

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TIPOS DE ALIMENTOS NA SUSCETIBILIDADE
DE *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) AOS FUNGOS *Metarhizium*
anisopliae (METSCH.) SOROK. E *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL.

Sérgio B. Alves¹

Paulo S.M. Botelho²

Raquel Salomão²

Jerry L. Stimac³

ABSTRACT

Influence of different types of diets on the
susceptibility of *Diatraea saccharalis*
(Fabr., 1794) to the fungus
Metarhizium anisopliae
(Metsch.) Sorok.
and *Beauveria bassiana*
(Bals.) Vuill

Diatraea saccharalis (FABRICIUS, 1794) larvae obtained from the field and those reared in the laboratory on 4 different types of diet were sprayed with fungal suspensions of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill with 10^8 conidia/ml. Field collected larvae showed a mean mortality of 35% for those sprayed with *M. anisopliae* and 60% for those sprayed with *B. bassiana*. Also, 56% of the larvae in laboratory on corn diet were killed by *M. anisopliae* and approximately 28% by *B. bassiana*. The mean mortalities of *D. saccharalis* larvae reared on diets of bran, bean and casein were respectively 65, 65 and 76% for *M. anisopliae* and 71, 66 and 69% for *B. bassiana*.

Recebido em 05/09/89

¹ Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, C. Postal 9, 13400 Piracicaba SP. Pesquisador do CNPq.

² IAA/PLANALSUGAR - Araras, SP - Pesquisador do CNPq.

³ Universidade da Florida - Depto Entomologia e Nematologia - Gainesville (FL).

RESUMO

Lagartas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) provenientes do campo e outras criadas no laboratório em 4 tipos diferentes de dietas foram submetidas a pulverização com suspensões dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com 10^8 conídios/ml. As lagartas provenientes do campo apresentaram mortalidade média de 35% quando submetidas ao *M. anisopliae*, e de 60% quando submetidas a *B. bassiana*. Também 56% das lagartas criadas na dieta do milho foram mortas por *M. anisopliae* e apenas 28% por *B. bassiana*. As mortalidades médias de lagartas de *D. saccharalis* provenientes das dietas de farelo, feijão e caseína foram respectivamente de 65, 65 e 76% para *M. anisopliae* e de 71, 66 e 69% para *B. bassiana*.

INTRODUÇÃO

Diatraea saccharalis é a praga mais importante da agricultura da cana-de-açúcar no Brasil. Esta espécie é suscetível aos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* conforme foi elaborado por ALMEIDA & ALVES (1982) e ALVES (1986). A suscetibilidade de dos insetos aos patógenos pode ser afetada por um grande número de fatores sendo relacionados como fatores bióticos de maior importância a idade do inseto, vias de infecção, estágio de desenvolvimento (metamorfose, muda e diapausa), associação com outros microorganismos e o tipo do alimento. Os fatores abióticos que mais afetaram os patógenos: são: temperatura, radiação, umidade e chuva (ALVES, 1986; WATANABE, 1987). Os alimentos fornecidos aos insetos podem afetar a suscetibilidade de dos mesmos aos patógenos de diferentes maneiras. Em *Bombyx mori* por exemplo, a irregularidade no fornecimento dos alimentos pode tornar os insetos suscetíveis a certas viroses. Quanto ao tipo de folhas GRISON & SACY (1956) observaram que as larvas de *Pieris brassicae* podem se tornar suscetíveis ao vírus da granulose quando se alimentam de folhas mais claras provenientes do interior do repolho, sendo a suscetibilidade das lagartas não alterado quando não fornecidas folhas externas do mesmo repolho. Também, as folhas de bordo (maple) tornaram as lagartas de *Malacosoma disstria* mais sensíveis às viroses quando comparados com os outros tipos de folhas (SIPPEL, 1952). A alimentação de *B. mori* com certas variedades de amoreira tornam o inseto mais sensível às viroses (SOSA GÓMES *et al.* 1989). Já foi observado que dietas elaboradas com folhas de amoreira colhidas no outono podem aumentar a sensibilidade do bicho-da-seda às viroses (EBIHARA, 1966). Segundo DAVID *et al.* (1972) a sensibilidade de *P. brassicae* a α GV foi incrementada quando se reduziram os teores de sacarose ou caseína na dieta artificial. Também, larvas de *Galleria mellonella* foram suscetíveis a in

fecção de NPV quando foram alimentadas com favos enriquecidos com nitrogênio e carboidratos (SHVETSOVA, 1950).

Já foi demonstrado que a patogenicidade de *Bacillus larvae* pode ser alterada para crias de abelhas, em função do conteúdo de pólen dos alimentos e do tipo de alimento fornecido antes da inoculação do inseto pelo patógeno (RINDERER *et al.* (1974).

Os insetos também podem ser afetados na sua suscetibilidade aos fungos devido à qualidade dos alimentos. Assim, PRISTAVKO & DOVZHENOK (1974) demonstraram que larvas da *Laspeyresia pomonella* criadas em dietas com 0,6 a 0,8% de ácido ascórbico apresentaram maior número de hemócitos e foram mais suscetíveis ao fungo *B. bassiana*.

Observou-se as diferenças na suscetibilidade de larvas de *Leptinotarsa decemlineata* quando criadas em *Solanum* spp. e em *Lycopersicon esculentum* ao fungo *B. bassiana*; com relação a *L. esculentum*, as larvas criadas em agosto mostraram-se mais suscetíveis aos patógenos que as criadas na mesma planta em junho (HARE & ANDREADIS, 1983). Também, RAMOSKA & TODD (1985) trabalhando com *B. bassiana* e *Blissus leucopterus* criado em diferentes hospedeiros, observaram menor suscetibilidade dos insetos ao patógeno quando os insetos foram alimentados em sorgo e milho. Esses autores explicaram esta menor suscetibilidade, como sendo devida a um inibidor do fungo, produzido pela planta.

Como existem diversas formulações de dietas para a criação de *D. saccharalis* em vários centros de pesquisas no Brasil, elaborou-se esta pesquisa para se verificar se as lagartas criadas sobre as mesmas podem apresentar diferentes graus de suscetibilidade aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, quando comparadas com lagartas provenientes do campo.

MATERIAL E MÉTODOS

As lagartas de *D. saccharalis* usadas nos experimentos foram criadas em diferentes dietas ou foram coletadas no campo em cultura de cana-de-açúcar. As dietas utilizadas para criação de lagartas foram as seguintes: dieta de farelo (ARAÚJO *et al.*, 1985); dieta de milho (MIHSFELDT, 1985); dieta de caseína (HENSLEY & HAMOND, 1968) e dieta de feijão proposta pela Usina da Pedra em Serrana, SP (80g de feijão; 15g de fermento; 0,1g de Nipagin; 0,75g de ácido sórbico; 0,3g de ácido ascórbico; 30g de germe de trigo; 30g de bagaço de cana; 10g de açúcar; 160ml de caldo de feijão; 1ml de formol e 10ml de solução vitamínica).

Efetou-se o acompanhamento do tamanho da cápsula cefálica das lagartas nos diversos tratamentos e quando encontravam-se no 6º instar foram inoculadas com os fungos. Assim, no primeiro experimento foram utilizadas 50 lagartas por tratamento separadas em grupos de 10, perfazendo um total de 5 tratamen-

tos (4 com lagartas criadas em dietas e 1 com lagartas provenientes do campo). Para cada tratamento foram deixadas como testemunha 50 lagartas não tratadas, também separadas em grupos de 10. No segundo experimento, a única alteração foi a utilização de 25 lagartas provenientes do campo para inoculação com cada um dos dois fungos.

Os fungos utilizados foram *B. bassiana* (isolado 196) e *M. anisopliae* (isolado PL-43). Cada espécie de fungo foi inoculada com um micro pulverizador sobre as lagartas criadas nos diferentes tipos de alimento na dosagem de 10^8 conídios/ml.

Após a inoculação os insetos foram transportados para estufas com temperatura de 26°C e 14 horas de fosfatase. A mortalidade foi computada diariamente, sendo avaliados os tempos letais e as porcentagens de mortalidade pelos patógenos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao *M. anisopliae*, as menores mortalidades foram observadas nas lagartas provenientes do campo, média de 35% e para as lagartas criadas na dieta de milho, média de 56%. Para as demais dietas os valores médios registrados foram de: dieta de farelo 65%, feijão 65% e caseína 76% (Quadro 1).

Com relação a *B. bassiana* as menores mortalidades foram observadas nas lagartas provenientes da dieta de milho com média de 28%, vindo posteriormente o material proveniente do campo, com a média de 60%, dieta de feijão, média de 66%, caseína, média de 69% e dieta de farelo, média de 71% (Quadro 1).

Os tempos letais calculados a partir dos dados de mortalidade das lagartas criadas nas diferentes dietas inoculadas com *M. anisopliae* e *B. bassiana* nos dois experimentos encontram-se no Quadro 2. Por esse dados observa-se que as lagartas provenientes do campo apresentaram maior resistência a *M. anisopliae* e a mortalidade não atingiu 50%, sendo assim impossível calcular o tempo letal. No primeiro experimento, as lagartas criadas nas dietas de milho e feijão mostraram-se mais resistentes a *M. anisopliae* que as lagartas provenientes das dietas de farelo e caseína. Já no 2º experimento, praticamente não houve diferença na suscetibilidade das lagartas a esse fungo. Com relação a *B. bassiana* observou-se que os insetos provenientes da dieta com milho apresentaram maior resistência a esse patógeno, não sendo possível calcular o tempo letal para essas lagartas já que a mortalidade não atingiu 50%. Esses dados concordam com RAMOSKA & TODD (1985) os quais demonstraram que *Blissus leucopterus* foi menos sensível a *B. bassiana* quando criadas em plantas de sorgo e milho, que segundo os autores podem produzir substância inibidora ao fungo.

De um modo geral, os insetos criados nas diferentes dietas e provenientes do campo, se comportaram igualmente em relação aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. A maior resistência dos insetos provenientes do campo aos patógenos, pode ser explicada em função de sua maior variabilidade genética quando comparada com os insetos criados em laboratório e também pela presença de maior quantidade de microorganismos competidores sobre o seu tegumento.

CONCLUSÕES

O tipo de alimento afeta a resistência de *D. saccharalis* aos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*. As lagartas coletadas no campo em colmos de cana-de-açúcar são menos suscetíveis a *M. anisopliae* e as lagartas criadas em dieta de milho apresentam menor mortalidade quando inoculadas com *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

QUADRO 1 - Porcentagem de mortalidade máxima e médias de *D. saccharalis* atingidas durante os dois experimentos.

Patógeno	Dieta					
		CAMPO	FARELO	MILHO	CASEÍNA	FEIJÃO
<i>M. anisopliae</i>	1ª Rep.	34(9)*	58(9)	40(9)	68(6)	46(11)
	2ª Rep.	36(8)	72(10)	72(9)	84(9)	78(10)
	Média	35(8,5)	65(9,5)	56(9)	76(7,5)	65(10,5)
<i>B. bassiana</i>	1ª Rep.	56(9,0)	62(9)	44(10)	68(9)	58(13)
	2ª Rep.	64(6)	80(8)	12(9)	70(7)	74(8)
	Média	60(8,5)	71(8,5)	28(9,5)	69(8)	66(10,5)

(*) O nº entre parenteses indica o dia da mortalidade máxima acumulada.

QUADRO 2 - Tempos letais (LT₅₀) com os respectivos intervalos de confiança obtidos pela inoculação de *M. anisopliae* e *B. bassiana* em *D. saccharalis* proveniente do campo e criada em diferentes dietas, nas duas repetições do experimento.

Patógeno	Dieta					
	CAMPO	FARELO	MILHO	CASEÍNA	FEIJÃO	
<i>M. anisopliae</i>	1ª Rep.	(*)	7,3(5,7-9,4)	(*)	4,8(3,9-6,0)	(*)
	2ª Rep.	(*)	7,6(7,1-8,2)	6,9(6,0-8,0)	5,6(5,1-6,1)	6,6(6,1-7,2)
<i>B. bassiana</i>	1ª Rep.	7,9(6,9-9,0)	7,5(6,5-8,7)	(*)	5,7(4,8-6,9)	10,4(9,3-11,6)
	2ª Rep.	4,8(3,4-6,8)	6,1(5,4-6,8)	(*)	5,5(5,0-6,0)	6,1(5,2-7,1)

(*) Não atingiu 50% de mortalidade no final do Experimento.

LITERATURA CITADA

- ALVES, S.B. Epizootiologia. In: ALVES, S.B., ed. *Controle microbiano de Insetos*. São Paulo, Manole, 1986. p. 28-64.
- ALMEIDA, L.C. & ALVES, S.B. Testes preliminares de dosagens de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o controle de Broca da Cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (F.). *Brasil açucareiro* 99(2): 35 - 110, 1982.
- ARAÚJO, J.R.; BOTELHO, P.S.M.; ARAÚJO, S.S.M.S.S.; ALMEIDA, L. C.; DEGASPARI, M. Nova dieta artificial para criação de *Diatraea saccharalis*. *Saccharum* 8(36): 45 - 48, 1985.
- DAVID, W.A.L.; ELLABY, S.; TAYLOR, G. The effects of reducing the content of certain ingredients in a semisynthetic diet on the incidence of granulosis virus disease in *Pieris brassicae*. *J. Invertebr. Pathol.* 20: 332-340, 1972.
- EBIHARA, T. *Effect of mulberry leaf quality on the resistance of silkworm to a cytoplasmic-polyhedrosis virus*, Report. Ibiraki, Sericultural Experiment Station, 1, 1966, 61 p.
- GRISON, P. & SACY, R.S. de. L'elevage de *Pieris brassicae* L. pour les essais de traitements microbiologiques. *Ann. Inst. Nat. Rech. agron.* 7: 661-674, 1956.
- HARE, D.J. & ANDREADIS, T.G. Variation in the susceptibility of *Lepinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory *Environ Ent.* 12(6): 1892 - 1897, 1983.
- HENSLEY, S.D. & HAMOND, JR., A.M. Laboratoire techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. *J. econ. Ent.* 61(6): 1742 - 1743, 1968.
- MIHSFELDT, L.H. Comparação de dietas artificiais para criação de *Diatraea saccharalis* (F., 1794). Piracicaba, ESALQ-USP, 1985. 120p. (Tese de Mestrado).
- PRISTAVKO, V.P. & DOVZHENOK, N.V. Ascorbic acid influence on larval blood cell number susceptibility to bacterial and fungal infection in the codling moth *Laspeyresia pomonella*. *J. Invertebr. Pathol.* 24: 165 - 168, 1974.
- RAMOSKA, V.A. & TODD, T. Variation in efficacy and viability of *Beauveria bassiana* in the chinch bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a result of feeding activity on selected host plants. *Environ. Ent.* 14(2): 146 - 148, 1985.

- RINDERER, T.E.; ROTHENBUHLER W.C.; GOCHNAVER, T.A. The influence of pollen on the susceptibility of honey bee larvae to *Bacillus larvae*. *J. Invertebr. Pathol.* 23: 347-350, 1974.
- SHVETSOVA, O.I. The Polyhedrosis disease of the greater wax moth (*Galleria melonella* L.) and the role of the nutritional factor in virus disease of insects. *Mikrobiologija*, Sofia, 19: 532 - 542, 1950.
- SIPPEL, W.L. Winter rearing of the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria* Hbn. *Can. Dept^o Agric. For Biol. Div.* 1952. (Progress Report 8).
- SOSA GÓMEZ, D.R.; ALVES, S.B.; MARCHINI, L.C. Suscetibilidade de *Bombyx mori* L. ao vírus da poliedrose nuclear, quando alimentado com o híbrido HN-64 e as variedades Calabreza e Miura de amoreira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12, Belo Horizonte, MG 1989. p.240 *Resumos*.
- WATANABE, H. The host population. In: FUXA, J.R., ed. *Epizootiology of insects diseases*. New York, John Wiley, 1987. p. 71-112.