

CAPÍTULO 14

EPIZOOTIA E PERSISTÊNCIA DE *Metarhizium anisopliae* E *Fusarium multiceps* UM ANO APÓS A PULVERIZAÇÃO CONTRA *Mahanarva spectabilis* (HEMIPTERA:CERCOPIDAE)

Michelle Campagnani   

Pós-Doutorado – Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora - MG, Brasil

Luís Augusto Calsavara   

Mestrando - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, ESALQ/USP, Piracicaba – SP, Brasil

Bruno Antônio Verissimo   

Bolsista da Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora - MG, Brasil

Everton Augusto Francisco Rosa   

Bolsista de Pesquisa de Melhoramento genético - Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora – MG, Brasil

Victor Felipe S. Costa Neves   

Bolsista Iniciação Científica CNPq – Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora – MG, Brasil

Alexander Machado Auad   

Pesquisador – Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora – MG, Brasil

DOI: 10.52832/wed.170.999 

Resumo: A gramínea *Cenchrus purpureus* (Schum) Morrone fonte de pastejo para o gado é atacada pela cigarrinha-das-pastagens, *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae), causando danos às plantas. Uma alternativa sustentável no controle biológico deste inseto-praga é usar fungos entomopatogênicos. Assim, objetivou-se avaliar a capacidade de epizootia dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Fusarium multiceps* contra *M. spectabilis* em plantas de *C. purpureus*. O ensaio foi constituído de um delineamento inteiramente casualizado (DIC) testando 4 tratamentos, ou seja, plantas pulverizadas com *M. anisopliae*, plantas pulverizadas com *F. multiceps*, plantas pulverizadas com água e o controle, que constituiu de plantas sem nenhum tipo de pulverização. Utilizou-se 12 repetições, por tratamento, totalizando 48 unidades experimentais. Cada unidade experimental consistiu de uma touceira que foi pulverizada na parte basal das plantas até o ponto de escorrimento da suspensão. Antes e oito dias após as pulverizações, o volume de espumas contidas nas touceiras foram quantificadas, em porcentagem, por três avaliadores, e a média foi convertida para uma escala de notas de 1 a 5. Após esse período as plantas foram observadas semanalmente, por quatro semanas, e as ninfas ou adultos mortos foram coletados, quantificados e analisados quanto a confirmação da causa mortis pelos fungos aplicados. Após 13 meses da aplicação dos fungos, avaliou-se por 4 meses, em insetos encontrados mortos na área experimental, a espécie de fungo que provocou a causa mortis. A nota visual de volume de espumas foi significativamente menor após a pulverização das plantas com os fungos. Em torno de 60% das amostras dos insetos mortos apresentaram infecção por *M. anisopliae* ou *F. multiceps*, confirmando a persistência desses fungos no campo, após um ano de aplicação via pulverização.

Palavras-chave: Controle Microbiano. Forrageiras. Inseto-praga.

1 INTRODUÇÃO

O capim elefante, *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone, é uma forragem importante em muitas regiões tropicais e subtropicais, devido ao seu alto rendimento, valor nutricional, aceitabilidade pelos animais, vigor e persistência. Esta gramínea é amplamente utilizada na forma de capim verde picado, feno ou silagem para alimentação animal (Pereira *et al.*, 2021). Também é uma cultura potencial para produção de bioenergia (Silva *et al.*, 2018; Pereira *et al.*, 2021). O monocultivo dessa forrageira pode favorecer a ocorrência de surtos da cigarrinha-das-pastagens, *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) (Auad *et al.*, 2007). O ataque de ninfas e adultos danificam as plantas hospedeiras, sugando a seiva e injetando toxinas que induzem a fitotoxidez e reduzem as taxas fotossintéticas das gramíneas (Auad *et al.*, 2007).

Para mitigar o problema causado pelas cigarrinhas nas pastagens, algumas estratégias baseadas em mecanismos de resistência das plantas (Valverde 2006; Auad *et al.*, 2007; Congio *et al.*, 2012; Resende *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2017; Paladini *et al.*, 2018 ; Alvarenga *et al.*, 2019, Auad *et al.*, 2024; Resende *et al.*, 2024), o uso de compostos de origem vegetal (Dias *et al.*, 2019; Nascimento *et al.*, 2021) e fungos entomopatogênicos (Pereira *et al.*, 2008; Campagnani *et al.*, 2017; Pitta *et al.*, 2019; Campagnani *et al.*, 2024; Oliveira Netto *et al.*, 2024), foram propostas.

O uso de entomopatogênicos, como *Metarhizium brunneum* Petch. e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. adquiriu interesse nos programas de MIP, devido a resultados promissores contra

insetos-praga mastigadores e sugadores de seiva (González-Mas *et al.*, 2019), afetando a sobrevivência e desenvolvimento de insetos-praga (Yousef-Yousef *et al.*, 2023). Estes fungos são ambientalmente seguros, podem ser produzidos em massa e tem a capacidade de infectar os insetos nas diversas fases de seus ciclos (Rajula *et al.*, 2020).

Os fungos *Metarhizium anisopliae* e *Fusarium multiceps* foram isolados de cigarrinhas-das-pastagens em um sistema silvipastoril no Estado do Maranhão (Campagnani *et al.*, 2017) e, esses foram eficientes no controle dessa praga em casa-de-vegetação (Campagnani *et al.*, 2024). Nesse sentido, ressalta-se a importância de pesquisar a eficiência e a persistência desses fungos em campo de *C. purpureus* contra *M. spectabilis*.

Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficácia de uma única pulverização com fungos entomopatogênicos na redução de ninfas de *M. spectabilis*, em plantas de *C. purpureus*, além de investigar a persistência desses fungos nos surtos populacionais do inseto-praga do ano seguinte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os fungos entomopatogênicos *Fusarium multiceps* UFMGCB 11443 (GenBank=ON831395) e *Metarhizium anisopliae* UFMGCB 11444 (GenBank=ON831396) foram previamente isolados de cigarrinhas *M. spectabilis*, em um sistema silvipastoril no Estado do Maranhão.

Os fungos foram produzidos em meio sólido em grãos de arroz parboilizado. Foram adicionados 2 L de água deionizada para embeber os grãos por um período de 1 h, à temperatura ambiente. Em seguida, o excedente de água foi retirado e os grãos úmidos foram transferidos para um saco plástico de polipropileno (40 x 25 cm), preenchendo cerca de 1/3 do volume total, de acordo com Almeida *et al.* (2019). A abertura do saco plástico foi dobrada duas vezes e grampeada. Estes sacos, contendo o arroz, foram fechados e autoclavados por 25 min a 120 °C (1 atm). Após a autoclavagem, os sacos foram retirados e espalhados sobre uma mesa limpa onde permaneceram por 24 h para resfriarem sob temperatura ambiente.

Em câmara de fluxo laminar sob condições assépticas, 10 mL das suspensões de conídios (na concentração de 1×10^8 conídios/ml) das linhagens dos fungos *F. multiceps* e *M. anisopliae* produzidas em ágar Sabouraud, foram inoculados nos sacos plásticos com o arroz estéril. Esta inoculação foi feita com seringa estéril por meio de um orifício no saco plástico, evitando assim contaminações. Os sacos foram agitados vigorosamente para homogeneizar os conídios por todos os grãos e foram acondicionados em uma câmara climatizada (BOD) ajustada para 26 °C com 16 h de fotofase e umidade relativa de $70 \pm 10\%$, por um período de oito dias. Para melhorar a aeração dentro dos sacos plásticos, já que esses fungos são aeróbicos foram feitos 50 orifícios com auxílio de agulha hipodérmica estéril (após quatro dias da inoculação) em uma das faces do saco plástico.

Após os 8 dias, uma amostra de 1g foi retirada de cada saco para estimar a taxa de germinação e concentração dos esporos/g (1×10^8 conídios/g). Depois os sacos foram levados para o campo e seus conteúdos colocados em sacos de *voil* e lavados com detergente, usado como tensoativo iônico, e colocados nos pulverizadores manuais de 1,5 L.

O experimento foi conduzido na Embrapa Gado de Leite, Campo Experimental José Henrique Bruschi, Coronel Pacheco, MG. O ensaio foi constituído de um delineamento inteiramente ao acaso (DIC) testando 4 tratamentos, ou seja, plantas pulverizadas com *M. anisopliae*, plantas pulverizadas com *F. multiceps*, plantas pulverizadas com água e o controle, que constituiu de plantas sem nenhum tipo de pulverização. Utilizou-se 12 repetições por tratamento, totalizando 48 unidades experimentais. Cada unidade experimental consistiu de uma touceira que foi pulverizada na altura de aproximadamente um metro até a base da touceira do capim-elefante estar uniformemente no ponto de escorrimento da suspensão. A dimensão do talhão de *C. purpureus* era de 25 m x 15 m, e o capim estava plantado em fileiras distantes 1,5 m uma da outra. As touceiras foram pulverizadas alternadas, a cada duas fileiras entre cada tratamento.

Antes e oito dias após as pulverizações, o volume de espumas contidas nas touceiras foram avaliadas em porcentagem por três avaliadores, e a média foi convertida para uma escala de notas de 1 a 5, proposta por Auad (dados não publicados), sendo 1 o menor volume (0 – 20%), 2 (21 – 49%); 3 (50 – 70%); 4 (71 – 80) e 5 o maior volume (81 – 100%). Após análise, o volume médio de espumas na forragem foi classificado com base na pontuação média. Semanalmente, por 4 semanas, todos os insetos mortos encontrados foram amostrados e armazenados em tubos de micro centrífuga. Esses foram levados para o Laboratório de Entomologia da sede da Embrapa Gado de Leite e armazenados em freezer -20°C. Esses insetos mortos foram quantificados e analisados para confirmação da causa mortis. Os insetos com a infecção esverdeada foram classificados com esporulação característica de *M. anisopliae* e infecção branca com esporulação característica de *F. multiceps*. Dez amostras aleatórias foram plaqueadas em Ágar Sabouraud Dextrose, e posteriormente feita a microscopia para análises e validação dos resultados.

Após 13 meses da aplicação dos fungos no campo, semanalmente por 4 meses, em 10 pontos aleatórios, todos os insetos mortos encontrados foram amostrados e armazenados em tubos de micro centrífuga, quantificados e analisados conforme citado acima.

Os dados referentes a nota média do volume das espumas produzidos pelas ninfas de *M. spectabilis* em *C. purpureus*, o número médio de ninfas e adultos infectados e o número de insetos mortos por cada espécie de fungo, nos diferentes tratamentos, foram submetidos a análise de variância e comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0.005$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se, oito dias após a pulverização das touceiras, que a nota de dano média, em função do volume da espuma produzida pelas ninfas de *M. spectabilis*, foi significativamente maior naquelas plantas pulverizadas somente com água ($41,2\% \pm 3,0$), seguida do tratamento controle, que constituiu de plantas sem nenhum tipo de pulverização ($27,3\% \pm 2,0$). Ressalta-se que a nota visual de volume de espumas significativamente menores, foram verificadas quando as plantas foram pulverizadas com *F. multiceps* ($14,0\% \pm 3,0$) ou *M. anisopliae* ($17,1\% \pm 3,0$) ($F = 17,24$; $P = 0,00$) (Figura 1A). Nas 4 semanas seguintes foram encontrados, no campo, tanto ninfas quanto adultos mortos e, foi possível confirmar que a causa mortis foi provocada por *M. anisopliae* e *F. multiceps*. Este fato esclarece o motivo da redução do volume de espumas; pois, está diretamente relacionado ao número de ninfas vivas.

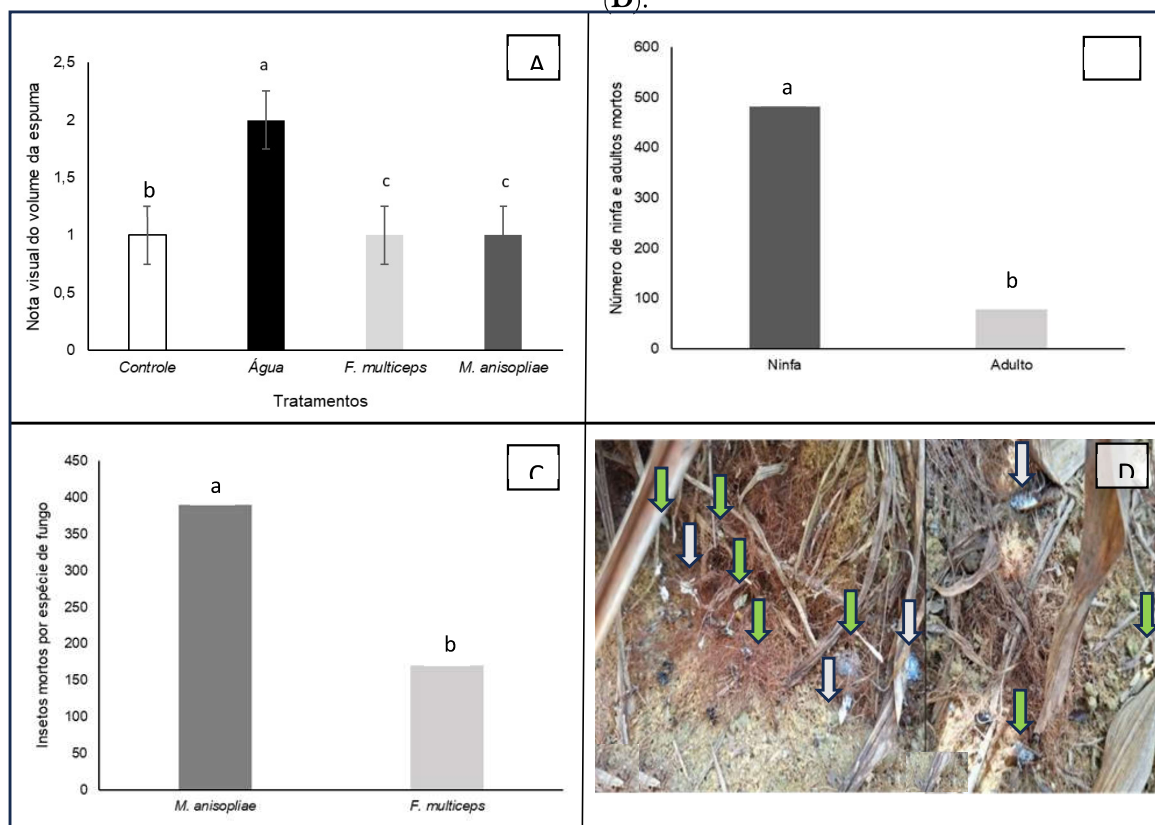
Após 13 meses da aplicação dos fungos, foi encontrado insetos mortos e infectados tanto com *M. anisopliae* quanto com *F. multiceps*, inferindo que eles são capazes de permanecer no campo de um ano para outro. Foram encontradas, no campo, mais ninfas infectadas do que os adultos ($F = 6,36$; $P = 0,02$) (Figura 1B). Daqueles insetos encontrados mortos a confirmação da causa mortis provocada por *M. anisopliae* foi superior comparado a *F. multiceps* ($F = 29,93$; $P = 0,00$) (Figura 1C).

Estudos realizados por Peng et al. (2021) demonstram a capacidade de algumas cepas de agentes de biocontrole, como *M. anisopliae*, de persistir no ambiente por vários anos após a aplicação inicial. Cepas clonais desses agentes, semelhantes ao BCC 4849, foram encontradas em solo de pomares de frutas mesmo dois anos após sua introdução. Esses achados são promissores, sugerindo que estratégias de biocontrole podem ser implementadas de forma sustentável a longo prazo, reduzindo a dependência de pesticidas químicos e promovendo maior segurança alimentar.

Esses resultados corroboram os resultados do presente trabalho onde a permanência prolongada no campo, de *M. anisopliae* e *F. multiceps*, permitirá que esses fungos atuem efetivamente no manejo de cigarrinha-das-pastagens durante o período de maior incidência da praga.

Dessa forma evidencia-se que os fungos *M. anisopliae* e *F. multiceps* conseguiram continuar no ambiente infectando cigarrinhas das pastagens no ano seguinte à pulverização. Mas há necessidade de aprofundar nas pesquisas para compreender juntamente com a persistência a quantidade de carga de conídios que o ambiente necessita para continuar causando epizootia e controlar a praga; pois, considera-se que uma única pulverização, apesar de reduzir significativamente o volume de espumas, o qual foi verificado pela escala visual, o número de insetos sobreviventes causou danos significativos na área em estudo.

Figura 1 - Nota visual do volume de espuma produzido pelas ninfas de *M. spectabilis* em *C. purpureus* sendo 1 o menor volume (0 – 20%), 2 (21 - 49%); 3 (50 – 70%); 4 (71 – 80) e 5 o maior volume (81 – 100%). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as notas de danos pelo teste de Scott Knott ($P < 0,005$) (A); número de ninfas e adultos mortos de *M. spectabilis* infectados pelos fungos aplicados 13 meses anterior a coleta (B); confirmação da causa mortis provocadas por cada um dos fungos aplicados 13 meses anterior a amostragem dos insetos no campo (C); e Ninfas e adultos infectados no campo após um ano de pulverização dos fungos *M. anisopliae* (setas verdes) e *F. multiceps* (setas brancas) (D).



REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. E. M., LEITE, L. G., BATISTA FILHO, A. Entomopathogenic Fungi. In: SOUZA, B.; VASQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (org.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems – Biological Control and Functional Biodiversity**. 1. ed. Switzerland: Springer, 223-233. 2019.
- ALVARENGA, R., AUAD, A. M., MORAES, *et al.* Do silicon and nitric oxide induce resistance to *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) in forage grasses? **Pest Manag Sci** 75, 3282–3292. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.5450>
- AUAD, A. M., SIMÕES, A. D., PEREIRA, A. V., *et al.* Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesqui Agropecu Bras.** 42, 10771081. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2007000800003>.

AUAD, A. M. Lack of antibiosis against *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) in *Cenchrus purpureus* (Schumach.) Morrone germplasm. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 24, 4, e505824413, 2024.

CAMPAGNANI, M. O.; GARCIA, W. C.; ROSA, H. L.; *et al.* Prospection and fungal virulence associated with *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) in an Amazon silvopastoral system. **Florida Entomologist** 100, 426–432. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1653/024.100.0204>

CAMPAGNANI, M. O.; AUAD, A. M.; MAURÍCIO, R. M.; *et al.* Endophytic capacity of entomopathogenic fungi and potencial to control spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae), **Agronomy**, 14, 943. 2024. <https://doi.org/10.3390/agronomy14050943>.

CONGIO, G.F.S.; ALMEIDA, P.C.; BARRETO, T.R.; *et al.* Regrowth of Marandu palisade grass submitted to spittlebugs attack. **Arq. Inst. Biol.** 79, 389–396. 2012.

DIAS, M. L.; AUAD, A. M.; MAGNO, M. C.; *et al.* Insecticidal activity of compounds of plant origin on *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae). **Insects** 10: 360. 2019.

GONZÁLEZ-MAS, N.; SÁNCHEZ-ORTIZ, A.; VALVERDE-GARCÍA, P.; *et al.* Effects of endophytic entomopathogenic ascomycetes on the life-history traits of *Aphis gossypii* glover and its interactions with melon plants. **Insects**, v. 10, n. 6, p.165. 2019. DOI: 10.3390/insects10060165.

NASCIMENTO, V. F.; AUAD, A. M.; RESENDE, T. T. Olfactory response of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) to volatile aqueous extracts of plant origin applied to elephant grass plants (*Pennisetum purpureus* Schum). **Agronomy** 11, 856. 2021.

OLIVEIRA NETTO, P. M., AUAD, A. M., MENDONÇA, M. O. M., *et al.* Endophytic potential of entomopathogenic fungi associated with *Urochloa ruziziensis* (Poaceae) for spittlebug (Hemiptera: Cercopidae) control. **Florida Entomologist** 107. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1515/flaent-2024-0043>

PALADINI, A.; TAKIYA, D. M.; URBAN, J. M.; *et al.* New world spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae: Ischnorhininae): Dated molecular phylogeny, classification, and evolution of aposematic coloration. **Mol. Phylogenetics Evol.** 120, 321–334. 2018.

PENG, G. *et al.* Long-term field evaluation and large-scale application of a *Metarhizium anisopliae* strain for controlling major rice pests. **Journal of Pest Science**, v. 94, p. 969-980, 2021.

PEREIRA, M. F. A., BENEDETTI, R. A. L., ALMEIDA, J. E. M. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no controle de *Deois flavopicta* (Stal., 1854), em pastagem de Capim-Braquiária (*Brachiária decumbens*). **Arquivos do Instituto Biológico**, 75, 465–469. 2008.

PEREIRA, A. V. *et al.* **BRS Capião e BRS Kurumi: cultivo e uso**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2021. 116 p.

PITTA, R. M.; MATIERO, S. C.; CORASSA, J. N.; *et al.* Influence of pastoral systems on *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) and the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Sci. Electron. Arch.** 12, 13–20. 2019.

RAJULA, J.; RAHMAN, A.; KRUTMUANG, P. Entomopathogenic fungi in southeast Asia and Africa and their possible adoption in biological control. **Biological Control**, 151. 2020.

Wissen Editora, 2025 | ISBN 978-65-85923-65-1 | DOI: <http://www.doi.org/10.52832/wed.170>

RESENDE, T. T., AUAD, A. M., FONSECA, M. D. G., *et al.* The damage capacity of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) adults on *Brachiaria ruziziensis* pasture, The Sci World J. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/281295>.

RESENDE, T. T. Sixteen years of recurrent selection of ruzi grass for resistance to spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae). *Agronomy*, v. 14, n. 7, 2024.

SILVA, I.; NOBOA, C. S.; VALE, J. P. I.; *et al.* Antibiose em genótipos de *Paspalum* spp. à cigarrinha *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae). Anais da nona Jornada Científica – EMBRAPA, 2017. São Carlos, SP, EMBRAPA Pecuária Sudeste.

SILVA, V. B. *et al.* Selection among and within full-sib families of elephant grass for energy purposes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 18, p. 89-96, 2018.

VALVERDE, A. H. P. Resistência em genótipos de *Brachiaria* a ninfas de três espécies de cigarrinha-das-pastagens (Hemiptera: Cercopidae). Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil. 2006.

YOUSEF-YOUSEF, M.; MORENTE, M.; GONZÁLEZ-MAS, N.; *et al.* Direct and indirect effects of two endophytic entomopathogenic fungi on survival and feeding behaviour of meadow spittlebug *Philaenus spumarius*, *BiolControl*. 186. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105348>.