARY" and "REFERENCES CITED".
65. Summary should be 1 to 3 sentences in length "abstract-like" and located at the end of the text.
66. No more than 2 tables or figures.