

PATOGENICIDADE DE *Beauveria* spp. E SEU EFEITO ASSOCIADO AO  
INSETICIDA MONOCROTÓFOS SOBRE *Castnia licus* (DRURY, 1770)  
(LEPIDOPTERA: CASTNIIDAE)<sup>1</sup>

Artemisia M. Vilas Boas<sup>2</sup>

Sérgio B. Alves<sup>3</sup>

ABSTRACT

Pathogenicity of *Beauveria* spp. and its effect associated  
to the insecticide monocrotophos on *Castnia licus*  
(Drury, 1770) (Lepidoptera: Castniidae)

This research evaluated the pathogenicity of three isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., obtained from larvae of *Diatraea saccharalis* (F.) (196) *Stenoma decora* Zeller (246) and *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (252) and one isolate of *B. brongniartii* (Sacc.) Petch from *Castnia licus* (Drury) (258), on larvae of *C. licus* with 4-5cm in length using the dosages of  $10^6$ ,  $10^7$ , and  $10^8$  conidia/ml. The two isolates with the best results in laboratory were tested in field conditions on *C. licus* larvae, in order to evaluate the efficiency of the pathogens alone and associated with of the insecticide monocrotophos 400 at 300ml/hectare. The experiments were set in the laboratory of Entomology of PLANALSUCAR in Carpina, State of Pernambuco, and the Sugarmill Nossa Senhora das Maravilhas in Goiana, State of Pernambuco, Brazil. The isolates 196 and 252 provided the highest virulence against *C. licus* larvae, however, the isolate 258 did not differ statistically from both. The most efficient dosage for all the isolates of *Beauveria* was  $10^8$  conidia/ml. The lowest LT<sub>50</sub> values corresponded to the isolates 196 (6.07 days) and 258 (6.89 days). Monocrotophos did not inhibit the viability of the fungi in the association pathogen-insecticide. In the field test, the pure isolate 196 of *B. bassiana* was responsible for 27,3% mortality of the larvae. However, when associated to monocrotophos, it reached 45,3% mortality. The pure pathogen and the pathogen mixed with the insecticide were efficient and can be used for the control of *C. licus*.

Recebido em 16/03/1988

<sup>1</sup> Dissertação apresentada pelo 1º Autor na ESALQ/USP Piracicaba, 1986.

<sup>2</sup> IAA/PLANALSUCAR-CONOR, 55810 Carpina-PE.

<sup>3</sup> ESALQ/USP - C.P. 9, 13400 Piracicaba-SP.

## RESUMO

Foi estudada a patogenicidade de 3 isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., obtidos em larvas de *Diatraea saccharalis* (F.), *Stenoma decora* Zeller e *Hypothenemus hampei* (Ferrari) e um isolado de *B. brongniartii* (Sacc.) Petch oriundo de *Castnia licus* (Drury), sobre lagartas médias de *C. licus*, em três dosagens:  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml. Também foram testados no campo, os dois melhores isolados de laboratório, para avaliar a eficiência dos patógenos, puro e associado ao inseticida monocrotophos na dose de 300 ml/ha, sobre *C. licus*. Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Entomologia do PLANALSUCAR em Carpina, PE, e na Usina Nossa Senhora das Maravilhas em Goiana, PE. Os isolados de *B. bassiana* oriundos de *D. saccharalis* (196) e *H. hampei* (252), apresentaram maior virulência contra *C. licus*, porém o isolado de *B. brongniartii* (258) não diferiu estatisticamente de ambos. A dosagem mais eficiente de *Beauveria* foi  $10^8$  conídios/ml. Com relação aos tempos letais (LT<sub>50</sub>), os menores valores foram dos isolados 196 (6,07 dias) e 258 (6,89 dias), os quais foram escolhidos para o ensaio de campo. Na associação patógenos-inseticida, o monocrotophos não inibiu a viabilidade dos fungos. O isolado de *B. bassiana* puro foi responsável pela mortalidade de 27,3% de lagartas. Mas, quando utilizado associado ao monocrotophos, apresentou uma mortalidade de 45,3%. Tanto o patógeno puro quanto sua associação com o inseticida, demonstraram eficiência e possibilidades de utilização para o controle de *C. licus*.

## INTRODUÇÃO

A broca gigante da cana-de-açúcar *Castnia licus* (Drury, 1770) vem sendo ultimamente objeto de estudos em vários países das Américas Central e do Sul, onde tem causado graves prejuízos. Estes prejuízos ocorrem principalmente nos canaviais, nas orquídeas, musáceas e bromeliáceas silvestres. A distribuição da broca gigante, vai desde o Brasil até o México, ocorrendo também nas Guianas, Bolívia, Colômbia, Panamá e Trinidad-Tobago (GUAGLIUMI, 1973).

A primeira ocorrência de *C. licus*, atacando cana-de-açúcar no Brasil, foi feita por COSTA LIMA (1928). A sua distribuição no Brasil inclui Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Pará, onde causa prejuízos para essa cultura. Ocorre no Rio Grande do Norte e Amapá, mas sem causar prejuízos econômicos.

Em cana-de-açúcar, as lagartas perfuram internamente o colmo, causando a morte da planta ou considerável perda no peso, bem como, facilitando a penetração dos fungos da podridão

vermelha, que inverte a sacarose, diminuindo assim, a produção do açúcar.

De acordo com Sampaio & Mendonça (1979, citados por MENDONÇA (1982), em Alagoas na safra de 1978/1979, *C. licus* causou uma redução estimada em 54.000 toneladas de açúcar.

O inseto tem ciclo biológico de cerca de 177 dias (10, 110, 45 e 12 dias, tempos médios de duração, respectivamente, para ovo, lagarta, pupa e adulto) (MENDONÇA, 1982).

Para o controle de *C. licus*, já foram tentados os métodos químicos, mecânico-cultural, biológico e de resistência de plantas, sem grandes êxitos. Apenas a coleta do inseto em seus diversos estágios, de acordo com IAA/PLANALSUCAR (1983), demonstrou bons resultados. Os levantamentos efetuados nos últimos sete anos, no Estado de Alagoas, revelaram um nítido declínio no ataque desta praga.

O controle químico do inseto, até o momento, não tem se mostrado eficiente, nas dosagens recomendadas pelos fabricantes. Os inseticidas químicos atuam apenas em concentrações elevadas, tornando esse tipo de controle antieconômico.

Nos últimos três anos, vêm sendo testados os fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *B. brongniartii* (Sacc.) Petch. Em laboratório os patógenos demonstraram um comprovado efeito sobre a broca gigante (IAA/PLANALSUCAR, 1984).

Assim, o presente trabalho procurou determinar as dosagens, espécies e linhagens de *Beauveria*, mais eficientes no controle de *C. licus*, bem como sua associação com o inseticida monocrotophos, considerado o mais promissor em pesquisas já efetuadas, sendo razoavelmente compatível com os patógenos.

Os resultados deste trabalho, fornecerão subsídios para utilização da espécie e linhagens de *Beauveria* mais patogênicas à broca, como também, seu uso associado ao inseticida, diminuindo, desta maneira, os custos com o seu controle.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento de laboratório foi desenvolvido no Setor de Entomologia do PLANALSUCAR, Coordenadoria Regional Norte em Carpina-PE. O trabalho de campo foi realizado em canavial da Usina Nossa Senhora das Maravilhas em Goiana-PE.

Nos ensaios de laboratório foram utilizadas lagartas de *C. licus* procedentes de uma cultura de cana-de-açúcar, da Usina Santa Tereza, Goiana-PE, variedade CB45-3.

As lagartas selecionadas para o experimento foram de tamanho médio com 40 e 50 milímetros de comprimento.

O experimento de campo, foi realizado sobre a infestação natural do inseto, no Engenho Dois Rios, variedade CB45-3. O solo do local era do tipo Podzólico vermelho amarelo, textura média (areno-argiloso).

Foram testados 3 isolados de *B. bassiana* e um de *B. brongniartii*, de diversas procedências:

1. Ento 196 de *B. bassiana*, isolado de larvas de *Diatraea saccharalis* (Fab.) (LEP: Pyralidae) procedente de Pernambuco.
2. Ento 246 de *B. bassiana*, isolado de larvas de *Stenoma decora* Zeller (LEP.: Stenomidae) procedente da Bahia.
3. Ento 252 de *B. bassiana*, isolado de larvas de *Hypothenemus hampei* Ferrari (COL.: Scolytidae) procedente de São Paulo.
4. Ento 258 de *B. brongniartii*, isolado de larvas de *C. licus* procedente de Pernambuco.

A confirmação da espécie dos isolados foi realizada pelo Dr. Richard A. Humber do Boyce Thompson Institute, N.Y. - USA.

Os fungos foram isolados em meio de BDA mais antibióticos. Para produção em grande escala, foi utilizado o meio de arroz cozido em garrafa de soro de 500 ml com 100 g de arroz e 30 ml de água destilada, autoclavadas a 120°C, durante 30 minutos.

Foram efetuados dois experimentos, um no laboratório e outro no campo.

#### 1. Ensaio de Laboratório

O experimento constou dos seguintes tratamentos com concentrações de  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml:

1. Ento 196
2. Ento 246
3. Ento 252
4. Ento 258
5. Testemunha (Sem patógeno)

Cada parcela do tratamento constou de 10 lagartas, com 5 repetições, totalizando 50 lagartas por dosagem e 150 por isolado testado.

O delineamento estatístico adotado foi inteiramente casualizado. O LT50 foi calculado através do método de Probit, a partir dos trabalhos de SOKAL (1958), para cada patógeno nas diferentes dosagens a que foi submetido o inseto. Também foi avaliada a produção de conídios em lagarta colonizada, 15 dias após a inoculação.

Os isolados de *Beauveria* foram mantidos durante 12 dias em meio BDA. Em seguida, foram passados para o meio de cultura arroz cozido. Após 15 dias, os conídios foram retirados através de lavagem utilizando-se água destilada e esterilizada mais espalhante adesivo na dosagem de 0,01 ml/l, sendo em seguida filtrado em gaze esterilizada.

Esta suspensão original foi quantificada em câmara de Neubauer. Em seguida foram preparadas as suspensões, ajustando-as nas concentrações desejadas de  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml.

Na inoculação, as lagartas foram imersas na suspensão fúngica, durante 10 segundos. A testemunha também foi imersa durante o mesmo tempo, em água destilada esterilizada mais espalhante adesivo.

Após esse procedimento, as lagartas foram individualizadas em caixas plásticas com divisórias de eucatex, cada parcela correspondendo a uma caixa. O espaço interno de 14 x 7 x 9 cm, continha uma porção de colmo de cana-de-açúcar de 10 cm, lavado previamente e furado em uma das extremidades, para introdução parcial da lagarta neste orifício, a fim de facilitar a penetração da mesma.

As caixas foram colocadas sobrepostas umas às outras, com uma tampa de vidro entre elas, ficando as mesmas em sala de observação, à temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ .

O alimento foi trocado duas vezes por semana e o experimento revisado diariamente para verificação da mortalidade larval, durante 15 dias de observação.

A germinação dos conídios de cada tratamento e dosagem foram obtidos colocando-se 10 microlitros da suspensão, em placas de Petri contendo meio de cultura BDA mais antibiótico. Em seguida elas foram colocadas em estufa incubadora, regulada para  $22^\circ\text{C}$  e fotofase de 13 horas.

Após 20 horas foi efetuada a leitura dos conídios germinados e não germinados, sendo feitas duas leituras por placa.

O potencial de inóculo foi obtido imergindo 10 lagartas na suspensão, depois lavados e contados, em câmara de Neubauer, os conídios que ficaram sobre o tegumento, dividindo-se o resultado por dez.

## 2. Ensaio de Campo

Este foi efetuado após a seleção dos dois melhores isolados no ensaio de laboratório a fim de avaliar a eficiência no campo.

O experimento constou dos seguintes tratamentos:

1. Ento 196 - na concentração de  $10^{12}$  conídios/ha.
2. Ento 258 - na concentração de  $10^{12}$  conídios/ha.
3. Ento 196 - na concentração de  $10^{12}$  conídios/ha mais 300 ml de monocrotophos 40 SC/ha.
4. Ento 258 - na concentração de  $10^{12}$  conídios/ha mais 300 ml de monocrotophos 40 SC/ha.
5. Testemunha 1: com 300 ml de monocrotophos 40 SC/ha.
6. Testemunha 2: somente água.

Na área experimental, as canas foram cortadas no dia anterior à instalação do experimento, a fim de deixarem expostos os orifícios provocados pelo inseto.

Foi realizada uma pré-amostragem das canas, para verificação do índice de infestação de lagartas.

Os tratamentos foram repetidos cinco vezes. Cada parce-constou de 20 metros de comprimento com 7 linhas de sulcos, em espaçamento de 1,40 m, totalizando 196 m<sup>2</sup> por parcela.

O delineamento estatístico adotado foi inteiramente casualizado.

Em cada parcela foram aplicados 10 litros das suspensões correspondentes a cada tratamento, com pulverizador de costa manual JACTO de pressão constante, com bico em leque 80/2, e vazão de 500 l/ha, sendo que na testemunha foi aplicado apenas água.

A temperatura e umidade relativa do ar, no momento de aplicação, foram tomadas na região de Goiana-PE.

Para verificação da temperatura no solo, no momento da aplicação, foi utilizado um termômetro de solo e anotada a temperatura a 20 cm de profundidade. O mesmo termômetro foi introduzido na galeria da broca. Em ambos os locais, foram anotadas as temperaturas em 10 pontos distintos da área experimental, aos 0,5 e 10 minutos após o início dos trabalhos. Ain da foram registradas a temperatura e a umidade relativa do ar, para a região de Goiana, durante os 30 dias em que o experimento permaneceu no campo.

As avaliações foram efetuadas aos 10, 20 e 30 dias após a instalação do experimento. Touceiras de cana-de-açúcar foram arrancadas, coletando-se 10 lagartas por parcela, totalizando 50 por tratamento. Foram anotadas as quantidades de lagartas vivas e mortas, todas levadas ao laboratório para verificação da "causa mortis".

As lagartas vivas foram colocadas em caixas plásticas individualizadas, com alimento, da mesma maneira que no ensaio de laboratório. Foram revisadas diariamente e o alimento trocado semanalmente, verificando-se a mortalidade larval nos diferentes tratamentos.

As lagartas mortas foram individualizadas em placas de Petri, com papel filtro umedecido para confirmação do diagnóstico. Este procedimento foi efetuado até 40 dias após a instalação do ensaio, quando o experimento foi encerrado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. Ensaio de Laboratório

As lagartas de *C. licus* mortas pelos diferentes isolados, apresentaram sintomas idênticos. Inicialmente diminuíram a alimentação, depois de 24 horas de inoculadas. Após 48 horas, os movimentos se tornaram lentos, perderam a mobilidade, ficando inertes. De 48 a 72 horas, notou-se a mudança de coloração. A lagarta viva que apresentava o tegumento quase brilhante, ao ser colonizada o mesmo tornou-se opaco, de cor rosada e endurecido devido à desidratação. Por último, começaram a sair as estruturas do fungo, tornando a lagarta totalmente branca, em consequência da presença da massa de micélio e conídios do patógeno.

No Quadro 1 encontram-se os dados referentes à mortalidade de total de *C. licus* nos diferentes tratamentos e o número de lagartas mortas, comprovadamente devido aos diferentes patógenos nas dosagens de  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml.

A percentagem de mortalidade nos tratamentos por dosagem é apresentada no Quadro 2.

As médias das percentagens de mortalidade de lagartas de *C. licus* obtidas pelos tratamentos, encontram-se no Quadro 3.

Analisando-se a mortalidade provocada pelos patógenos, em todas as dosagens, observou-se que, os melhores tratamentos foram aqueles inoculados com *B. bassiana* oriundos de *H. hampei* (252) e de *D. saccharalis* (196). O menos eficiente foi o 246 *B. bassiana* de *S. decora*. O tratamento inoculado com *B. brongniartii* de *C. licus* foi intermediário.

Nas dosagens mais altas ( $10^7$  e  $10^8$ ), os patógenos provocaram mortalidades superiores às da dosagem menor ( $10^6$ ), diferindo estatisticamente (Quadro 4).

No Quadro 5 estão relacionadas as médias das percentagens de mortalidade de *C. licus*, provocadas por isolado nas diferentes dosagens.

QUADRO 1 - Número total de lagartas de *Castnia licus* mortas nos tratamentos e mortas devido aos diferentes isolados e dosagens ( ). Temperatura de  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 13 horas. Janeiro de 1985. Carpina-PE.

Tratamentos	Dosagens (Conídios/ml)		
	$10^6$	$10^7$	$10^8$
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	39 (37)	47 (46)	50 (50)
246 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	41 (39)	40 (38)	43 (40)
252 - <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	40 (39)	49 (47)	50 (49)
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	45 (44)	46 (43)	49 (46)
Testemunha	11 (01)	11 (01)	11 (01)

QUADRO 2 - Mortalidade de lagartas (%) de *Castnia licus*, pelos patógenos, nas três dosagens. Temperatura de  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , fotofase de 13 horas. Janeiro de 1985. Carpina-PE.

Tratamentos	Dosagens (Conídios/ml)		
	$10^6$	$10^7$	$10^8$
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	74,0 a	92,0 a	100,0 a
252 - <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	78 a	94,0 a	98,0 ab
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	84,0 a	90,0 a	92,0 ab
246 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	76,0 a	78,0 a	80,0 b

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



QUADRO 3 - Médias das percentagens de mortalidade de lagartas de *Castnia licus* pelos tratamentos. Temperatura  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , fotofase de 13 horas. Janeiro de 1985. Carpina-PE.

Tratamentos	Percentagens de Mortalidade
252 - <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	90,0 a
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	88,7 a
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	86,7 ab
246 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	78,0 b
Testemunha	2,0 c

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

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

QUADRO 4 - Médias gerais das percentagens de mortalidade de lagartas de *Castnia licus*, provocadas pelos isolados de *Beauveria* spp., nas dosagens  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml.

Dosagem (n)	Percentagens de Mortalidade
$10^8$	92,5 a
$10^7$	88,5 a
$10^6$	78,0 b

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

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

Analisando as mortalidades provocadas pelos isolados 196 e 252 de *B. bassiana* e 258 de *B. brongniartii*, observou-se que não há diferença entre as dosagens de  $10^7$  e  $10^8$  e também entre  $10^6$  e  $10^7$ . Há diferença estatística apenas entre as doses de  $10^6$  e  $10^8$ . Já para o isolado 246 de *B. bassiana*, não houve diferença estatística entre as dosagens (Quadro 5).

Quando se analisa a mortalidade das lagartas nas dosagens  $10^6$  e  $10^7$  (Quadro 2) nota-se que não houve diferença estatística entre os isolados. Na dosagem de  $10^8$ , o tratamento que provocou maior mortalidade foi 196 *B. bassiana*. O menos eficiente foi o 246 *B. bassiana*. Os tratamentos 252 *B. bassiana* e 252 *B. brongniartii*, formaram um grupo intermediário.

Assim o aumento da dosagem, proporcionou a todos os patógenos, um incremento na mortalidade de *C. licus* (Quadro 2). O isolado 246 de *B. bassiana*, apresentou as menores percentagens de mortalidade (76,0, 78,0 e 80,0%, respectivamente para

as dosagens de  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml do patógeno). O fato pode ser atribuído a virulência do isolado e não ao potencial do inóculo. Este isolado apresentou um potencial de  $1,59 \times 10^6$  conídios/lagarta em sua dosagem máxima, superior portanto, ao isolado 196 de *B. bassiana*, que foi  $1,11 \times 10^6$  conídios/lagarta (Quadro 8), que no entanto foi mais eficiente, provocando mortalidades de 74,0, 92,0 e 100% nas mesmas dosagens (Quadro 2).

### 1.1 Tempo Letal Mediano (LT<sub>50</sub>) dos patógenos sobre *Castnia licus* nas três dosagens.

Os dados de LT<sub>50</sub> para cada patógeno, nas três dosagens, encontram-se no Quadro 7. A representação gráfica dos LT<sub>50</sub> estão nas Figuras 1, 2 e 3.

Para a dosagem de  $10^6$  conídios/ml, os isolados de *B. bassiana* de número 252 de *H. hampei* e de *B. brongniartii* 258 oriundo de *C. licus* foram os que apresentaram melhores LT<sub>50</sub>, respectivamente 10,59 e 10,68 dias.

QUADRO 5 - Médias das percentagens de mortalidade larval de *Castnia licus*, provocadas pelos isolados de *Beauveria* spp. nas três dosagens.

Isolado	Dosagens	Percentagens de Mortalidade
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	$10^8$	100,0 a
	$10^7$	92,0 ab
	$10^6$	74,0 b
246 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	$10^8$	80,0 a
	$10^7$	78,0 a
	$10^6$	76,0 a
252 - <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	$10^8$	98,0 a
	$10^7$	94,0 ab
	$10^6$	78,0 b
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	$10^8$	92,0 a
	$10^7$	90,0 ab
	$10^6$	84,0 b

Dados transformados em arco  $\sqrt{x}$ .

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

Já na dosagem de  $10^7$  conídios/ml, os que apresentaram um menor tempo letal mediano, foram respectivamente os de número 252 (8,33 dias) e o 196 *B. bassiana* oriundo de *D. saccharalis* (8,76 dias).

Na dosagem de  $10^8$  conídios/ml, os isolados que apresentaram os menores valores de  $LT_{50}$ , foram o 196 (6,07 dias) e 258 (6,89 dias).

O isolado de *B. bassiana* oriundo de *S. decora*, foi o que apresentou os maiores valores de  $LT_{50}$ : 12,11, 12,09 e 10,33 dias na dosagem de  $10^8$  conídios/ml. Para os outros dois isolados, respectivamente para as dosagens de  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  conídios/ml.

Para o  $LT_{90}$ , os melhores isolados foram 196 *B. bassiana* e 258 *B. brongniartii*, sendo respectivamente 10,94 e 14,41 dias na dosagem de  $10^8$  conídios/ml. Para os outros dois isolados, o tempo foi superior a 20 dias.

Dados semelhantes aos obtidos neste trabalho, foram constatados por ROBERT & MARCHAL (1980) sobre larvas de *Plutella maculipennis* com uma concentração de  $10^8$  conídios/ml de *B. brongniartii* e *B. bassiana*. Eles conseguiram mortalidades, de respectivamente 90 e 99,99%, aos 10 dias após a inoculação.

Entretanto, DOBERSKY (1981), obteve para larvas de *Scolytus scolytus*, um  $LT_{50}$  de 6,2 até 10,3 dias com uma dosagem de  $10^5$  conídios/ml.

Ainda BELL & HAMALLE (1970), obtiveram 100% de mortalidade do curculionídeo *Chalcodermus aeneus*, aos 7 dias de inoculação, com uma dosagem de  $186 \times 10^9$  conídios/g de substrato.

Na dosagem de  $10^7$  conídios/ml, o  $LT_{50}$  na presente pesquisa, variou de 8,33 até 12,09 dias (Figura 2), enquanto que RIBA *et al.* (1983), nesta mesma dosagem e utilizando *Ostrinia nubilalis* como inseto teste, conseguiram 50% de mortalidade, entre 8,4 e 28,2 dias, dependendo da raça do fungo.

Também FERRON (1967), utilizando *B. tenella* sobre *Melolontha melolontha*, verificou que, para causar 50% de mortalidade, são necessários 50 dias, com dosagem de  $10^8$  conídios/g. Ele ainda observou que, a mortalidade teve uma correlação positiva com a quantidade de conídios e que também a virulência do isolado é um dos fatores importantes para o êxito do trabalho.

Para o teste de campo, foram escolhidos os isolados 196 de *B. bassiana* oriundo de *D. saccharalis* (Figura 4) e 258 de *B. brongniartii* de *C. licus*. Apesar do 252 *B. bassiana* ter tido o melhor performance em laboratório, na escolha considerou-se o fato do 196 e 258 serem originários da região de Pernambuco, onde se desenvolveu o ensaio e também por terem se apresentado eficientes no controle de *C. licus*, não havendo diferença estatística entre eles (Quadro 3).

1.2 Percentagem de germinação dos conídios de *Beauveria* spp. em meio BDA mais antibiótico e Potencial de Inóculo de *Beauveria* spp.

As percentagens de germinação dos conídios dos patógenos estudados encontram-se no Quadro 6. No período de 24 horas quase todos os conídios germinaram (94 a 99,1%).

QUADRO 6 - Percentagens de germinação dos conídios de *Beauveria* spp. em meio BDA mais antibiótico. Temperatura 22°C, fotofase de 13 horas.

Isolado	Percentagem de Germinação após	
	20 h	24 h
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	91,5	97,6
246 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	93,5	98,5
252 - <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	94,5	99,1
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	90,5	94,0

No Quadro 8, constam os dados das quantidades de conídios sobre o tegumento do inseto, nas três dosagens testadas.

## 2. Ensaio de Campo

Na pré-amostragem, realizada em 110 touceiras de cana-de-açúcar, foram encontradas 249 lagartas, com uma média de 2,26 lagartas/touceira.

O número total de *C. licus* mortas nos tratamentos, encontra-se no Quadro 9.

No Quadro 10, constam as percentagens de mortalidade nos tratamentos.

No Quadro 11, encontram-se as médias das percentagens de mortalidade larval de *C. licus*, em função dos tratamentos.

As maiores mortalidades de lagartas de *C. licus*, foram obtidas quando utilizou-se o patógeno associado ao monocrotophos, tendo a associação com o isolado 196 de *B. bassiana*, apresentado maior percentagem de mortalidade (Quadro 11).

QUADRO 7 - Tempos letais medianos (LT<sub>50</sub>) das lagartas de *Castnia licus*, para os diferentes patógenos e dosagens, com seu Intervalo de Confiança (IC), Coeficiente linear (a), Coeficiente angular (b) e X<sup>2</sup> calculado e de tabela. Temperatura 26 ± 2°C, UR 70 ± 10%, fotofase de 13 horas. Carpina-PE.

Patógenos	Dosagens	LT <sub>50</sub> (dias)	IC*	a	b	X <sup>2</sup>	X <sup>2</sup>
						Calculado	Tabela
196 <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	10 <sup>6</sup>	11,58	10,67 a 12,57	1,40093	3,38337	5,12	18,31
	10 <sup>7</sup>	8,76	8,07 a 9,52	1,78783	3,40739	5,21	18,31
	10 <sup>8</sup>	6,07	5,89 a 6,24	1,02669	5,07469	0,52	15,51
246 <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	10 <sup>6</sup>	12,11	11,43 a 12,82	1,88341	2,87743	0,72	15,51
	10 <sup>7</sup>	12,09	11,39 a 12,85	0,99122	3,70264	1,58	16,92
	10 <sup>8</sup>	10,33	9,73 a 10,97	1,04463	3,89955	2,47	16,92
252 <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	10 <sup>6</sup>	10,59	10,00 a 11,21	1,06504	3,83968	2,69	18,31
	10 <sup>7</sup>	8,33	7,92 a 8,75	1,23492	4,08965	1,31	14,07
	10 <sup>8</sup>	7,43	6,98 a 7,91	3,11398	2,16471	1,09	16,92
258 <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	10 <sup>6</sup>	10,68	9,67 a 11,80	2,21921	2,70337	4,91	18,31
	10 <sup>7</sup>	9,77	9,27 a 10,29	1,64058	3,39397	2,32	19,68
	10 <sup>8</sup>	6,89	6,61 a 7,19	1,59177	4,06383	1,43	16,92

\* Ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 8 - Potencial de inóculo (n conídios  $10^6$ ) dos diferentes isolados de *Beauveria* spp., que efetivamente ficaram sobre o tegumento da lagarta de *Castnia licus*.

Isolado	Dosagem	Conídios/Lagarta	
		n* $10^6$	% de permanência
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	$10^6$	0,096	9,60
	$10^7$	0,313	3,13
	$10^8$	1,110	1,11
246 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. decora</i> )	$10^6$	0,150	15,00
	$10^7$	0,864	8,64
	$10^8$	1,595	1,60
252 - <i>B. bassiana</i> ( <i>H. hampei</i> )	$10^6$	0,129	12,90
	$10^7$	0,540	5,40
	$10^8$	2,290	2,29
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	$10^6$	0,218	21,80
	$10^7$	0,435	4,35
	$10^8$	1,965	1,97

QUADRO 9 - Número total de lagartas de *Castnia licus* mortas nos tratamentos em três avaliações. Janeiro de 1986. Goiana, PE.

Tratamento	Dias após a aplicação		
	10	20	30
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	13	14	14
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	11	15	12
196 - <i>B. bassiana</i> + Inseticida	12 + 15	5 + 16	8 + 12
258 <i>B. bassiana</i> + Inseticida	11 + 13	4 + 13	8 + 11
Inseticida	22	15	11
Testemunha	7	3	4

QUADRO 10 - Percentagem de mortalidade das lagartas de *Castnia licus*, em condições de campo, em três períodos de avaliação. Janeiro de 1986. Goiana-PE.

Tratamentos	Dias após a aplicação		
	10	20	30
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>S. saccharalis</i> )	26,0	28,0	28,0
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> )	22,0	30,0	24,0
196 - <i>B. bassiana</i> + Inseticida	24,0 + 30,0	10,0 + 32,0	16,0 + 24,0
258 - <i>B. brongniartii</i> + Inseticida	22,0 + 26,0	8,0 + 26,0	16,0 + 22,0
Inseticida	44,0	30,0	22,0

QUADRO 11 - Médias das percentagens de mortalidade de lagartas de *Castnia licus*, em função dos tratamentos nas três épocas, em condições de campo. Janeiro de 1986. Goiana, PE.

Tratamentos	Percentagens de mortalidade
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> ) + Inseticida	45,3 a
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. licus</i> ) + Inseticida	40,0 ab
Inseticida	32,0 ab
196 - <i>B. bassiana</i>	27,3 b
258 - <i>B. brongniartii</i>	25,3 b
Testemunha	9,3 c

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

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

Os tratamentos menos eficientes foram o 196 e 258 dos patógenos puros. Os outros tratamentos formaram um grupo intermediário.

As percentagens de mortalidade de *C. licus*, não foram altas para os tratamentos com suspensão de *Beauveria* puro, na dose de  $10^7$  conídios/ml e podem ser comparadas às obtidas por ALVES *et al.* (1985), que conseguiram 45 a 56% de mortalidade de *D. saccharalis* em campo, com dosagens de  $3,7 \times 10^7$  e  $3,7 \times 10^8$  conídios/ml, respectivamente.

Para as épocas, não houve diferença entre as três, conforme consta no Quadro 12.

QUADRO 12 - Médias das percentagens de mortalidade larval de *Castnia licus*, em função dos tratamentos, aos 10, 20 e 30 dias após a aplicação. Janeiro de 1986. Goiana, PE.

Época (dias)	Percentagens de Mortalidade
10	34,7
20	28,3
30	26,7

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

Apesar do inseticida não ter afetado a viabilidade dos conídios (Quadro 13), também não incrementou significativamente a mortalidade (Quadro 11).

Diversos autores conseguiram mortalidades bastante altas para outros insetos, quando utilizaram *Beauveria* spp. associados com inseticidas (BOLDYREV, 1977; GORAL & LAPPA, 1978; BERATLIEF, 1979; LAKHIDOV & YANYSHEVA, 1981).

Monocrotophos foi o inseticida escolhido devido à sua ação eficiente sobre lagartas de *C. licus* (LIMA & MARQUES, 1984), reforçado pela recomendação de ALVES (1984) de que poderia ser empregado em mistura. Contudo, no presente trabalho, a associação patógeno-inseticida, não incrementou, significativamente, a mortalidade da praga, talvez por ter sido utilizada a dosagem mínima. Desta maneira, será de grande interesse, experimentos com novos grupos de defensivos, com os quais foram conseguidas significativas mortalidades dos insetos (GORAL & LAPPA, 1977; BOLDYREV, 1977; LAPPA, 1978; BERATLIEF, 1979; LAKHIDOV & YANYSHEVA, 1981).



2.1 Viabilidade dos conídios de *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii* em meio BDA mais antibiótico.

As médias das percentagens de germinação dos conídios dos patógenos estudados, em suspensões puras e associadas com o inseticida monocrotophos, encontram-se no Quadro 13.

QUADRO 13 - Percentagens de germinação dos conídios de *Beauveria* spp. de suspensões puras e associadas com o inseticida, em meio de cultura BDA mais antibiótico. Temperatura de 22°C, fotofase de 13 horas.

Isolado	Percentagem de germinação	
	20 h	24 h
196 - <i>B. bassiana</i> ( <i>D. saccharalis</i> )	98,0	99,6
258 - <i>B. brongniartii</i> ( <i>C. lícus</i> )	97,5	99,7
196 + Monocrotophos	91,0	92,6
258 + Monocrotophos	92,0	92,1

Por esses dados pode-se notar que monocrotophos na dosagem mínima, não influenciou na viabilidade dos patógenos em meio de cultura (Quadro 13), entretanto RAMARAJE *et al.* (1967), constataram que parathion methyl, apesar de não sistêmico como monocrotophos, retardou a esporulação de *B. bassiana*. Estes resultados também foram conseguidos por CADATAL & GABRIEL (1970), utilizando methidathion e fenitrothion, do mesmo grupo químico.

Mesmo empregando as concentrações mínimas recomendadas pelo fabricante, os inseticidas pertencentes ao grupo dos fosforados, inibem, parcial ou totalmente, a esporulação de *Beauveria* spp. (GARDNER *et al.*, 1979; CARNEIRO, 1981; CLARK *et al.*, 1982; AGUDA *et al.*, 1984). Apenas nos trabalhos de GALANI (1981) com methidathion, *B. bassiana* não foi suscetível ao produto. Entretanto, isto não pode ser atribuído à dose aplicada, pois na presente pesquisa, utilizou-se a dose mínima, recomendada pelo fabricante (300 ml/ha), semelhante portanto aos trabalhos dos autores citados.

## 2.2 Temperatura no Solo

As médias de temperatura e umidade relativa do ar, no dia da aplicação, foram respectivamente, 24,1°C e 76%.

As temperaturas do solo a 20 centímetros de profundidade e dentro das galerias da broca, tomadas no momento da aplicação em intervalos de 0,5 e 10 minutos, foram respectivamente, 29,6, 37,1 e 36,5°C no solo e 27,7, 34,4 e 34,4°C no interior das galerias.

A temperatura e umidade relativa do ar na região de Goiana, PE, registradas durante o período de 04.12.85 a 08.01.86, encontram-se representadas graficamente na Figura 5.

As mortalidades, conseguidas neste trabalho, inferiores às de outros autores, podem ser atribuídas às temperaturas do solo e das galerias na cana-de-açúcar, no momento da aplicação. A temperatura ótima para crescimento do fungo, está em torno de 20° a 30°C (FERRON, 1967; ROBERTS & YENDOL, 1971; LINGG & DONALDSON, 1981; FARGUES *et al.*, 1983; LECUONA, 1986) e neste experimento, a temperatura após os 10 minutos iniciais, se estabilizou em torno de 36,5 e 34,4°C, respectivamente no solo e nas galerias. Essa faixa de temperatura não é, evidentemente, favorável ao patógeno.

Entretanto, a persistência do fungo no solo também depende do tipo de solo, umidade, pH, matéria orgânica, flora microbiana, que podem ou não afetar a longevidade do patógeno (LINGG & DONALDSON, 1981; FERRON, 1983; GOTTWALD & TEDDERS, 1984; FARGUES *et al.*, 1983; FARGUES & ROBERT, 1985; BAJAN, 1981; WOJCIECHOWSKA *et al.*, 1979; BAJAN & FEDORKO, 1983).

Trabalhos dessa natureza, são imprescindíveis dentro do programa de manejo integrado de *C. licus*, já que este inseto possui hábito subterrâneo. Entretanto as mariposas depositam os ovos no solo, ao redor das touceiras de cana-de-açúcar e as lagartas quando eclodem, caminham até a planta, a fim de penetrarem no colmo, sendo este o momento ideal para realizar o controle, efetuando a pulverização do patógeno puro ou em associação com inseticidas, ao redor das touceiras. Esta prática poderá ser adotada, principalmente, em áreas com grande infestação de *C. licus*, quando não for econômica a renovação do canal.

## CONCLUSÕES

As espécies *Beauveria bassiana* e *B. brongniartii* são patogênicas para *Castnia licus* (Drury, 1770);

- . Levando-se em consideração os tempos letais, os isolados mais virulentos para *C. licus* são o 196 de *B. bassiana* originário de *D. saccharalis* e o 258 - *B. brongniartii* proveniente de *C. licus*;
- . A dosagem mais eficiente para todos os isolados testados é  $10^8$  conídios/ml;
- . Na associação patógenos + monocrotophos, o inseticida não inibiu a viabilidade desses fungos;
- . Os tratamentos mais eficientes para o controle da praga no campo, são o isolado 196 - *B. bassiana* puro e associado a monocrotophos;
- . Para as condições da região de Pernambuco, é viável a utilização dos isolados 196 - *B. bassiana* e 258 - *B. brongniartii*, tanto puro quanto associado a um inseticida, para controle da lagarta de *C. licus*.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos aos Drs. Edmilson Jacinto Marques, Ricardo Otaviano Ribeiro de Lima e Sonia Maria Alves Ribeiro, aos Técnicos Agrícolas Cláudio Barbosa e Carvalho e Edson Lucena de Melo e ao pessoal do Laboratório de produção de fungo do IAA/PLANALSUCAR pelo apoio e colaboração na execução deste trabalho.

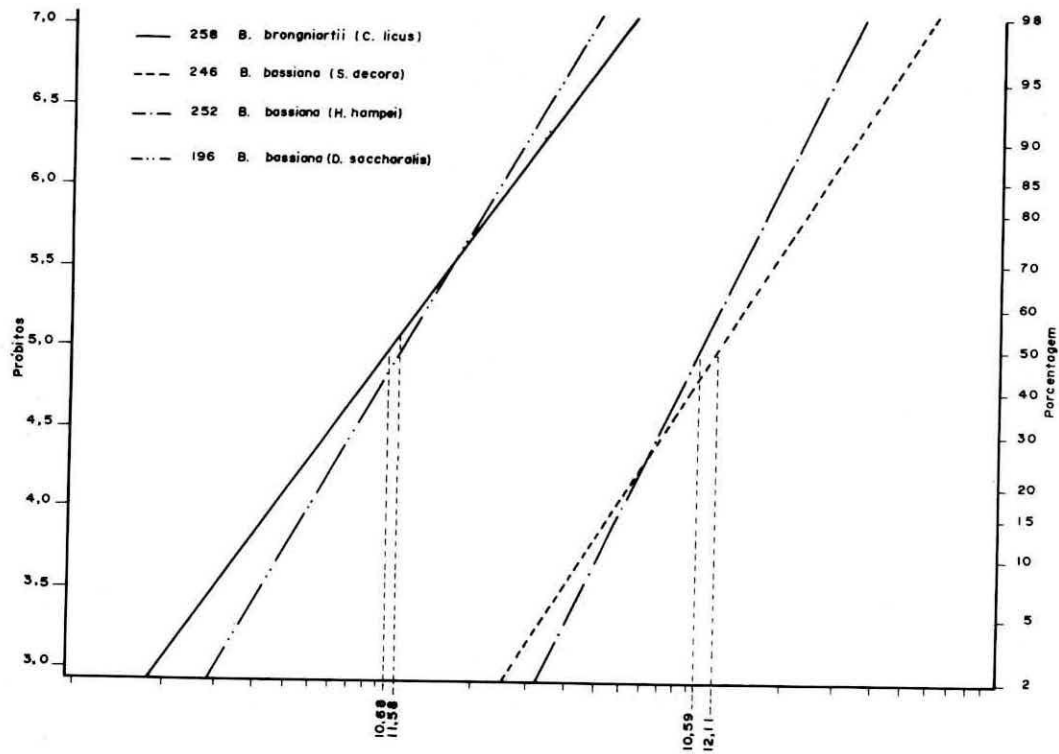


FIGURA 1 - Tempos letais medianos em dias para lagartas de *C. licus*, em bioensaios com os diferentes isolados de *Beauveria* spp. na dosagem de  $10^6$  conídios/ml (escala log./próbitos).

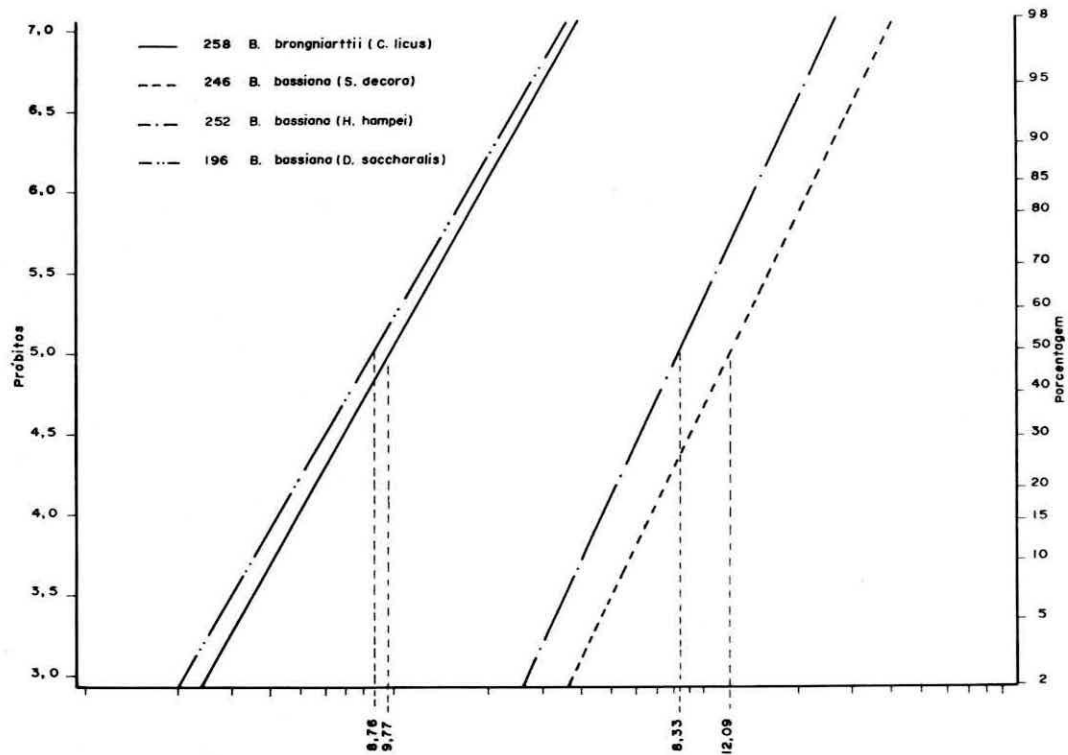


FIGURA 2 - Tempos letais medianos em dias para lagartas de *Castnia licus*, em bioensaios com os diferentes isolados de *Beauveria* spp. na dosagem de  $10^7$  conídios/ml (escala log./próbitos).

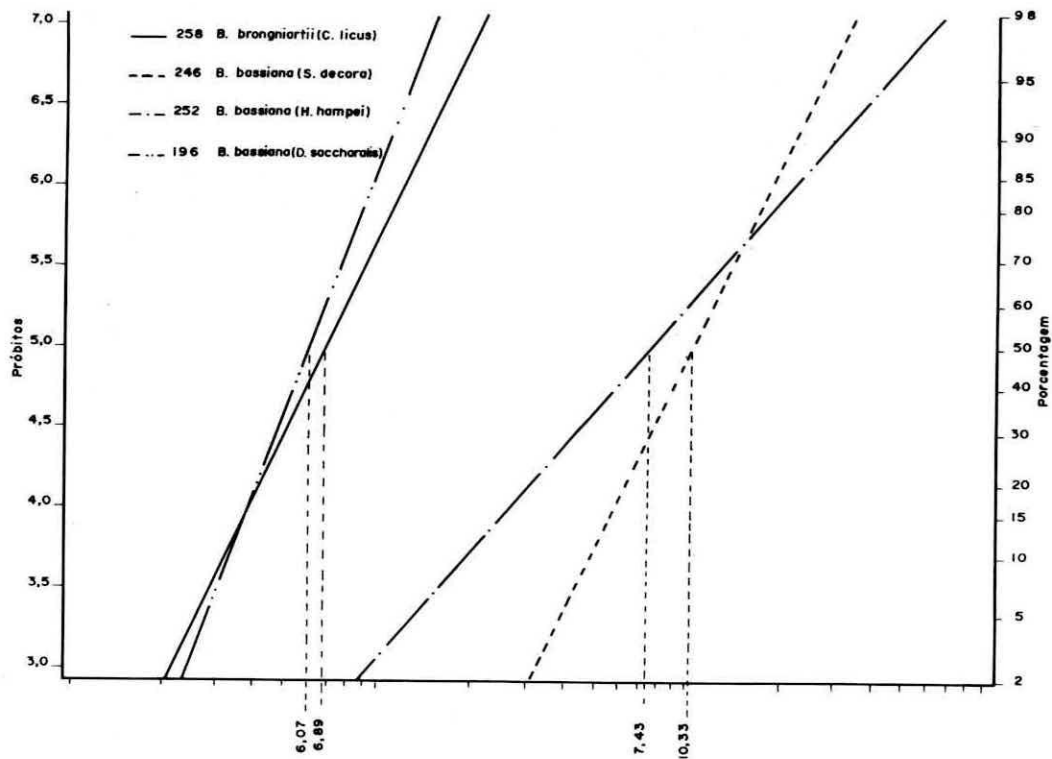


FIGURA 3 - Tempos letais medianos em dias para lagartas de *Castnia licus*, em bioensaios com os diferentes isolados de *Beauveria* spp. na dosagem de  $10^8$  conídios/ml (escala log./próbitos).

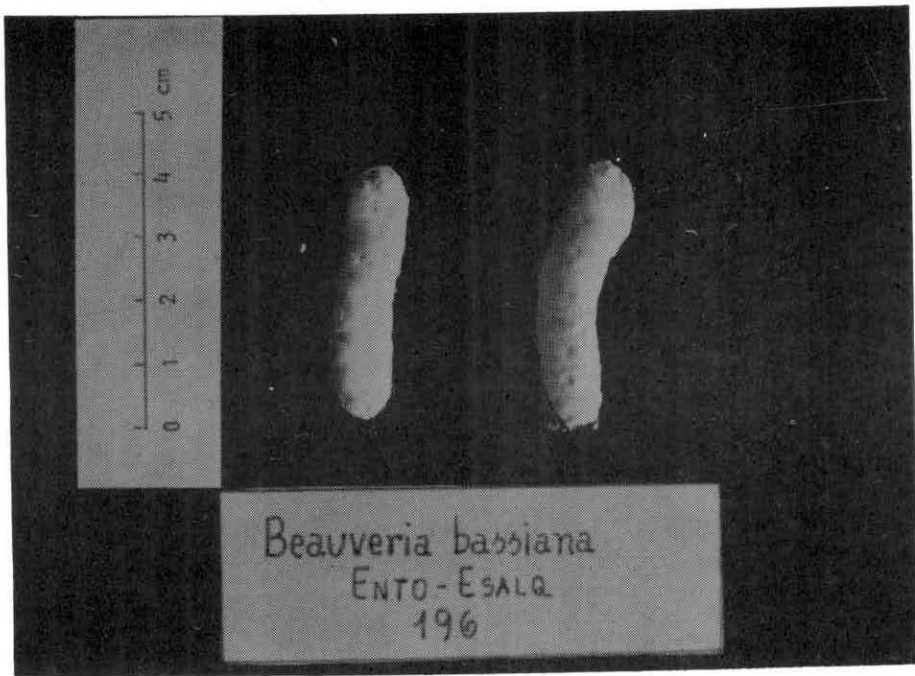


FIGURA 4 - Lagartas de *Castnia licus* colonizadas pelo isolado 196 de *B. bassiana*, 15 dias após a inoculação.

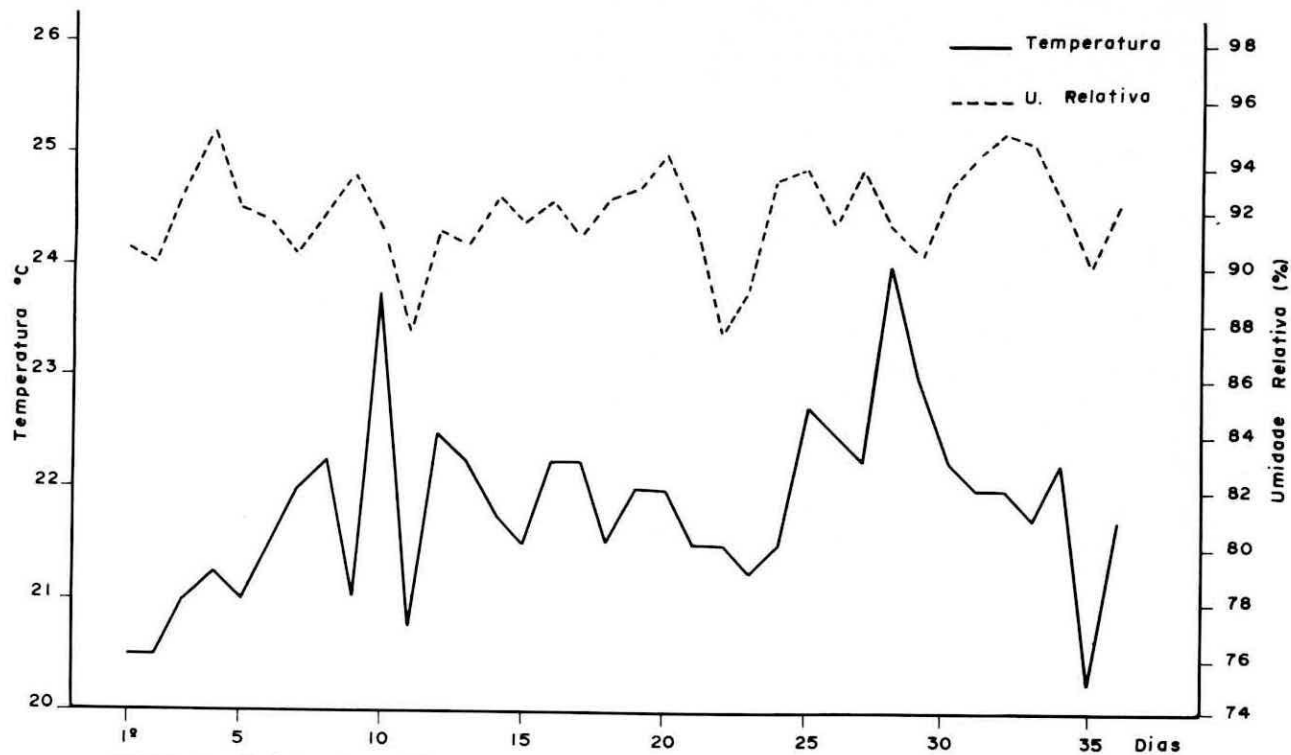


FIGURA 5 - Gráfico das médias de temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental (04.12.85 a 08.01.86) na Região de Goiana, PE.



## LITERATURA CITADA

- AGUDA, R.M.; SAXENA, R.C.; LITSINGER, J.A.; ROBERTS, D.W. Inhibitory effects of insecticides on entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Int. Rice Res. Newsl.* 9(6): 16-17, 1984.
- ALVES, S.B. Pesquisas de base sobre o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., para controle das cigarrinhas da cana-de-açúcar. Piracicaba, 1984, 29p. (Relatório PLANAL-SUCAR).
- ALVES, S.B.; MOURA PÁDUA, L.E. de; AZEVEDO, E.M.V.M.; ALMEIDA, L.C. Controle da broca da cana-de-açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. *Pesqui. Agrop. bras.* 20(4): 403-406, 1985.
- BAJAN, C. Duration of entomopathogenic fungi introduced into soil. *Bulletin de L'Academie Polonaise des Sciences Biologiques* (1979, publ. 1980). Lomianki, 27(11): 955-957. *Apud: Rev. Appl. Entomol.* 69(6): 411, 1981.
- BAJAN, C. & FEDORKO, A. The course of diminishing numbers of entomopathogenic fungi introduced to soil. *Polish Ecological Studies* (1982). Lomianki, 8(3/4): 453-471. *Apud: Rev. Appl. Entomol.* 71(12): 947, 1983.
- BELL, J.V. & HAMALLE, R.J. Three fungi tested for control of the cowpea curculio, *Chalcodermus aeneus*. *J. Invertebr. Pathol.* 15: 447-450, 1970.
- BERATLIEF, Z. Investigation on the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., and its action on the colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) and the beet weevil (*Bothynoderes punctiventris* Germ.). *Anal. Inst. Cerc. Prot. Plantelor* 15: 233-241, 1979.
- BOLDYREV, M.I. Against the codling moth. *Zachchita Rastenii*, 10(5): 24, 1977.
- CADATAL, T.D. & GABRIEL, B.P. Effect of chemical pesticides on the development of fungi pathogenic to some rice insects. *Philip. Ent.* 1(5): 379-395, 1970.
- CARNEIRO, J.S. Toxicidade de defensivos agrícolas sobre os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Piracicaba, ESALQ/USP, 1981. 78p. (Dissertação de Mestrado).
- CLARK, R.A.; CASAGRANDE, R.A.; WALLACE, D.B. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the colorado potato beetle *Environ. Ent.* 11(1): 67-70, 1982.

- COSTA LIMA, A.M. da. *Relatório de ano de 1927*. Recife. Secr. Agric., 1928. p. 96-118.
- DOBERSKY, J.W. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus solytus*: Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus* to larvae and adults of *S. scolytus* *J. Invertebr. Pathol.* 37: 188-194, 1981.
- FARGUES, J.; REISINGER, O.; ROBERT, P.H.; AUBART, C. Biodegradation of entomopathogenic hyphomycetes: influence of clay coating on *Beauveria bassiana* blastospore survival in soil. *J. Invertebr. Pathol.* 41: 131-142, 1983.
- FARGUES, J. & ROBERT, P.H. Persistence des conidiospores des hyphomycètes entomopathogènes *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor., *Nomuraea rileyi* (F.) Samson et *Paecilomyces fumoso-roseus* Wize, dans le soil, en condition contrôlées. *Agronomie*, 5(1): 73-79, 1985.
- FERRON, P. Étude en laboratoire des conditions écologiques favorisant le développement de la mycose à *Beauveria tenella* du ver blanc. *Entomophaga* 12(3): 257-293, 1967.
- FERRON, P. Artificial induction of an epizootic of *Beauveria brongniartii* among a population of *Melolontha melolontha*. *Symbioses* 15(1): 75-83, 1983.
- GALANI, G. Influence of some pesticides on the germination and growth of the entomopathogenic fungi *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas, *Paecilomyces farinosus* (Dicks ex Fr.) and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Anal. Inst. Cere. Prot. Plantelor* 16: 243-252, 1981.
- GARDNER, W.A.; SUTTON, R.M.; NOBLET, R. Evaluation of the effects of six selected pesticides on the growth of *Nomuraea rileyi* and *Beauveria bassiana* in broth cultures. *Jl. Ga. ent. Soc.* 14(2): 106-113, 1979.
- GORAL, V.M. & LAPPA, N.V. The effects of Boverin, and certain insecticides on the population numbers of the Colorado beetle. *Zakhist Roslin* 20: 51-60, 1974 (1976). *Apud: Rev. Appl. Entomol.* 65(4): 617, 1977.
- GORAL, V.M. & LAPPA, N.V. Effectiveness of mixtures of Boverin and dilor for control of the Colorado beetle at various rates of application of the materials. *Zakhist Roslin* 24: 36-41, 1978. *Apud: Rev. Appl. Entomol.* 66(9): 559, 1978.
- GOTTWALD, T.R. & TEDDERS, L. Colonization, transmission and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionidae) in the soil. *Environ. Ent.* 13(2): 557-560, 1984.

- GUAGLIUMI, P. *Pragas da cana-de-açúcar*, Nordeste do Brasil. Rio de Janeiro, Instituto do Açúcar e do Alcool, 1972/73. 622p. (Coleção Canavieira, 10).
- IAA/PLANALSUCAR. *Relatório Anual*, Piracicaba, p. 38. 1983.
- IAA/PLANALSUCAR. *Relatório Anual*, Piracicaba, p. 32. 1984.
- LAKHIDOV, A.I. & YANYSHEVA, O.V. The effect of dilor and Beauverin on the colorado beetle and entomophages. *Kartofel' i Oboshchi* 5: 37-38, 1979. *Apud: Rev. Appl. Entomol.* 69 (2): 107, 1981.
- LAPPA, N.V. Practical application of entomopathogenic muscardine fungi. IN: IGNOFFO, C.M., ed. *Productions selection and standardization of entomopathogenic fungi of the US/USSR*. Joint Working Group on the Production of substances by microbiological means, 1978. p. 51-61.
- LECUONA, R.E. *Controle associado de Diatraea saccharalis (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae) com Beauveria bassiana (Bals.) Vuill., B. brongniartii (Sacc.) Petch e vírus da granulose e simulações dos efeitos de sua aplicação*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1986. 170p. (Dissertação de Mestrado).
- LIMA, R.O.R. & MARQUES, E.J. Efeito de alguns inseticidas no controle de *Castnia licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera, Castniidae), broca gigante da cana-de-açúcar, após o rebaixamento das cepas. *An. Soc. ent. Brasil* 13(1): 29-34, 1984.
- LINGG, A.J. & DONALDSON, M.D. Biotic and abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. *J. Invertebr. Pathol.* 38: 191-200, 1981.
- MENDONÇA, A.F. A broca gigante *Castnia licus* Drury, 1770 (Lepidoptera: Castniidae) no Brasil. *Saccharum* 5(20): 53-60, 1982.
- RAMARAJE, N.V.U.; GOVINDU, M.C.; SHASTRY, K.S.S. The effect of certain insecticides on the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* 9: 398-403, 1967.
- RIBA, G.; MARCANDIER, S.; RICHARD, G.; LARGET, I. Susceptibility of the maize pyralide (*Ostrinia nubilalis*) (Lep.: Pyralidae) to entomopathogenic Hyphomycetes. *Entomophaga* 28 (1): 55-64, 1983.
- ROBERTS, D.W. & YENDOL, W.G. Use of fungi for microbial control of insects. IN: BURGESS, H.D.; HUSSEY, N.W. *Microbial control of insects and mites*. New York, Burgess and Hussey, Academic Press, 1971. p. 125-149.
- ROBERT, P. & MARCHAL, M. Utilisation des larves de *Plutella maculipennis* (Lep.: Hyponomentidae) comme insecte teste de drivers hyphomycetes entomopathogènes (Fungi Imperfecti). *Entomophaga* 23(1): 83-89, 1980.

SOKAL, R.R. Probit analysis on a digital computer. *J. econ. Ent.* 51(5): 738-739, 1958.

WOJCIECHOWSKA, M.; KMITOWA, K.; FEDORKO, A.; BAJAN, C. Duration of activity of entomopathogenic microorganisms introduced into the soil. *Pol. Ecol. Stud.* 3(2): 141-148, 1977.  
Apud: *Rev. Appl. Entomol.* 67(5): 250, 1979.