



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL

**EFICIÊNCIA DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH) SOROK. NO CONTROLE
DE CIGARRINHAS-DAS-PASTAGENS (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) EM
CAPIM-MARANDU (*Brachiaria bryzantha*) EM CORUMBIARA, RONDÔNIA**

VAGNER MEIRA TEIXEIRA

ARARAS-SP

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL

EFICIÊNCIA DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH) SOROK. NO
CONTROLE DE CIGARRINHAS-DAS-PASTAGENS (HOMOPTERA:
CERCOPIDAE) EM CAPIM-MARANDU (*Brachiaria brizantha*) EM
CORUMBIARA, RONDÔNIA

VAGNER MEIRA TEIXEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ ALEXANDRE NOGUEIRA DE SÁ
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. PEDRO JOSE VALARINI

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Agroecologia e
Desenvolvimento Rural como requisito
parcial à obtenção do título de
MESTRE EM AGROECOLOGIA E
DESENVOLVIMENTO RURAL

ARARAS-SP
2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

T266em

Teixeira, Vagner Meira.

Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. no controle de cigarrinhas-das-pastagens (Homoptera: Cercopidae) em capim-marandu (*Brachiaria brizantha*) em Corumbiara, Rondônia / Vagner Meira Teixeira. -- São Carlos : UFSCar, 2010.

57 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Controle biológico. 2. Cigarrinha das pastagens. 3. Inseto - controle microbiano. 4. Pragas agrícolas - manejo integrado. I. Título.

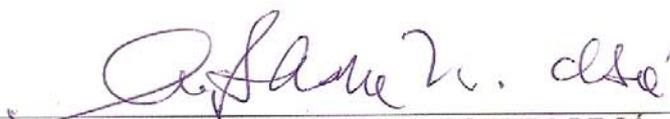
CDD: 632.96 (20^a)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DE

Vagner Meira Teixeira

APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL, DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM **13 DE AGOSTO DE 2010.**

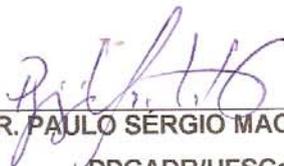
BANCA EXAMINADORA:



PROF. DR. LUIZ ALEXANDRE NOGUEIRA DE SÁ

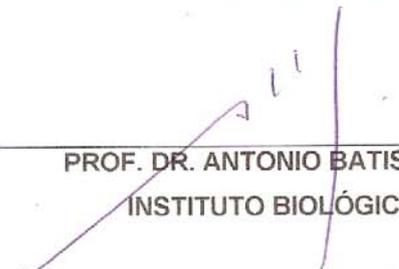
ORIENTADOR

EMBRAPA MEIO AMBIENTE/UFSCar



PROF. DR. PAULO SÉRGIO MACHADO BOTELHO

PPGADR/UFSCar



PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO

INSTITUTO BIOLÓGICO/SP

Uma ciência empírica privada de reflexão e uma filosofia puramente especulativa são insuficientes, consciência sem ciência e ciência sem consciência são radicalmente mutiladas e mutilantes...
Edgar Morin (Ciência com Consciência, 1990)

Não basta saber, é preciso aplicar;
não basta querer, é preciso fazer.
(Goethe)

A teoria, sem a prática é puro verbalismo inoperante,
a prática sem a teoria é um ativismo cego
(Paulo Freire)

Dedico,

À minha mãe Leonice Meira Teixeira,
meu pai Euclides Teixeira (*in memoriam*),
meu filho João Gabriel Almeida Meira Teixeira
e minha esposa Joelma Chaves de Almeida

Ofereço,

Aos meus irmãos Miguel, Edmilson, Jean Adriano,
Érika, Valquiria e Euclides
Aos meus sobrinhos
Aos demais familiares

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida;

Ao orientador Profº. Luiz Alexandre de Nogueira de Sá, professor, orientador e amigo, pela paciência e dedicação;

Ao Profº. Pedro Jose Valarini, pela co-orientação e amizade;

À Universidade Federal de São Carlos, a Embrapa Meio Ambiente e ao Centro de Ciências Agrárias de Araras, pela oportunidade de realização do curso;

A minha mãe, Leonice Meira Teixeira pelo amor pleno e incondicional. Sem essa pessoa esse trabalho jamais sairia do papel;

Aos meus queridos irmãos, Miguel, Edmilson, Jean, Erik, Valquíria e Euclides pelo incentivo e apoio;

Ao meu filho, João Gabriel Almeida Meira Teixeira, pela luz e felicidade que trouxe a minha vida e pelos momentos de alegria;

Ainda aos amigos de Marines, Carmem, Núbia e Jesiel, pela convivência, aprendizado e troca de experiências durante o mestrado;

A Maria Carolina Paraíba, pelo auxílio nas análises estatísticas;

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho;

Ao Capes, pela bolsa concedida;

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1 As cigarrinhas-das-pastagens.....	04
2.2 Métodos de controle das cigarrinhas-das-pastagens.....	10
2.3 O fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	13
2.4 O processo de infecção do fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	16
2.5 Fatores de virulência do fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Caracterização do local.....	21
3.2 Delineamento experimental aplicado.....	22
3.3 O Bioinseticida <i>Metarhizium anisopliae</i> ESALQ 1037.....	22
3.4 Preparo da suspensão de conídios do fungo <i>M. anisopliae</i>	23
3.5 Aplicação da suspensão do fungo <i>M. anisopliae</i>	24
3.6 Coleta e identificação das espécies de cigarrinhas.....	24
3.7 Avaliação de infestação de cigarrinhas-das-pastagens.....	25
3.8 Análise estatística dos dados.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Espécies de cigarrinhas-das-pastagens.....	27
4.2 Eficiência de controle das cigarrinhas-das-pastagens.....	29
5 CONCLUSÕES	36
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Formulações, concentração de conídios por hectare ⁻¹ e número de aplicações de <i>Metarhizium anisopliae</i> utilizadas no controle das ninfas das cigarrinhas-das-pastagens em pastagem de <i>Brachiaria bryzantha</i> , Corumbiara, RO, 2009.....	33
Tabela 2. Cigarrinhas-das-pastagens encontradas vivos por metro quadrado de pastagem de <i>Brachiaria bryzantha</i> , submetida à aplicação de <i>Metarhizium anisopliae</i> (isolado ESALQ 1037). Corumbiara, RO, 2009.....	31

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ovos das cigarrinhas-das-pastagens.....	6
Figura 2. Ninfa de cigarrinhas-das-pastagens apresentando espuma característica.....	7
Figura 3. Espuma característica de cigarrinhas-das-pastagens.....	7
Figura 4. Adulto de <i>Deois incompleta</i>	8
Figura 5. Adulto de <i>Deois flavopicta</i>	8
Figura 6. Adulto de <i>Notozulia entreriana</i>	9
Figura 7. Adulto de <i>Mahanarva fimbriolata</i>	9
Figura 8. Fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> em meio de cultura.....	13
Figura 9. Ninfa das cigarrinhas-das-pastagens infectada pelo fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	15
Figura 10. Adulto de <i>Mahanarva fimbriolata</i> infectada pelo fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	15
Figura 11. Preparo da suspensão de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> até o momento da aplicação.....	23
Figura 12. Rede de varredura utilizada para coleta e identificação de insetos adultos das cigarrinhas-das-pastagens na área do experimento.....	24
Figura 13. Quadrado metálico de 0,25 m x 0,25 m utilizado para leitura e contagem do número de ninfas das cigarrinhas-das-pastagens.....	25
Figura 14. Espécies de cigarrinhas-das-pastagens identificadas na área experimental no município de Corumbiara, RO.....	27
Figura 15. Número de ninfas de cigarrinhas-das-pastagens remanescentes em pastagem de <i>Brachiaria bryzantha</i> submetida, dias após a aplicação de <i>Metarhizium anisopliae</i> . Corumbiara, RO, 2009.....	32

**EFICIÊNCIA DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH) SOROK. NO
CONTROLE DE CIGARRINHAS-DAS-PASTAGENS (HOMOPTERA:
CERCOPIDAE) EM CAPIM-MARANDU (*Brachiaria bryzantha*) EM
CORUMBIARA, RONDÔNIA**

Autor: VAGNER MEIRA TEIXEIRA

Orientador: Prof. Dr. LUIZ ALEXANDRE NOGUEIRA DE SÁ

Co-orientador: Prof. Dr. PEDRO JOSE VALARINI

RESUMO

As cigarrinhas-das-pastagens constituem as principais pragas de gramíneas forrageiras em toda a América Tropical, destacando-se os gêneros *Deois* e *Mahanarva*. Essas pragas vêm causando sérios danos a *Brachiaria bryzantha* cv. Marandu no Estado de Rondônia. O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin é considerado um eficiente agente para o controle biológico de grande número de insetos-pragas, como cigarrinha da cana-de-açúcar e das pastagens. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência da aplicação de *Metarhizium anisopliae* (isolado ESALQ 1037) no controle da infestação de cigarrinhas-das-pastagens em capim-Marandu (*B. bryzantha*) submetida ao pastejo com bovinos. Avaliou-se o efeito do fungo aplicado em duas formulações, três dosagens e duas épocas ao longo do período de infestação da praga. As dosagens aplicadas foram de $1,0 \times 10^9$, $1,5 \times 10^9$, $2,0 \times 10^9$ conídios viáveis/ha, nas formulações de concentrado emulsionável e Pó molhável. O estudo foi conduzido no Sítio Daiane, município de Corumbiara, RO, no período de dezembro de 2007 a fevereiro de 2008. O isolado foi aplicado a partir das 17h, sob temperatura média de 18° C e umidade relativa de 69%. O volume de calda foi de 300 L/ha, utilizando-se pulverizador costal manual. As avaliações procederam-se aos 0, 15, 32, 45, 61 e 75 dias, contando-se as cigarrinhas (ninfas) por ponto de 0,0625 m² (quadrado de 0,25 m x 0,25 m). Aos 0 dias a infestação era de 153,6 ninfas/ m². Foi observada a diminuição das ninfas das cigarrinhas-das-pastagens em todos os tratamentos

com a aplicação do fungo *M. anisopliae*. Os níveis de eficiência de controle das ninfas das cigarrinhas com a aplicação do Metarril® variaram de 85,30% e 93,72%, aos 75 dias. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que *M. anisopliae* (isolado ESALQ 1037) é eficiente para o controle das cigarrinhas-pastagens em capim-Marandu (*B. bryzantha*), constituindo-se em uma alternativa promissora para ser utilizado como inseticida microbiano em programas de manejo integrado de pragas para o Estado de Rondônia.

Palavras-chave: Cigarrinha-das-pastagens, controle biológico, controle microbiano, manejo integrado de pragas

EFFICIENCY OF *Metarhizium anisopliae* (METSCH) SOROKIN FOR THE CONTROL OF SPITTLEBUG (HOMOPTERA: CERCOPIDAE) OF *Brachiaria bryzantha* PASTURE IN CORUMBIARA REGION, RONDONIA STATE

Author: VAGNER MEIRA TEIXEIRA

Adviser: Prof. Dr. LUIZ ALEXANDRE NOGUEIRA DE SÁ

Co-adviser: Prof. Dr. PROF. DR. PEDRO JOSE VALARINI

ABSTRACT

Spittlebugs are the main pests of pasture of America Tropical, among which the genera *Deois* and *Mahanarva* stand out. These pests have been causing serious losses in the *Brachiaria bryzantha* pasture of the Rondônia State, Brazil. The fungus entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin is considered an efficient agent for the biological control of many insects that represent plagues of agriculture. The objective of this research was to evaluate the efficiency of spraying *Brachiaria bryzantha* pasture with the fungus *M. anisopliae* (isolate ESALQ 1037) against naturally infestation with the cattle tick spittlebug nymphs was evaluated. In this work the efficacy the fungus of applied at in twice formulations (concentrated emulsifiable oil and wettable powder), three doses ($1,0 \times 10^9$, $1,5 \times 10^9$, 2×10^9 viable conidias ha^{-1}) in once for twice during the pest infested with period. The study was conducted from December 2008 to February 2009 at the Daiane farm in Corumbiara, Rondônia State, Brazil. The fungus was applied from 05 pm, under average temperature of 18 °C and relative air humidity of 69%. The volume of the solution utilized was 300 liter ha^{-1} with sprayer. The evaluations were performed at the beginning (day 0), and 15, 32, 45, 61 e and 75 days, being one evaluation before the applications, and five after the applications of this fungus, counting the spittlebugs (nymphs) per 0.0625 m² (0.25 m x 0.25 m square). At 0 days the infestation was of 153,6 nymphs/m². It was verified that the levels of nymphs were reduced after the sprayings of *M. anisopliae* in all treatments. The stinkbug in efficiency control levels were higher of spittlebug nymphs for application fungus isolate, between

85,30% to 93,72%, in 75 days the applications, of this fungus. From these data, we conclude that *M. anisopliae* isolate ESALQ 1037 was efficient to control spittlebug in the *B. bryzantha* pasture, thus being a promising choice for use as a microbial insecticide and thus being promising choice familiar agriculture integrated pest management of in the Rondônia State.

Keywords: Spittlebug, biological control, microbial control, integrated pest management

1. INTRODUÇÃO

As pastagens cultivadas representam a forma mais prática e econômica de alimentação dos bovinos, constituindo a base de sustentação da pecuária de corte e de leite no Brasil.

Segundo a FAO (2008), o Brasil possui cerca de aproximadamente 180 milhões de hectares de pastagens cultivadas. No Estado de Rondônia, elas representam 4,5 milhões de hectares, que abrigam cerca de dez milhões de cabeças do rebanho bovino (TEIXEIRA, 1996), que fez o estado se transformar em 2008, no quinto maior exportador de carne bovina do país, exportando US\$ 9,6 milhões (ABRAFRIGO, 2008). O estado também se destaca na pecuária leiteira, com uma produção total em 2007 de cerca de 708 milhões de litros de leite, sendo o maior produtor da região Norte e o sétimo maior produtor nacional (IBGE, 2007).

Apesar da importância das pastagens cultivadas para o desenvolvimento da pecuária extensiva no Estado de Rondônia, na última década, surgiram relatos sobre prejuízos econômicos ocasionados pelo ataque das cigarrinhas-das-pastagens em gramíneas consideradas resistentes, como a espécie *Brachiaria bryzantha* (TOWNSEND *et al.*, 2001; TOWNSEND & TEIXEIRA, 2004). Cerca de 80% das pastagens do estado são ocupadas pelo capim-Marandu (TOWNSEND *et al.*, 1999).

As cigarrinhas-das-pastagens representam um dos principais problemas que afetam a produção das pastagens cultivadas em todo o Brasil. O aumento populacional das cigarrinhas, diminui a produtividade

destas forrageiras e de seu valor nutritivo (GALLO *et al.*, 2002; COSENZA & NAVES, 1989), de tal forma que são consideradas, atualmente, como um dos principais fatores limitantes para o desenvolvimento da pecuária extensiva no estado de Rondônia (TOWNSEND *et al.*, 2001).

Silveira Neto *et al.* (1992) citaram a ocorrência de cigarrinhas em cerca de 10 milhões de hectares de pastagens no Brasil, provocando prejuízos variáveis entre 10 e 100%, dependendo da espécie, tipo de gramínea, condições climáticas e manejo. A ocorrência de altas populações das cigarrinhas é um problema sério a ser equacionado, tanto pelos enormes prejuízos econômicos que ocasiona, quanto, pelas limitadas informações sobre os métodos de controle (MACEDO & MACEDO, 2004).

O uso de táticas de manejo visando à diminuição e/ou equilíbrio populacional da cigarrinha-das-pastagens torna-se indispensável para que se mantenha viável a pecuária extensiva no Estado de Rondônia, principalmente em variedades de capins suscetíveis ou com perda de resistência. Os inseticidas químicos, embora apresentem alta e rápida eficiência, trazem consigo graves problemas de ordem ambientais e sociais, sendo responsáveis pela poluição dos recursos hídricos, solos e alimentos (BULLMAN *et al.*, 1996). Essa situação, aliada às necessidades da sociedade pela produção de alimentos saudáveis promoveu o interesse pela busca por métodos alternativos de controle.

Nos últimos dez anos, desde o surgimento das cigarrinhas em pastagens de *B. bryzantha* cv. Marandu no Estado Rondônia, os trabalhos sobre métodos de controle aumentaram significativamente. Essa busca por conhecimento visa preencher a "lacuna" de informações sobre a praga nos últimos anos, período em que capim-Marandu não favorecia o desenvolvimento das cigarrinhas. São conhecidos apenas alguns aspectos de sua flutuação populacional (OLIVEIRA & CURI, 1980; TEIXEIRA & TOWNSEND, 1997; TOWNSEND *et al.*, 1999) e de controle, pela utilização do fungo *Metarhizium anisopliae* (TOWNSEND *et al.*, 1999). Esses estudos são antigos, obtidos em condições diferentes das encontradas atualmente.

O controle biológico pelo uso de agentes microbianos mostra-se uma alternativa relevante e viável (ALVES, 1998 a). Dentre os principais agentes microbianos, o fungo *M. anisopliae*, vem sendo cada vez mais utilizado no controle de insetos-praga no Brasil (Alves a).

Muitos trabalhos têm sido feitos com o objetivo de avaliar a utilização do *M. anisopliae* como método de controle, principalmente em área de ocorrência natural. A ação do fungo sobre cigarrinhas foi constatada naturalmente e comprovada em laboratório (VENTURA & MATIOLI, 1980; VILLACORTA, 1980) e sua recomendação para o manejo da praga em pastagens é comum entre diversos autores (BARBOSA, 1990; ALVES, 1998 a; ALMEIDA, 1998; CASTRO *et al.*, 1999; PEREIRA *et al.*, 2008).

Entretanto, apesar do potencial de *M. anisopliae* para o controle das cigarrinhas-das-pastagens, a principal limitação ao seu uso diz respeito à inconsistência de resultados do fungo a campo. Nem sempre o isolado encontrado naturalmente na área ou disponível comercialmente é o mais indicado para a aplicação massal, como, também não devem ser utilizados indiscriminadamente. Outro problema encontrado é a falta de informações que avaliem o uso de *M. anisopliae* em diferentes condições de campo.

Segundo Silveira Neto *et al.* (1994), a inconsistência de resultados em relação à eficácia do fungo pode estar relacionada à qualidade e tipo de isolado utilizado, doses aplicadas, número de aplicações, tipos de formulações, métodos de aplicação, descumprimento das recomendações de uso e variações ambientais. Dessa forma é necessário encontrar informações sobre o uso do isolado a ser aplicado.

Desta maneira, os objetivos deste trabalho foram avaliar a eficiência da aplicação do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* (isolado ESALQ 1037) no controle de cigarrinhas-das-pastagens em capim-Marandu (*B. bryzantha*) submetida ao pastejo de bovinos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 As cigarrinhas-das-pastagens

As cigarrinhas das pastagens são consideradas os principais insetos-praga das gramíneas forrageiras na América Tropical (VALÉRIO & NAKANO, 1988; DUARTE *et al.*, 2007) e, dos capins braquiárias (VALÉRIO, 2000). A partir da década de 60, esta praga passou a ser relatada em todo o Brasil (EMBRAPA, 1977; SANTOS *et al.*, 1982; VALÉRIO, 2000). As cigarrinhas-das-pastagens são insetos sugadores, pertencentes à ordem Hemíptera, família Cercopidae, que compreendem várias espécies, distribuídas nas mais diversas condições ecológicas (COZENZA *et al.*, 1989; FONTES *et al.*, 1995, VALÉRIO *et al.*, 2005).

Os insetos adultos deste cercopídeo possuem hábito crepúsculo-noturno. Eles têm aspecto, cor e tamanhos variáveis segundo a espécie, sendo que dentro da mesma espécie pode haver uma ampla variação de polimorfismo alar (GLAGLIUMI, 1973; SA, 1981; GALLO *et al.*, 2002).

A ação das cigarrinhas nas pastagens tem início na fase de ninfa, quando sugam a seiva de raízes e caules próximos à superfície do solo, aonde se fixam até atingir a fase adulta causando “desordem fisiológica”. Os adultos, ao sugarem as folhas, injetam secreções salivares que causam fitotoxemia, provocando amarelecimento das folhas com posterior secamento e morte. Reduzem o crescimento da planta, diminuindo a produção de forragem e, conseqüentemente, a capacidade de suporte.

Além dos prejuízos quantitativos, a cigarrinha reduz os teores de proteína bruta, gordura e minerais essenciais e aumenta o teor de matéria seca, tornando a gramínea menos palatável. Com isso, o animal come menos, deixando de produzir leite e carne (PEREIRA *et al.*, 1982; HEWITT, 1988; VALÉRIO & NAKANO, 1988; TÔNUS, 1999).

Conforme a severidade do ataque, os danos causados às pastagens serão variáveis, mas normalmente, ocorre decréscimo significativo na produção, resultando em diminuições na capacidade de suporte (NILAKHE, 1982). Valério & Koller (1990) indicaram que as altas infestações de cigarrinhas-das-pastagens em *Brachiaria decumbens*, durante 10 dias, reduziram a produção de matéria seca em aproximadamente 30%. Pereira *et al.* (1985) em trabalhos de campo demonstram que ataques intensos de cigarrinhas reduzem significativamente os níveis de fósforo, nitrogênio, potássio, cálcio, magnésio e zinco em até 50% nas pastagens. As áreas com maiores infestações apresentam aspecto de pastagem “queimada” (GALLO *et al.*, 2002; VALÉRIO, 2005).

De acordo com Valério (2005) os insetos adultos das cigarrinhas possuem boa capacidade de vôo à longa distância. Nilakhe & Buainain (1988) estimaram que um indivíduo da espécie *Deois flavopicta* percorre 910 m em um único vôo, sendo capaz de voar por mais de 3 km sob condições meteorológicas favoráveis. Cerca de 80% a 95% das cigarrinhas movimentam-se por meio de saltos curtos e baixos (até 1 m de altura) e apenas quando perturbadas (MENEZES *et al.*, 1983).

O ciclo biológico das cigarrinhas-das-pastagens está diretamente relacionado às condições climáticas, particularmente, à elevada umidade e temperatura do solo para se desenvolver e proliferar. Em condições ambientais favoráveis, o ciclo das cigarrinhas é de 66 dias, em média. Após a postura, feita no solo ou em restos vegetais, ocorre um período de incubação de 22 dias e depois eclodem as ninfas, que em 45 dias, subdivididas em cinco ecdises até a fase adulta, que dura um período de no máximo de 19 dias. O acasalamento ocorre no período de 60 horas após a emergência da quinta ecdise, sendo que dois a cinco dias depois

são colocados os ovos, com formas elípticas, com 1 mm de comprimento de coloração amarela forte (Fig. 1), se tornando posteriormente de coloração pálida (FONTES *et al.*, 1995). Cada cigarrinha fêmea ovoposita em torno de 100 ovos (GALLO *et al.*, 2002; VALÉRIO, 2005). Em condições ambientais adversas, o período de incubação pode prolongar-se por até 200 dias, pois, devido à falta de umidade e baixa temperatura do solo, os ovos entram em quiescência (PEREIRA, 1990).



Figura 1. Ovos das cigarrinhas-das-pastagens. Foto Heraldo Negri (1999).

As temperaturas estimadas para a eclosão de ovos de *Zulia entreriana* e *D. flavopicta* são de 10,2 °C e 10,4°C, respectivamente (MILANEZ *et al.*, 1981). A eclosão de ninfas de *Z. entreriana* ocorre somente em ambiente com umidade relativa de 100% (VALÉRIO, 2005).

As ninfas *D. flavopicta* levam 14 dias, em média para nascer em condições de alta umidade relativa e temperatura de 28° (COSENZA *et al.*, 1989), o que pode sincronizar a eclosão das ninfas (SUJII *et al.*, 2002).

As ninfas (Fig. 2) são ápteras, ativas e resistentes, e possuem comportamento radicícola e assemelha-se aos adultos (GUAGLIUMI, 1973). Ao sair do ovo ela mede apenas 1 mm e, após quatro ecdises atinge 10 mm (GLAGLIUMI, 1972; MENDONÇA, 1996).



Figura 2. Ninfa de cigarrinhas-das-pastagens apresentando espuma característica. Foto: Valério (2005).

As ninfas se fixam na base do capim e ficam protegidas por espuma característica (Fig. 3), que a protege da dessecação e dos inimigos naturais (PEREIRA & PEREIRA, 1985).



Figura 3. Espuma característica de cigarrinhas-das-pastagens.

A ocorrência das cigarrinhas se dá durante o período chuvoso, podendo ocorrer de três a cinco gerações anuais, dependendo das condições climáticas (COSENZA *et al.*, 1989). As maiores infestações estão localizadas em locais de temperatura elevada e alta umidade proporcionada pela cobertura vegetal deixada no solo (MACEDO *et al.*, 1997; DINARDO-MIRANDA *et al.*, 2002; DINARDO-MIRANDA *et al.*, 2004).

No Estado de Rondônia, os picos populacionais das cigarrinhas-das-pastagens ocorrem entre os meses de dezembro e fevereiro, devido às condições climáticas, que corresponde ao período chuvoso (TOWNSEND *et al.*, 2001).

As espécies de cigarrinhas-das-pastagens de maior ocorrência no Brasil, segundo Melo (1982) e Cosenza *et al* (1989) são: *Deois incompleta* (Fig. 4), *D. flavopicta* (Fig. 5), *Notozulia entreriana* (Fig. 6) e *M. fimbriolata* (Fig. 7). Koller & Valério (1987) e Valério & Koller (1992) informaram que no Brasil a espécie de cigarrinha de maior importância econômica é a *D. flavopicta*.



Figura 4. Adulto de *Deois incompleta*. Foto: Valério (2005).



Figura 5. Adulto de *Deois flavopicta*. Foto: Valério (2005).



Figura 6. Adulto de *Notozulia entreriana*. Foto: Valério (2005).



Figura 7. Adulto de *Mahanarva fimbriolata*. Foto: Valério (2005).

No Estado de Rondônia, as espécies de cigarrinhas-das-pastagens predominantes foram a *D. incompleta*, *N. entreriana* e *D. flavopicta* (TOWNSEND *et al.*, 1999), porém, estudos na última década constataram a presença de *M. fimbriolata* nas pastagens de capim-Marandu (*B. bryzantha*) no estado (TEIXEIRA & TOWNSEND, 1997).

Atualmente, a *M. fimbriolata* destaca-se pelo grande prejuízo econômico que causa em gramíneas forrageiras de grande porte e pela dificuldade de controle em campo no Estado de Rondônia (TOWNSEND *et al.*, 2001). Dinardo & Miranda (2003), Mendonça (2005) e Moraes *et al.* (2006) citam que a espécie *M. fimbriolata* é encontrada em praticamente todas as regiões canavieiras do Brasil, tornando-se uma praga importante nos canaviais do Estado de São Paulo a partir do final da década de 1990.

2.2 Métodos de controle das cigarrinhas-das-pastagens

Segundo Souza *et al.* (2008) não existe uma medida que possa isoladamente controlar efetivamente as cigarrinhas-das-pastagens. Vale destacar, que o método de controle precisa levar em consideração a busca pela redução dos impactos ambientais e econômicos.

Valério (2005) cita a necessidade da utilização de métodos integrados de controle, onde várias práticas são associadas visando minimizar os danos por este inseto-praga, tais como: controle físico, controle cultural, controle químico e controle biológico.

O controle físico pode ser feito pela destruição mecânica da biomassa das pastagens da área infestada pela praga utilizando grades aradoras e niveladoras, visando eliminar a palhada da área, que proporcionará, assim, menor infestação da praga (DINARDO-MIRANDA *et al.*, 2002), ou pelo uso do fogo, em áreas muito infestadas, para diminuir o foco da praga, uma vez que, desta forma, destroem suas formas biológicas, inclusive os ovos em diapausa (CONSENZA & NAVES, 1980), inviabilizando cerca de 50 a 60% destes ovos (NILAKHE, 1983).

O método cultural consiste no emprego de variedades resistentes, diversificação das pastagens, aquisição de sementes de forrageiras, manejo de pastagens, correção e adubação dos solos, e consorciação de gramíneas com leguminosas (ALMEIDA *et al.*, 2000).

O emprego de tipos de capins que possuam mecanismos de resistência às cigarrinhas deve ser efetuado visando reduzir a população dos insetos pragas no ambiente das pastagens, devendo realizar, a redução da participação do emprego de variedades altamente susceptíveis (MENDONÇA *et al.*, 1996). Os capins que apresentam tolerância ou resistência são: grama batatais (*Paspalum notatum*), *Brachiaria humidicola*, *Setaria sphacelata* cv. Kazungula, *Andropogon gayanus* cv. Planaltina, Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), *Panicum maximum* cv. Colômbio e Green Panic (REIS *et al.*, 1983; VALÉRIO & KOLLER, 1992).

De acordo com Sousa *et al.* (2008), a diversificação das pastagens consiste no estabelecimento de diferentes variedades de gramíneas, que

apresente resistência às cigarrinhas. Devem-se estabelecer pastagens incluindo pelo menos três espécies de gramíneas tolerantes, formando um ambiente heterogêneo (PEREIRA *et al.*, 1982). Valério & Oliveira (1984) recomendam a diversificação dos pastos, mantendo 30% da área de pastagem com gramíneas resistentes, e 70% com gramíneas susceptíveis. Costa *et al.* (1996) recomendam promover consorciação das pastagens cultivadas do gênero *Brachiaria* spp. em Rondônia, com *Desmodium ovalifolium*, *Pueraria phaseoloides*, *Centrosema macrocarpum*, *Centrosena pubescens*, *Stylosantes capitata*, *Stylosantes guianensis*, *Calopogonium mucunoides*, *Leucaena leucocephala* e *Cajanus cajan*.

A aquisição de sementes que apresentam boa qualidade e procedência, evitando o uso de sementes de varredura, reduz o risco de contaminação por ovos de cigarrinhas nas pastagens a serem implantadas ou restabelecidas (CARVALHO *et al.*, 2000).

O manejo de pastagens através da subdivisão dos pastos e do controle da pressão de pastejo torna-as mais tolerantes ao ataque das cigarrinhas (EUCLIDES, 1994; DA SILVA, 1995). De acordo com Valério & Oliveira (1984), deve-se efetuar a redução na taxa de lotação das pastagens de capins susceptíveis, durante a época das cigarrinhas, e manter rebaixada, sem sobra de matéria seca, as pastagens de capins suscetíveis, no final do período de seca. As plantas mais altas, geralmente mais vigorosas, toleram melhor o prejuízo causado pelas cigarrinhas e se recuperam mais rapidamente que as mais baixas (NILAKHE, 1983). O manejo adequado permite que a gramínea fique mais alta, com isso, criam-se condições favoráveis ao fungo *Metarhizium anisopliae* e outros fungos entomopatogênicos (VALÉRIO & KOLLER, 1992).

As práticas de correção do solo e da adubação têm por objetivo de manter as plantas vigorosas e mais resistentes ao ataque das cigarrinhas, onde, estas sofrem menos com o efeito do ataque das cigarrinhas e outras pragas (REIS *et al.*, 1983).

O método químico com produtos de ação sistêmica tem se mostrado, até o momento, uma alternativa bastante eficiente, porém,

quanto ao aspecto econômico e ambiental, é indispensável agregar ao conhecimento dos produtos o número e a época de aplicação mais indicada. Ao utilizar o método químico de controle das cigarrinhas devem-se usar produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para este fim, observando rigorosamente as medidas de segurança, doses e período de carência recomendado, além da compatibilidade destes com os agentes biológicos (GALLO *et al.*, 1988).

O controle químico, apesar de ser uma alternativa eficiente, apresenta algumas desvantagens como a ressurgência e aparecimento de novas pragas, surtos de pragas secundárias, deriva resistência de pragas (GALLO *et al.*, 2002). Este método de controle apresenta baixa eficiência de controle sobre a população de ninfas das cigarrinhas, devido à sua localização e por estas, ficarem protegidas por uma massa de espuma (SOUZA *et al.*, 2008), sem falar no desequilíbrio ecológico, que podem causar no ecossistema da cultura, eliminando inimigos naturais como, por exemplo, a *Salpingogaster nigra*.

No Brasil, o controle biológico através do uso de agentes microbianos tem demonstrado eficiência no controle de muitos insetos-praga para o manejo de pastagens (PEREIRA; PEREIRA, 1985; MELO & AZEVEDO, 1998; LANDELL & VASCONCELOS, 2004).

Alves & Almeida (1997) citam que o controle biológico com macro ou microrganismos é um dos principais componentes do manejo integrado de cigarrinhas. Este método de controle não é poluente, não provoca desequilíbrios biológicos, é duradouro e aproveita o potencial biótico do agroecossistema, não é tóxico para o homem e animais e pode ser aplicada com as máquinas convencionais, com pequenas adaptações.

Dentre os agentes de controle biológico, o fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, de ocorrência natural no Brasil, vem sendo cada vez mais utilizado no controle das cigarrinhas-das-pastagens (ALVES, 1998 a). A ação do patógeno sobre cigarrinha-das-pastagens foi constatada naturalmente e comprovada em laboratório (VENTURA; MATIOLI, 1980; VILLACORTA, 1980) e sua recomendação foi realizada para o manejo

desta praga em pastagens e cana-de-açúcar (MACEDO, 1977; BARBOSA, 1990, BALBO JUNIOR; MOSSIM, 1999; MACHADO & ALVES, 2001; FARIA, 2003; LOUREIRO *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2008).

Todavia, segundo Mendonça (1996) e Carvalho *et al.* (2000), a adoção de qualquer estratégia de controle das cigarrinhas inicia-se com a prática do monitoramento da praga. O monitoramento das cigarrinhas-das-pastagens deverá ser realizado no início do período chuvoso e durante todo o período de infestação para que se possa acompanhar a evolução ou o controle da praga (NILAKHE, 1982; TÔNUS, 1999; ALMEIDA *et al.*, 2000; LEITÃO-LIMA *et al.*, 2007).

2.3 O fungo *Metarhizium anisopliae*

O fungo entomopatogênico *M. anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Fig. 8) é um importante agente microbiano utilizado no controle de pragas, tendo sua ação bastante estudada e amplamente utilizada em quase todos os países do mundo (ALVES, 1998 a).



Figura 8. Fungo *Metarhizium anisopliae* em meio de cultura (Foto: A. Mari 2005).

O primeiro trabalho utilizando o fungo *M. anisopliae* para controle de pragas data de 1879, pelo russo Ilya Metchnikoff, que aplicou o fungo em larvas de um curculionídeo, praga de beterraba. Este fungo parasita

naturalmente mais de 300 espécies de insetos de diferentes ordens, incluindo pragas importantes da agricultura e da pecuária (ALVES, 1998 b). Zimmermann (1993) cita que quatro grupos de parasitos têm sido controlados por este fungo, sendo eles: cupins, gafanhotos, cigarrinhas e besouros. Atualmente é utilizado para o controle de pragas em muitos países como Austrália, Brasil, EUA entre outros.

M. anisopliae têm sido um método bastante explorado para o controle de diferentes insetos-praga no Brasil, tais como: carrapatos, broca-da-bananeira, cupim de montículo em pastagens, pragas de grãos armazenados e larvas de escarabeídeos que atacam a cana-de-açúcar, cigarrinhas da folha (*Mahanarva posticata*), da cana-de-açúcar (*M. fimbriolata*), cigarrinha das pastagens (*D. flavopicta* e *Z. entrepiana*) (BARBOSA *et al.*, 1990; MOINO JUNIOR, 1993; ZHIOUA, 1997; CASTRO *et al.*, 1999; SOUZA *et al.*, 2000; FRAZZON *et al.*, 2000; KAAYA, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2001; PAIÃO *et al.*, 2001; ALMEIDA & BATISTA FILHO, 2002; BATISTA FILHO *et al.*, 2002; GIMENEZ-PECCI *et al.*, 2002; LIU *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2003; BITTENCOURT *et al.*, 2003; LEITE *et al.*, 2003; REIS *et al.*, 2003; GARCIA *et al.*, 2005; BASSO *et al.*, 2005; MARANGA *et al.*, 2005; MELLO *et al.*, 2006; FERNANDES *et al.*, 2007; LOPES *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2008). No Brasil o fungo foi utilizado com sucesso pela primeira vez em 1965, para o controle da cigarrinha-da-cana *Mahanarva posticata*. Em 1995, estima-se que 150.000 hectares de canaviais receberam a aplicação do fungo (ALVES, 1998 b).

M. anisopliae co-evoluiu em associação com os insetos, e foi classificado Durante muito tempo como Deuteromiceto e pertencente à classe Hiphomycetes, ordem Moniliales, família Moniliaceae (TULLOCH, 1976; ZIMMERMANN, 1993; DRIVER *et al.*, 2000). Entretanto, utilizando-se de análises de seqüências da região de ITS do rDNA, Liu *et al.* (2001) identificaram o fungo *M. anisopliae* como sendo a forma anamorfa de *Cordyceps brittlebankisoides*, classificando-o como um Ascomiceto.

Morfológicamente, *M. anisopliae* apresenta-se como um fungo filamentososo, que apresenta um corpo de frutificação semelhante a um

esporodóquio agregado a hifas intimamente entrelaçadas, contendo uma massa compacta de conidióforos característicos, simples ou ramificados, resultando em células esporogênicas denominadas fiálides; das quais se originaram os fialospóros (WANG *et al.*, 2002).

Os conídios são uninucleados, hialinos e fracamente coloridos, se formando sobre conidióforos simples que, justapostos, resultam em uma massa regular sobre o inseto (ALVES, 1998 a). A doença é conhecida como muscardine verde, pois no final da conidiogênese, os cadáveres apresentam tons de verde que variam do claro ao escuro, acinzentado ou ainda esbranquiçado (WANG *et al.*, 2002) (Fig. 9 e 10).



Figura 9. Ninfa das cigarrinhas-das-pastagens infectada pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. Foto: Itaforte Bioprodutos.



Figura 10. Adulto de *Mahanarva fimbriolata* infectada pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. Foto: Itaforte Bioprodutos.

Alves (1998 b) cita que os sintomas causados pela patogenia sobre o hospedeiro incluem inquietação, perda da sensibilidade, descoordenação dos movimentos e paralisia, levando-os à morte. De acordo com o mesmo autor, o ciclo total da doença é de 8 a 10 dias. O ciclo da relação fungo-hospedeiro de *M. anisopliae* depende de condições ambientais (temperatura, luz, umidade, radiação ultravioleta), condições nutricionais e susceptibilidade do hospedeiro (HALLWORTH & MAGAN, 1999). O fungo também possui conídios com capacidade de disseminação horizontal, e pode ser levado por diferentes agentes para outros lugares distantes, podendo ser disseminados pelo vento (ALVES, 1998 b).

2.4 O processo de infecção do fungo *Metarhizium anisopliae*

O processo de infecção do fungo *M. anisopliae* sobre hospedeiros depende de uma seqüência de eventos de ordem mecânica e bioquímica que ocorrem de forma sincronizada pela deposição do conídio sobre a cutícula do hospedeiro, seguida pela germinação do conídio, penetração através da cutícula dada por ação mecânico-enzimático, invasão, colonização do corpo do inseto e produção de toxinas, exteriorização das estruturas fúngicas, produção de conídios sobre a carcaça do hospedeiro e disseminação (ST. LEGER *et al.*, 1996). O tempo de infecção e colonização pode variar, dependendo do hospedeiro e das condições ambientais (HSIAO & KO, 2001; WANG *et al.*, 2002). Mais detalhadamente, este ciclo apresenta as seguintes fases: adesão, germinação, formação de apressórios, formação do grampo de penetração, penetração, colonização, reprodução e disseminação do patógeno (ALVES, 1998 b).

Ao encontrarem condições ambientais favoráveis, os esporos do fungo interagem hidrofobicamente com a cutícula do hospedeiro. Após a penetração da cutícula pelos tubos germinativos, o fungo *M. anisopliae* rapidamente invade os órgãos internos, causando paralisia e a morte do hospedeiro (KAAYA *et al.*, 2000; GARCIA *et al.*, 2005). Esse processo também é sensível a alterações da superfície, indicando um possível

mecanismo pelo qual o patógeno reconhece seu hospedeiro (BIDOCHKA *et al.*, 1997; KAAYA *et al.*, 2000).

Os conídios germinam na cutícula de um inseto susceptível, produz um tubo germinativo que penetra na cavidade do corpo do inseto aonde o fungo se prolifera com hifas, matando o hospedeiro. Segundo Fernandes & Alves (1992), quanto mais conídios penetram, mais toxinas ou enzimas são liberadas, aumentando a mortalidade do inseto. Depois da morte, se as condições forem favoráveis, o fungo cresce e esporula servindo de fonte de inóculo para outros indivíduos (DRIVER *et al.*, 2000). A fonte natural de inóculo mais importante para iniciar uma epizootia é o solo (ALVES, 1998 a; FRANCESCHINI *et al.*, 2005).

St. Leger *et al.* (1991) citam que processo de adesão conidial é de fundamental importância para a formação de apressórios de *M. anisopliae*, uma vez que representa o primeiro evento da relação fungo-hospedeiro e visa à penetração no inseto. A fixação dos conídios do fungo *M. anisopliae* no inseto hospedeiro representa o evento inicial no estabelecimento de micoses, e ocorre via cutícula aonde adere e germina.

Alves (1998) cita que o fungo *M. anisopliae* atua por contato levando de cinco a oito dias para matar as ninfas de cigarrinha, atuando de forma mais lenta que os inseticidas químicos. Contudo, apresentam maior competência para manter o controle, podendo permanecer sobre os insetos mortos na forma de conídios ou mesmo no solo, sendo este, considerado o maior depósito de estruturas de resistência do *M. anisopliae*.

A velocidade de infecção de *M. anisopliae* está relacionada à estrutura tegumentar dos hospedeiros. Ele produz uma série de enzimas proteolíticas e quitinolíticas que provavelmente, estão envolvidas na sua patogenicidade (JOSHI *et al.*, 1997), sendo responsáveis pela regulação e indução da degradação da quitina (ROBERTS *et al.*, 1992; ST. LERGER *et al.*, 1996; KANG *et al.*, 1999; GIMÉNEZ-PECCI, 2002). Tanto as proteases quanto as quitinases e lipase estão envolvidas na patogenicidade dos fungos entomopatogênicos aos seus hospedeiros (ST. LEGER *et al.*, 1998),

atuando sinergicamente para degradar e penetrar na cutícula do hospedeiro (JOSHI *et al.*, 1997; KANG *et al.*, 1999).

M. anisopliae utiliza uma combinação de enzimas e força mecânica para penetrar a cutícula de seu hospedeiro e ter acesso a hemolinfa, rica em nutrientes (WANG *et al.*, 2002, BARRETO *et al.*, 2004). Essa infecção é possível pela combinação de enzimas digestivas e micotoxinas que o fungo entomopatogênico produz e libera (ST. LERGER *et al.*, 1996; KAAYA *et al.*, 2000).

2.5 Fatores de virulência do fungo *M. anisopliae*

A sobrevivência, propagação e infecção do fungo *M. anisopliae* está sujeito à influência de fatores bióticos e abióticos (GOETTEL *et al.*, 2000; DRIVER *et al.*, 2000). O desenvolvimento e a virulência dos fungos entomopatogênicos responde drasticamente a fatores ambientais como temperatura, luz, pH, umidade e nutrientes (MILNER *et al.*, 2000).

Segundo Alves (1998 b), a temperatura e a umidade relativa do ar são fatores ambientais relevantes no desenvolvimento do ciclo das relações parasito/hospedeiro, influenciando na germinação dos esporos, no desenvolvimento do tubo germinativo e na penetração do *M. anisopliae* no hospedeiro. Muitas espécies de requerem umidade relativa de 98 a 100% para a germinação, a infecção e a conidiogênese do fungo (HALLWORTH & MAGAN, 1999). Milner *et al.* (2000) verificaram que a mortalidade dos cupins *N. exitiosus* e *Coptotermes acinaciformis* ocorreu nas umidades entre 90 e 100%, e que a esporulação do fungo *M. anisopliae* ocorreu apenas em umidades acima de 93%.

Alves (1998 b) avaliando a ocorrência de *M. anisopliae* sobre a população de *M. fimbriolata*, constatou que chuvas muito intensas e contínuas, com precipitação de 67 mm por dia durante a ocorrência dos focos primários das doenças, prejudicam a disseminação do patógeno, que se desprendem dos cadáveres do substrato, reduzindo o seu potencial de inóculo e sua epizootia.

A radiação pode provocar danos diretos e indiretos nos conídios diminuindo sua eficiência contra os insetos, podendo atuar sobre a germinação e estágios iniciais do tubo germinativo (BRAGA *et al.*, 2001), e inativação dos conídios, danos letais ao DNA, mutações, aquecimento e a dessecação dos esporos (MILNER *et al.*, 2000; NICHOLSON, *et al.*, 2000). Francisco (2004) cita que bioinseticidas à base de *M. anisopliae* apresentaram sensibilidade à radiação UV-A e UV-B.

Entre os fatores bióticos que afetam sobre o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos, vários trabalhos relatam à ação fungistática do solo que diminuem a germinação, crescimento e sobrevivência. Sharapov & Kalvish (1984) citam que em estudos analisando o uso de diferentes fungos patogênicos constataram que *M. anisopliae* foi o mais afetado pela ação fungistática dos solos.

A composição da cutícula influencia na virulência dos fungos entomopatogênicos (ST. LERGER *et al.*, 1991). O tegumento dos insetos possui alguns aldeídos presentes no tegumento que podem inibir a germinação dos conídios de *M. anisopliae* (ALVES, 1998 a). Outros fatores relacionados a patogenicidade incluem dimensão de conídios, taxa de crescimento do fungo e atividade enzimática (ST. LERGER *et al.*, 1996).

As diferenças na patogenicidade de *M. anisopliae* também indicam que ocorre variação genética (ALVES, 1998 b; ALVES *et al.*, 2001; ARRUDA, 2005; FERNANDES *et al.*, 2007). Em uma classificação da taxonomia do gênero *M. anisopliae* a partir de análises de seqüência do rDNA, Driver *et al.* (2000) encontraram um alto nível de diversidade genética entre 123 isolados analisados. As técnicas de biologia molecular ajudam em muito na seleção de isolados de fungos, diminuindo assim o tempo utilizado para a seleção, determinando grupos de isolados e a virulência similar a outras espécies de insetos (ALVES *et al.*, 2001).

Segundo St. Leger (1991), a variação de virulência de isolados de fungos entomopatogênicos está relacionada com a composição química da cutícula e os processos bioquímicos envolvidos para a formação do tubo germinativo e colonização do hospedeiro. Outros fatores relacionados à

patogenicidade incluem a dimensão de conídios, taxa de crescimento do fungo e atividade enzimática (ST. LEGER *et al.*, 1996; 1998). A velocidade de ação do fungo depende, além da dosagem, das espécies hospedeiras envolvidas (ALMEIDA; BATISTA FILHO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2003; LEITE *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2008). Alves (1998 b) e Neves (1998) citam que variação da patogenicidade pode estar associada a fatores como baixa virulência do isolado, especificidade e tolerância do hospedeiro e aplicação em subdoses. As dosagens utilizadas nas aplicações de isolados do fungo *M. anisopliae* variam muito (DINARDO MIRANDA *et al.*, 2004), observando-se efeito subletais (HORNBOSTEL *et al.*, 2004), sendo que em alguns casos, mais de uma aplicação do fungo parecem ser necessários para se obter resultados satisfatórios (ALMEIDA *et al.*, 2002). Pereira *et al.* (2008) constataram que as doses 16×10^{12} e 20×10^{12} conídios viáveis por hectare do isolado IBCB 425 e ESALQ 1037 foram eficientes no controle de *D. flavopicta*, em pastagem de capim-braquiária (*B. decumbens*).

Kaaya (2000) afirma que os tipos das formulações do isolado de *M. anisopliae* podem influenciar na atividade e na eficiência e resistência aos fatores ambientais. Em trabalhos desenvolvidos com *M. anisopliae* e *B. bassiana* no controle pragas verificou-se que as maiores eficiências foram encontradas nas formulações a base de óleo (PRIOR; JOLLANDS, 1988; BATEMAN, 1993; BATISTA FILHO *et al.*, 2002; MARANGA *et al.*, 2005).

Na seleção de isolados de *M. anisopliae* em laboratório, onde se comparou 79 isolados de diferentes hospedeiros e procedência sobre ninfas de *M. fimbriolata*, os isolados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 foram os mais virulentos e produtivos (LOUREIRO *et al.*, 2003). A maioria dos fungos atua por contato e por ingestão, o que permite estudos de seleção de cêpas ou isolados (BORGES, 1985; JONSSON; MAIA, 1999; LEITE *et al.*, 2003). Bueno (2000) e Almeida & Batista Filho (2002) citam que a principal fase de um programa de controle microbiano é a seleção de isolados dos patógenos. Desta forma, o controle de qualidade dos bioinseticidas constitui-se em uma importante ferramenta para a promoção do controle das cigarrinhas-das-pastagens em diferentes regiões do Brasil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização do local

O experimento foi conduzido no Sítio Daiane, localizado a 12°57' Sul 60°53' Oeste e altitude média de 160 m, no período de dezembro de 2008 a março de 2009, município de Corumbiara-RO, em pastagem cultivada de capim-Marandu (*B. bryzantha*) (NUNES, 1985). O solo característico da área é caracterizado como Latossolo vermelho-amarelo (EMBRAPA, 2006).

Segundo a classificação de Köppen (1948) o clima da região é do tipo Aw – Clima Tropical Chuvoso, com inverno seco e verão quente e chuvoso, com precipitação média anual em torno de 2500 mm e temperatura média anual próxima de 26 °C, variando entre 18 e 32 °C. A média anual de precipitação varia entre 1.400 e 2.500 mm, concentrado na estação chuvosa (outubro a abril), e a média anual da umidade relativa do ar varia de 80% a 90% no verão, e em torno de 75% no outono-inverno.

A pastagem, com cerca de quatro anos de idade, mantida sob o sistema de pastejo rotacionado, lotação de 1,5 animais (zebuíno x holandês), tinha um histórico de altas infestações e danos causados pelas cigarrinhas. A altura das plantas, desde o início do teste, se manteve entre 25 e 35 cm.

As unidades experimentais possuem 100 metros quadrados (10m x 10m) e estavam separadas por corredores de 10 metros. A área experimental utilizada não possuía histórico de aplicação de inseticidas, uso de fogo ou de isolados de fungo *M. anisoplae*.

3.2 Delineamento experimental aplicado

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados, com 13 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos correspondem a aplicação de isolado de *M. anisopliae* em três dosagens ($1,0 \times 10^9$; $1,5 \times 10^9$ e $2,0 \times 10^9$ conídios viáveis/há), em duas formulações (concentrado emulsionável - CE e pó molhável - PM), em uma e duas vezes (1^o e 32^o dia), somando um total de 52 parcelas. Os tratamentos estão descritos na Tabela 1:

Tabela 1. Tratamento, formulações e concentração de conídios por hectare e número e data de pulverizações da suspensão de *Metarhizium anisopliae* para o controle das cigarrinhas-das-pastagens em capim-Marandu (*Brachiaria bryzantha*). Corumbiara, RO. 2009.

Tratamento	Formulação	Dose ha ⁻¹	Pulverizações (n ^o e data)
T 01 Metarril®	PM	$1,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 02 Metarril®	PM	$1,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 03 Metarril®	PM	$1,5 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 04 Metarril®	PM	$1,5 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 05 Metarril®	PM	$2,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 06 Metarril®	PM	$2,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 07 Metarril®	CE	$1,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 08 Metarril®	CE	$1,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 09 Metarril®	CE	$1,5 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 10 Metarril®	CE	$1,5 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 11 Metarril®	CE	$2,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 12 Metarril®	CE	$2,0 \times 10^9$	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)
T 13 Testemunha	-----	-----	1 ^a (14/12/2008) e 2 ^a (17/01/2009)

3.3 O Bioinseticida *Metarhizium anisoplae* ESALQ 1037

O bioinseticida utilizado no experimento, conhecido comercialmente por Metarril®, foi cedido pela Empresa Itaforte Bioprodutos Ltda, Itapetininga, SP. O isolado de *M. anisopliae* (ESALQ – 1037) é originário do Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia, pertencente a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, Piracicaba-SP.

O bioinseticida foi desenvolvido por pesquisadores da ESALQ/USP, caracterizado como um isolado geneticamente selecionado, com alta

pureza, viabilidade e virulência, e submetido a testes oficiais de controle de campo e registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sob o número 6605.

A escolha do isolado de *M. anisopliae* (ESALQ – 1037) foi efetuada com base em resultados promissores obtidos em ensaios “*in vitro*” (LEITE *et al.*, 2003; GARCIA *et al.*, 2005) e ensaios em campo (ALMEIDA & BATISTA FILHO, 2002; BATISTA FILHO *et al.*, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2008) no controle de cigarrinha-da-raiz, cigarrinhas-das-pastagens e da cana-de-açúcar. O bioinseticida *M. anisopliae* foi armazenado de acordo com as orientações técnicas prescritas no rótulo da embalagem do produto, sendo acondicionado em geladeira a 4°C de temperatura, em suas respectivas embalagens até as datas de aplicações.

3.4 Preparo da suspensão de conídios do fungo *M. anisopliae*

As suspensões de *M. anisopliae* foram elaboradas nos dias de aplicação (14/12/2008 e 17/01/2009). Para a elaboração das suspensões conidiais dos tratamentos, as formulações e dosagens foram diluídas em água num balde de plástico de dez litros. Em seguida a suspensão obtida foi armazenada por uma a duas horas em recipiente plástico com tampa, de capacidade de 20 litros; para facilitar posterior agitação (Fig. 11).



Figura 11. Preparo da suspensão de conídios de *Metarhizium anisopliae* acondicionada via funil de plástico em recipiente plástico com tampa.

3.5 Aplicação da suspensão do fungo *M. anisopliae*

A aplicação do isolado de *M. anisopliae* foi realizada com pulverizador costal manual de capacidade de 20 litros, equipado com bico leque do tipo LPBD 8002®, à distância de 50 cm de altura do solo conforme ALVES (1998 a). O volume da calda da suspensão para pulverizar a pastagem de *B. bryzantha* cv. Marandu foi de 300 L/ha.

A primeira aplicação foi realizada no dia 14/12/2008 e a segunda no dia 17/01/2009. As condições climáticas no local foram de temperatura média de 18° C e umidade relativa do ar de 69%. A Testemunha foi pulverizada apenas com água.

3.6 Coleta e identificação das espécies de cigarrinhas-das-pastagens

A coleta das espécies de cigarrinhas-das-pastagens para posterior identificação foram realizadas empregando-se o método sugerido por Valério (2005), utilizando-se de uma rede de varredura de 40 cm de diâmetro (Fig. 12).



Figura 12. Rede de varredura utilizada para coleta de insetos adultos das cigarrinhas das pastagens na área do experimento.

Dentro de cada parcela amostral de tamanho 10 m x 10 m (100 m²) foi realizada metodologia de amostragem através de dez redadas em forma de zig-zag, conforme sugerida por Valério (2005). As amostragens foram

realizadas um dia, antes da primeira aplicação do fungo (em 13/12/2008). Os adultos das espécies de cigarrinhas coletas nestas amostragens foram posterior armazenados no interior de recipientes de vidro; tendo sido contadas e identificadas visualmente. Esses dados foram registrados em uma planilha, e posteriormente tabulados e analisados.

3.7 Avaliação da infestação das cigarrinhas-das-pastagens

Para avaliar a infestação das ninfas das cigarrinhas-das-pastagens no capim-Marandu (*B. bryzantha*) foi utilizada a técnica do levantamento do quadrado metálico de 0,0625 m² (quadrado de 0,25 m x 0,25 m) (Fig.13), que foi lançado aleatoriamente em quatro pontos de cada unidade experimental, conforme proposto por Nilakhe (1982); Menezes *et al.* (1983); Valério (2005) e Pereira *et al.* (2008).

As ninfas foram retiradas com o auxílio de uma espátula de madeira (20 cm de comprimento x 1,5 cm de largura), e depois contadas, segundo metodologia descrita por Pereira *et al.* (2008).



Figura 13. Quadrado metálico de 0,25 m x 0,25 m utilizado para leitura e contagem do número de ninfas das cigarrinhas-das-pastagens.

Foram realizadas seis avaliações das infestações de ninfas, sendo uma antes das aplicações do fungo em 13/12/2008, e cinco outras aos 15, 32, 45, 61 e 75 dias após a aplicação do fungo em 14/12/2008. A

constatação da infectividade de *M. anisopliae* sobre cigarrinhas-das-pastagens foi verificada a partir da identificação dos insetos (ninfas e adultos) infectados e mortos. Os insetos apresentavam o corpo endurecido, e o desenvolvimento de massa micelial de coloração branca; e também a produção de conídios de coloração verde, conforme observado por Alves (1998).

3.8 Análise estatística dos dados

Os dados das contagens do número de ninfas das cigarrinhas foram para armazenados em planilha de campo, sendo posteriormente tabulados para análise. Os dados coletados foram extrapolados para número de cigarrinhas por m², e posteriormente, transformados em log de (x + 10,00). Efetuou-se a análise de variância pelo teste F, e comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Espécies de cigarrinhas-das-pastagens

Na identificação das cigarrinhas-das-pastagens presentes na área do experimento, do total dos indivíduos/insetos coletados, foi observada a presença das seguintes espécies: *Mahanarva fimbriolata*, *Deois flavopicta*, *Notozulia entreriana* e *Deois incompleta*, correspondendo a 51, 29, 15 e 5%, respectivamente (Figura 14).

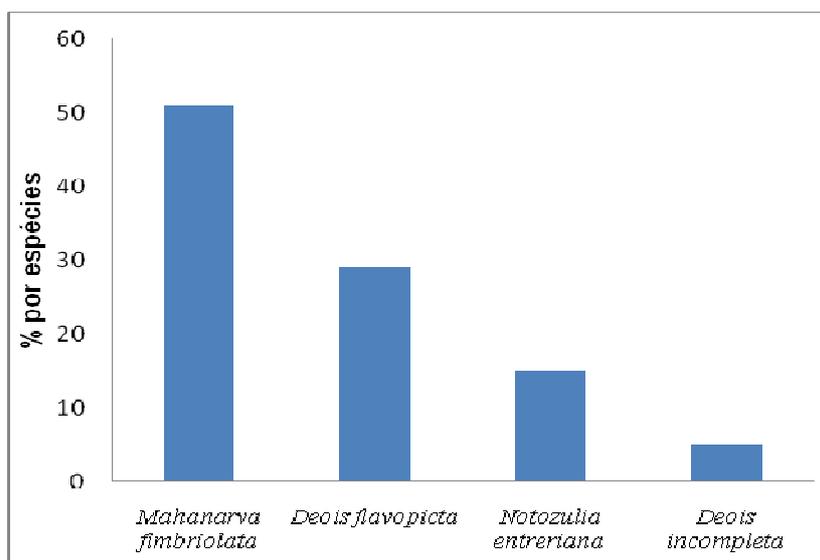


Figura 14. Espécies de cigarrinhas-das-pastagens identificadas na área experimental no município de Corumbiara, RO (13/12/2008).

Os resultados obtidos (Fig. 14) quanto aos tipos de espécies de cigarrinhas presentes na área do experimento, estão de acordo com El-

Kadil (1978), Oliveira & Curi (1980) e Oliveira & Alves (1988), Bernardo *et al.* (2003) e Valério (2005), que identificaram as espécies *D. incompleta*, *D. flavopicta* e *N. entreriana* atacando as gramíneas *B. decumbens*, *B. ruzizensis*, *B. humidicola* e *P. maximum*, e também foram semelhantes aos estudos realizados no Estado de Rondônia por Townsend *et al.* (2001). Também, Townsend *et al.* (1999) evidenciou anteriormente a presença das mesmas espécies (*D. flavopicta*, *N. entreriana*, *D. incompleta*) e a presença de *M. fimbriolata*, atacando pastagens de *B. bryzantha*, em Rondônia.

O estabelecimento desta diversidade de espécies de cigarrinhas das pastagens no estado de Rondônia pode estar relacionado com a introdução de espécies de gramíneas exóticas, oriundas da África, conforme relatado por Nilakhe (1982) e Valério (2005).

No levantamento realizado no município de Corumbiara-RO evidenciou-se que a espécie *M. fimbriolata* foi a mais abundante no mês de dezembro, semelhante aos resultados obtidos por Townsend *et al.* (1999), que apontaram esta espécie como a responsável pelas maiores infestações em pastagens cultivadas de *B. bryzantha* em Porto Velho e Ariquemes, RO. Todavia, diverge dos estudos de Teixeira (1997), em Ji-Paraná-RO, onde as espécies de cigarrinhas identificadas foram *D. flavopicta* com 50% dos exemplares amostrados, seguidas de *Z. entreriana* com 43,5%, *D. incompleta* com 5,5% e *M. fimbriolata*, com 1%.

A espécie *M. fimbriolata* não é inseto típico de pastagens cultivadas, e sendo considerada de importância econômica somente em plantações de cana-de-açúcar no estado de São Paulo, e na região nordeste (VALDINARDO-MIRANDA *et al.*, 2004). Sua distribuição geográfica abrange os Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Santa Catarina, Amazonas, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Mato Grosso, Goiás, sendo mais séria sua ocorrência em São Paulo, principalmente em pastagens de capim Napier (GUAGLIUMI 1973; MENDES *et al.*, 1977).

Existe uma alternância de infestação de cigarrinhas para as espécies aqui estudadas em diferentes regiões do Brasil. No estado da

Bahia, *Z. entreriana* se destaca como a mais importante (SOUZA *et al.*, 2008). No estado do Espírito Santo, *Z. entreriana* e *M. fimbriolata* são consideradas as espécies mais importantes (DOMINGUES & SANTOS, 1975; MATIOLI, 1976) e em Minas Gerais as mais importantes são: *M. fimbriolata*, *Deois terreia*, *D. incompleta* e *A. selecta* (REIS *et al.*, 1978). Milanez (1980) encontrou *Z. entreriana* como predominante em Nova Odessa e Piracicaba, SP. A incidência de *M. fimbriolata* em pastagens cultivadas de *Brachiaria* spp. foi problema relevante, sendo que suas populações foram originárias dos canaviais e capineiras implantadas nestas regiões (DINARDO-MIRANDA, 2003).

Também o ataque de *D. flavopicta*, *N. entreriana*, *D. incompleta* e *M. fimbriolata* em pastagens de *B. bryzantha* corroborou com a suposição da quebra de resistência deste capim, conforme também afirmação de Teixeira (1997), referente a esta gramínea não ser uma espécie adequada ao desenvolvimento das cigarrinhas.

4.2 Eficiência de controle das cigarrinhas-das-pastagens

Anteriormente à aplicação do bioinseticida em 13/12/2008 (dia zero) não houve diferença significativa entre todos tratamentos, referente ao número de insetos por m² na área experimental (Tabela 2), embora tenha sido encontrada altas infestações da praga; variando de 152,75 a 156,00 insetos vivos por m². O nível de controle das cigarrinhas das pastagens é de 20 a 25 insetos por m² conforme recomendado por Menezes *et al.* (1983) e Champanhola & Bettiol (2003).

Analisando-se os resultados aos 15 dias (em 31/12/2008) após a primeira aplicação do isolado ESALQ 1037 de *M. anisopliae* (em 14/12/2008), observou-se que todos os tratamentos com o bioinseticida apresentaram redução na população de cigarrinhas em relação a 13/12/2008 (Tabela 2); e também diferiram estatisticamente da Testemunha, independentemente das dosagens (1×10^9 ; $1,5 \times 10^9$; 2×10^9 conídios viáveis/ha⁻¹) e formulações (CE e PM). Apesar de não haver diferenças significativas, os tratamentos T 01 e T 02 são os que apresentam a maior população de cigarrinhas, com 82,25 e 84,25

insetos/m² respectivamente, o que correspondeu, a uma redução de 46,15 e 45,11%, respectivamente. Os tratamentos T 01 e T 02 não diferiram entre si e também dos tratamentos T 03, T 04, T 07, T 08, T 09 e T 10. Os tratamentos T 11 e T 12 foram os que apresentaram a melhor resposta do isolado do fungo e da formulação concentrado emulsionável (CE), com infestação de 51,75 e 50,50 insetos/m², equivalendo a reduções de 66,82% e 67,47% respectivamente relativas à população de cigarrinhas (Tabela 2).

Tabela 2. Número de insetos vivos por metro quadrado de pastagem de *Brachiaria bryzantha*, dias após à aplicação de *Metarhizium anisopliae* (isolado ESALQ 1037. Corumbiara, RO, 2009

Tratamento	Insetos vivos (dias após a aplicação)					
	0	15	32	45	61	75
T 01 Metarril PM	152,75 a	82,25 b	57,25 b	31,50 ba	28,50 b	22,50 b
T 02 Metarril PM	153,50 a	84,25 b	55,25 cb	28,75 bc	24,25 becd	18,75 becd
T 03 Metarril PM	153,50 a	74,75 cb	42,75 cfde	23,50 b	22,50 bc	21,50 bc
T 04 Metarril PM	153,50 a	76,50 cb	43,50 cfde	18,75 cd	16,75 fed	14,75 fed
T 05 Metarril PM	152,75 a	66,75 cd	34,75 gfe	24,00 bc	23,50 bc	20,25 bc
T 06 Metarril PM	155,50 a	65,50 cde	32,50 gf	16,75 cd	16,50 fed	14,75 fed
T 07 Metarril CE	155,25 a	73,50 cb	46,50 cbd	29,25 b	22,25 bcd	18,00 becd
T 08 Metarril CE	154,50 a	73,25 cb	45,25cbd	22,75 bcd	18,25 becd	15,50 fed
T 09 Metarril CE	154,25 a	70,50 cb	43,75 cfde	23,25 bc	18,25 becd	16,25 fecd
T 10 Metarril CE	152,75 a	69,75 cb	43,50 cfde	15,75 cd	14,50 fe	12,75 fe
T 11 Metarril CE	156,00 a	51,75 cde	30,50 g	23,50 bc	18,25 becd	15,50 fed
T 12 Metarril CE	155,25 a	50,50 e	29,75 g	13,75 d	11,50 f	9,75 f
T 13 Testemunha	154,50 a	120,50 a	73,25 a	39,25 a	35,25 a	28,50 a

¹ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Observa-se também aos 15 dias após aplicação, que ocorreu a formação de quatro grupos de tratamentos diferentes estatisticamente, sendo o primeiro T 01 e T 02 (Metarril® pó-molhável mesma dosagem 1,0 x 10⁹ conídios viáveis por há) sendo estes os menos eficientes no controle dos insetos. O segundo maior grupo compreendeu sete tratamentos T 03, T 04, T 05, T 07, T 08, T 09, e T 10 que foram moderadamente eficientes; embora não diferiram entre si quanto às doses utilizadas (Metarril® de 1,5 a 2,0 x 10⁹ conídios viáveis por ha) e às formulações aplicadas (PM e CE). O terceiro grupo formado pelos tratamentos T 06 e T 11 (dose 2,00 x 10⁹ conídios viáveis por há, e nas duas formulações PM e CE) com 65,50 e 51,75 insetos por m² respectivamente; que não deferiu do grupo 2. O quarto

grupo composto somente pelo tratamento T 12 (Metarril® dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha e CE) apresentou 50,50 insetos por m^2 , tendo diferido estatisticamente dos demais tratamentos; e obtido eficiência de 67,47 % no controle dos insetos. Portanto aos 15 dias após a aplicação o T 12 mostrou-se o mais eficiente nesta dosagem e formulação (Metarril® dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha e CE), em relação a todos os tratamentos. Neste dia, ainda não havia sido realizado a segunda aplicação do *M. anisopliae*.

Aos 32 dias (17/01/2009) após uma aplicação do fungo *M. anisopliae*, o tratamento que apresentou maior número de cigarrinhas por m^2 foi o T 01 (Metarril® dose $1,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha e formulação PM), com 57,25 insetos/ m^2 , com redução de 64,00 % dos insetos. Entretanto não diferiu estatisticamente dos tratamentos T 02, T 07 e T08. Os tratamentos T 11 e T 12 (Metarril® dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha e CE) e T 05 e T 06 (Metarril® dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha e PM) foram os mais eficientes na maior dosagem do produto, e em ambas as formulações (PM e CE); ou seja apresentaram as menores populações das cigarrinhas (Tabela 2). Verificou-se então, que a maior dosagem do fungo (Metarril® dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha) aplicado, independente da formulação foi a mais eficiente no controle do inseto praga.

Aos 45 (em 15/01/2009), 61 (em 30/01/2009) e 75 (em 15/02/2009) dias quando sob o efeito das duas aplicações do fungo *M. anisopliae* realizadas em 31/12/2008 e 17/01/2009, o tratamento T 12 (Metarril® dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha e CE) apresentou a maior eficiência de controle 91,14; 92,60 e 93,72 % respectivamente (Tabela 2). Estes resultados mostraram a eficiência deste tratamento T 12 em relação aos demais tratamentos desde os 32 dias após aplicação do fungo.

Apesar de o inseticida microbiano, relatadas Neste dia, além do tratamento T 12, os tratamentos T 04 (87,80%), T 06 (89,235), T 08 (85,27%) e T 10 (89,70 %) apresentou resultados superiores aos observados por Pereira *et al.* (2008) aos 44 dias após aplicação ter

apresentado porcentagem de mortalidade superior a 85%, nas doses de 8, 16 e 20 x 10¹² conídios viáveis/ha.

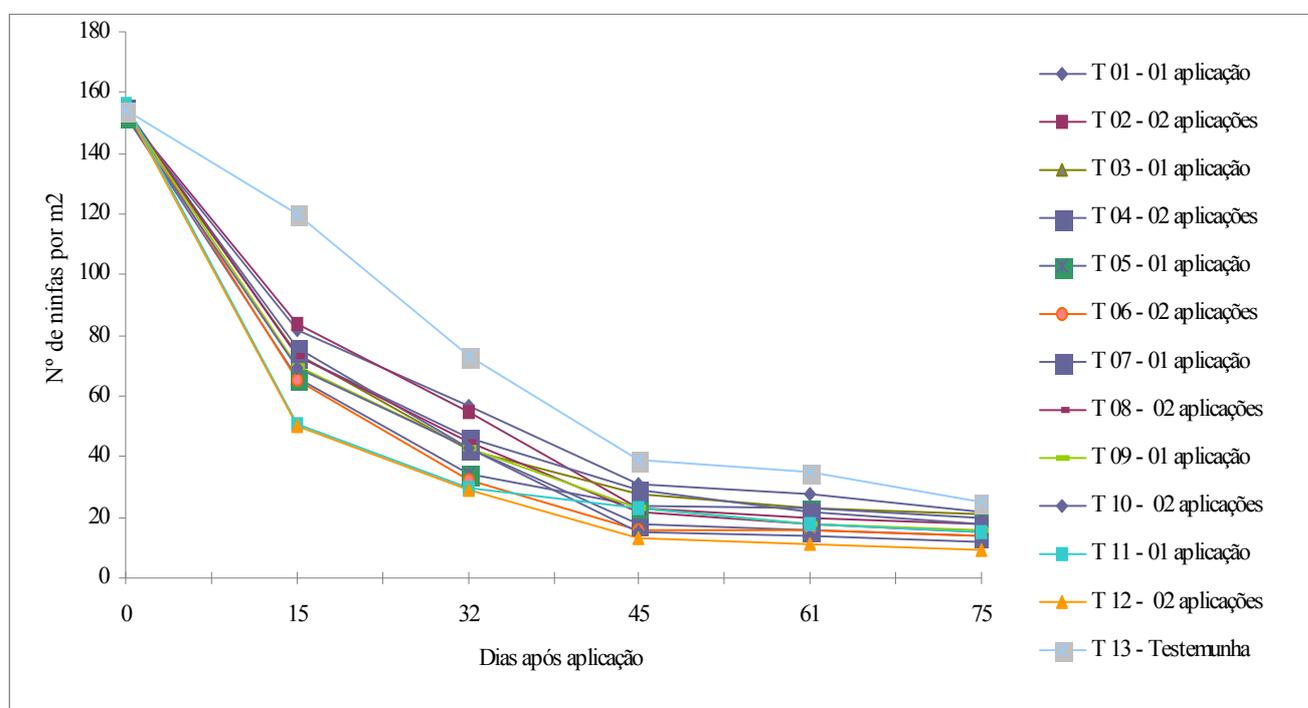


Figura 15. Número de ninfas por m² em pastagem de *Brachiaria bryzantha* após as aplicações do fungo *Metarhizium anisopliae*. Corumbiara, RO, 2009.

Na Figura 15 foi apresentado o número de ninfas por m² em pastagem de *Brachiaria bryzantha* após as duas aplicações do fungo *Metarhizium anisopliae* em relação ao tempo (dias após a aplicação do fungo). Verificou-se a influência do tempo no número de ninfas nas parcelas experimentais não se manteve constante, e diminuiu para todos os tratamentos. Foi também verificado que o número de ninfas de cigarrinhas nos diferentes dias após a aplicação dependeu diretamente dos tratamentos aplicados (doses e formulações). Foi observado durante a mudança de 45 para 61 dias após a aplicação do fungo, que os tratamentos T 06, T 10 e T 12 se destacaram como mais eficientes na redução das ninfas das cigarrinhas. (Figura 15). A partir dos 61 dias após, o número de ninfas permaneceu praticamente inalterado. A partir dos 75 dias após a aplicação de *M. anisopliae*, para todos os tratamentos

apresentaram o número de ninfas abaixo do nível de controle conforme sugerido por Menezes *et al.* (1983) e Champanhola & Bettiol (2003) (Tabela 2 e Figura 15).

De um modo geral, a análise estatística mostrou que, a partir dos 15 dias após a aplicação dos tratamentos com o *M. anisopliae*, houve um declínio acentuado no número de ninfas, o que também foi observado para a Testemunha. Nos 45, 61 e 75 dias após a aplicação, ainda que muitos tratamentos mostrassem ter o mesmo efeito, foi observadas formações de grupos de tratamentos semelhantes como aos 15 dias após aplicação, que ocorreu a formação de quatro grupos de tratamentos diferentes estatisticamente. Também aos 45 dias após formaram-se dois grupos distintos devido as diferentes dosagens e formulações do fungo.

Os resultados obtidos neste trabalho estão concordantes com os de Almeida *et al.* (2001), Dinardo-Miranda *et al.* (2004) e Pereira *et al.* (2008); os quais afirmaram que a maior redução do número de cigarrinhas por metro quadrado foram encontrados nas maiores dosagens de conídios viáveis/ha. Porém os resultados encontrados neste trabalho ocorreram diferenças dos obtidos por Alves & Lecuona (1998); Almeida & Batista Filho (2002), Almeida *et al.* (2003) e Hallworth e Magan (1999), em relação ao nível de controle das cigarrinhas referentes às dosagens, formulações e/ou número de aplicações realizadas. Também os resultados confirmaram que o fungo *M. anisopliae* em regiões ecologicamente favoráveis ao microrganismo, este tem superado o efeito do entomopatógeno no controle de *D. flavopicta*, nas respectivas doses, com média superior a 85,30% de redução da população das cigarrinhas aos 75 após a aplicação do bioinseticida, corroborando com a eficácia de controle de 60 a 80% do agente microbiano, citada por Franco (2002), Almeida *et al.* (2002) e Pereira *et al.* (2008), respectivamente. Almeida *et al.* (2002) ao testarem concentrações a ser aplicada em campo de 1 a 3 kg/ha (5×10^{11} a $1,5 \times 10^{12}$ conídios/ha) estabeleceu-se no mínimo 1×10^{12} conídios/ha (2 kg/ha) para ser eficientes para manter a população de cigarrinha abaixo do nível

de controle com três aplicações de novembro a janeiro, e para se evitar perdas por falta de chuva ou raios ultravioletas.

Os resultados, contudo, divergem dos de Batista Filho *et al.* (2002) e Almeida *et al.* (2002), Almeida *et al.* (2003) e Pereira *et al.* (2008), que demonstraram grande diversidade da eficiência de isolados de *M. anisopliae* quando aplicados em condições de campo. Pereira *et al.* (2008), relataram o efeito de controle das cigarrinhas varia em relação às dosagens utilizadas, sendo superiores em ensaios utilizando dosagens maiores que $1,0 \times 10^9$ conídios viáveis/ha, enquanto que Batista Filho *et al.* (2002), citaram que o isolado IBCB 10 do fungo *M. anisopliae* na concentração de 1 kg de arroz esporulado com *M. anisopliae* 5×10^{11} conídios/há, em três aplicações foi mais eficiente no controle de *M. fimbriolata*. Do mesmo modo, Almeida *et al.* (2002) os isolados IBCB 10 e ESALQ 1037 mantiveram a população de cigarrinha-da-raiz em equilíbrio na concentração de 1 kg de arroz esporulado com *M. anisopliae* $1,75 \times 10^5$ conídios/mL somente com 2 aplicações. Almeida *et al.* (2003) verificaram que uma ou duas aplicações nos meses de outubro e novembro na concentração de 5×10^{11} a 1×10^{12} conídios/ha foram mais eficientes no controle da população de *M. fimbriolata* e em produtividade da cana do que as aplicações tardias.

Todavia, os resultados demonstraram as evidências de Batista Filho *et al.* (2002) do isolado ESALQ 1037 no controle das cigarrinha-da-raiz com aplicações em Novembro e Dezembro, e com Almeida *et al.*, (2002), que citaram que a aplicação deste isolado apresentou 85% de redução no controle das cigarrinha-da-raiz (*M. fimbriolata*) em sistema de cultivo orgânico da cana. Do mesmo modo, Almeida *et al.* (2002) afirmaram que o isolado ESALQ 1037, juntamente IBCB 10 são eficientes no controle da população de cigarrinha-da-raiz.

O grupo de melhor efeito sobre o número de cigarrinhas foi composto pelos tratamentos T 03, T 05, T 06, T 10, T 11 e T 12. Contudo, a redução das cigarrinhas foi inferior ao nível de controle somente aos 45

dias após a aplicação do fungo *M. anisopliae*. Estes grupos sugeriram ser definidos pelo número de aplicações e dosagem dos tratamentos.

A redução das cigarrinhas não foi significativa entre a formulação concentrado emulsionável (CE) e pó molhável (PM) referentes aos isolados de *M. anisopliae* utilizados. Estes dados divergiram dos de Kaaya (2000), que afirmaram que as aplicações de *M. anisopliae* a base de óleo foram mais eficazes no controle de ninfas de *D. flavopicta*, *M. fimbriolata* e *A. variegatum* do que nas formulações aquosas em condições de campo. A redução da população das cigarrinhas na Testemunha reforçou a hipótese da dispersão horizontal do fungo conforme relatada por Oliveira & Curi *et al.* (1980) e Alves (1998 a).

Assim, *M. anisopliae* (isolado ESALQ 1037) apresentou-se como alternativa para o manejo de cigarrinhas-das-pastagens em *B. bryantha* cv. Marandu no estado de Rondônia. Ainda, de acordo com Crocomo (1990), cumpre mencionar que por se tratar de um método biológico, vale ressaltar a importância da supressão populacional do inseto-praga de forma econômica e harmoniosa com o meio ambiente. Os resultados também confirmaram Almeida *et al.* (2002), que citaram que a patogenicidade do *M. anisopliae* independe do hospedeiro ou local de origem do isolado; afirmando não haver ligação direta do isolado com o hospedeiro, e local com a virulência do mesmo.

Embora neste estudo a aplicação do bioinseticida tenha sido efetuada no último pico populacional da praga, cumpre mencionar a importância da utilização do agente microbiano nos primeiros picos populacionais da cigarrinhas-das-pastagens, considerando-se o nível de controle recomendado. Entretanto, a aplicação do *M. anisopliae* (isolado ESALQ 1037) embora tenha sido promissor nas condições de Rondônia, foram ainda preliminares. Seria necessário estudar melhor a aplicação dos isolados do *M. anisopliae* para a sua utilização em programas de manejo integrado de cigarrinhas-das-pastagens no estado de Rondônia.

5. CONCLUSÕES

1. O controle biológico das cigarrinhas-das-pastagens é eficiente pelo uso do fungo *Metarhizium anisopliae* (isolado ESALQ 1037) em capim-Marandu (*Brachiaria brizantha*) nas condições do estado de Rondônia;
2. Todas as concentrações (1×10^9 ; $1,5 \times 10^9$ e 2×10^9 conídios viáveis/ha) de *M. anisopliae* (ESALQ 1037) controlam as cigarrinhas-das-pastagens abaixo do nível de controle;
3. A maior dosagem do fungo *M. anisopliae* (dose $2,00 \times 10^9$ conídios viáveis por ha) aplicado, independente da formulação é a mais eficiente no controle da praga;
4. O isolado de *M. anisopliae* (ESALQ 1037), aplicado em uma ou duas vezes é eficiente no controle das cigarrinhas-das-pastagens;
5. A aplicação de *M. anisopliae* (ESALQ 1037), na dosagem de 2×10^9 conídios viáveis/ha⁻¹, formulado em concentrado emulsionável (CE) é o que apresenta maior controle das cigarrinhas-das-pastagens;

6. *M. anisopliae* é uma alternativa viável e ambientalmente correta, para programas de manejo integrado de cigarrinhas-das-pastagens em Rondônia;

6. LITERATURA CITADA

ALMEIDA, P. C de et al. Nível de infestação de cigarrinhas em áreas com a presença de morte do capim *Brachiaria bryzantha* cv. Marandu. In: A PRODUÇÃO ANIMAL E O FOCO NO AGRONEGÓCIO, 2005, Goiânia,. **Anais...** Goiânia, 2005. 42p.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A.S. Avaliação do controle biológico de *Mahanarva fimbriolata* (Hem.; Cercopidae) com o fungo *Metarhizium anisopliae* em variedades de cana-de-açúcar e diferentes épocas de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.1, p.101-103, 2003.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.S. Santos. Controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v. 21, p. 84-89, 2002.

ALMEIDA, J. E. M. et al. **Manejo integrado de pragas e doenças das culturas-pastagens**. São Paulo: Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 2000. 50p. (Manual Técnico, 2).

ALVES, S.B. **Fungos entomopatogênicos em controle microbiano de insetos**. São Paulo: Editora Manoel, 1998 a. 1163p.

ALVES, S.B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998 b. p.21-37.

ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M. Controle biológico das pragas das pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMA DE PASTAGENS, 3., 1997, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1997. p.318-341.

ALVES, S.B.; LECUONA, R.E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998. Cap. 5, p.97-169.

ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 27, p.845-869.

ALVES, S.B. et al. Diversidade genética de isolados de *Metarhizium anisopliae* detectada por RAPDPCR patogenicidade a *Diatraea saccharalis*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas, 2001. p. 175.

ARRUDA, W. Morphological alterations of *Metarhizium anisopliae* structures during the penetration events leading to the infection of the cattle tick *Boophilus microplus*. **Experimental and Applied Acarology**, v.37, p. 231-244, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE FRIGORÍFICOS – ABRAFRIGO. 2008. Disponível em:

http://www.abrafrigo.com.br/index.php?option=com_content&task=view&id=1165&Itemid=26. Acesso em: 15 set. 2010.

BALBO JUNIOR, W.; MOSSIM, G.C.; Ocorrência e tentativa de controle de pragas em cana-de-açúcar na Usina Santo Antônio. In: SEMANA DA CANA-DE-ACUCAR DE PIRACICABA, 4., 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: AFOCAPI, 1999. p. 40-42.

BARBOSA, F. R. Utilização de fungos entomopatogênicos para o controle de cigarrinhas-das-pastagens. In: FERNANDES, O. A.; CORRÊA, A. do C. B.; BORTOLI, S. A. de (Eds.). **Manejo integrado de pragas e nematóides**. Jaboticabal: FUNEP, 1990. v.1, p. 171-182.

BARRETO, C. C. *et al.* Distribution of chitinases in the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and effect of N-acetylglucosamine in protein secretion. **Current Microbiology**, v.48, p.102-107, 2004.

BASSO, L.M. *et al.* Controle de larvas de *Boophilus microplus* por *Metarhizium anisopliae* em pastagens infestadas artificialmente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.6, p.595-600, 2005.

BATEMAN, R.P. *et al.* The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations at low humidities. **Annals of Applied Biology**, v. 122, n. 1, p. 145-152, 1993.

BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A.S. Avaliação do controle biológico de *Mahanarva fimbriolata* (Hem.; Cercopidae) com o fungo *Metarhizium anisopliae* em variedades de cana-de-açúcar e diferentes épocas de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, n.1, p.101-103, 2003.

BATISTA FILHO, A. *et al.* Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata*

(Hom.: Cercopidae). **STAB - Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.21, p. 84-89, 2002.

BERNARDO, E. R. de A. et al. Espécie de cigarrinha-das-pastagens (Hemíptera: Cercopidae) no Meio Norte de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, 2003.

BIDOCHKA, M. J.; ST. LEGER, R. J.; ROBERTS, W. D. Mechanisms of Deuteromicete fungal infections in grasshoppers and locusts: an overview. **Memoirs of the Entomological Society**, Canadá, v.171, p.213-224,1997.

BITTENCOURT, V.R.E.P. et al. Avaliação da ação in vivo de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 aplicado sobre *Brachiaria decumbens* infestada com larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.12, n.1, p.38-42, 2003.

BORGES, V. E. **Estudo de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Mesch.) Sorokin, 1883 para o controle de cigarrinhas-das-pastagens**. 1985. 99 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, Piracicaba.

BRAGA, G.U.L. et al. Effects of UV-B irradiance on conidia and germinants of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*: a study of reciprocity and recovery. **Photochemistry and Photobiology**, Amsterdam, v.72, n.2, p.140-146, 2001.

BUENO, V.H.P. **Controle biológico de pragas: Produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora da UFLA, 2000. 196p.

BULLMAN, G.M.; MUÑOS CABENAS, M.E.; AMBRÚSTOLO, R.R. El impacto ecológico de las lactonas macrocíclicas (endectocidas): una

atualización comprensiva y comparativa. **Veterinária Argentina**, Buenos Aires, v.8, p.3 -15, 1996.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Controle Biológico de pragas e técnicas alternativas. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL., W. (Ed.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 2003. p.97-163.

CARVALHO, G.A.; ZANETTI, R.; MOINO JÚNIOR, A. Manejo integrado de cigarrinhas em pastagens. In: CARVALHO, G.A.; POZZA, E.A. (Coords). **Manejo de pragas e doenças em pastagens**, cap 3. UFLA – Centro de Tecnologia em Informática/UFLATEC, maio/2000.

CASTRO, A.B.A. *et al.* Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 aplicado sobre *Brachiaria decumbens* infestada com larvas não alimentadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari:Ixodidae). **Revista da Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, Seropédica, v.21, n.1-2, p. 95-102, 1999.

CHANDLER, D. et al. Fungal biocontrol of acari. **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 10, n. 4, p. 357-384, 2000.

COSENZA, G. W.; NAVES, M. A. **O Controle da cigarrinha-das-pastagens**. Porto Velho: EMBRAPA/CPAC, 1980. 4p. (Comunicado Técnico 6)

COSENZA, G. W. et al. Resistência de gramíneas forrageiras à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 8, p. 961-968, 1989.

CROCOMO, G.W. **Manejo integrado de pragas**. São Paulo: Unesp, 1990. 385p.

DA SILVA, S.C. Manejo de plantas forrageiras dos gêneros *Brachiaria*, *Cynodon* e *Setaria*. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Ed). **Volumosos para bovinos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1995. p. 29-57.

DINARDO-MIRANDA, L. L. **Cigarrinha-das-raízes em cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2003. 72p.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; GARCIA, V.; PARAZZI, V. Efeito de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) e de nematóides fitoparasitos, na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 609-614, 2002.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) em cana de açúcar. **Neotropical Entomology**, v.33, p.743-749, 2004.

DOMINGUES, J. M.; SANTOS, E. M. S. **Estudo da biologia da cigarrinha das pastagens *Zulia entreriana* (Berg, 1879) e sua curva populacional no norte do Estado do Espírito Santo**. Vitória: EMCAPA, 1975. 46 p. (Boletim Técnico, nº. 2).

DRIVER, F.; MILNER, R. J.; TRUEMAN, J. W. H. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. **Mycological Research**, v. 104, p. 134-150, 2000.

DUARTE, M. de L.R. et al. Etiologia da podridão do coleto de *Brachiaria bryzantha* em pastagem da amazônia. **Fitopatologia Brasileira**, v.32. n.3, p.261-265, 2007.

EI-KADI, M. K. Flutuação populacional de cigarrinha-das-pastagens no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE

ENTOMOLOGIA, 3.; CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 5., 1978, Ilhéus. **Resumos...** São Paulo: CEPLAC/CEPEC, 1978.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisas de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Programa nacional de controle às cigarrinhas-das-pastagens**. Brasília: EMBRAPA, 1977. 17p.

EUCLIDES, V.P.B. **Algumas considerações sobre o manejo de pastagens**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1994. 31p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 57).

FAO. Disponível em: <http://www.apps.fao.org/page/collections/subset/agriculture> Acesso em: 06 abr. 2008.

FARIA, M.R.; SILVA, J.B.T.; SCHMIDT, F.G.V. **Produtos biológicos para combate às cigarrinhas-das-pastagens**. 2003. Disponível em: <http://uba.cenargen.embrapa.br/pública/trabalhos/am2003/arquivos/21060301.pdf>. Acesso em: 20 Abr 2008.

FERNANDES, E.K. et al. Variability in tolerance to UV-B radiation among *Beauveria spp.* isolates. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.96, n.3, p.237- 243, 2007.

FONTES, E.G.; PIRES, C.S.S.; SUJII, E.R. Mixed risk-spreading strategies and the population dynamics of a Brazilian pasture pest, *Deois flavopicta* (Homoptera: cercopidae). **Journal of Economic Entomology**, v.88, n.5, p.1256-1262, 1995.

FRANCESCHINI, M. **Envolvimento da protease PR1A na patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* e na infecção do carrapato *Boophilus microplus*.** 2005. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FRANCISCO, E.A. **Tolerância de bioinseticidas comerciais à base de *Metarhizium anisopliae* à radiação UV-A e UV-B e efeito do tempo de cultivo dos conídios.** 2004. 68p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FRANCO, M. Cigarrinha: a praga que volta com as chuvas. **DBO RURAL**, n.264, p.86-90, 2002.

FRAZZON, A.P.G. et al. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 94, n.1-2, p.117-125, 2000.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola.** FEALQ, Piracicaba, SP. p. 920p. 2002.

GALLO, D. et al. **Manual de Entomologia Agrícola.** São Paulo: Agronômica Ceres, 649p. 1988.

GARCIA, M.V. et al. Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by scanning electron microscopy and histopathology. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.36, n.4, p.368 - 372, 2005.

GIMÉNEZ-PECCI, M. P. et al. Characterization of mycoviruses and analyses of chitinases secretion in the biocontrol fungus *Metarhizium anisopliae*. **Current Microbiology**, v.45, p.334 - 339, 2002.

GOETTEL, M.S.; INGLIS, G.D.; WRAIGHT, S.P. Fungi. In: **Field manual of techniques in invertebrate pathology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000, cap. 4, p.255-282.

GUAGLIUMI, P. Cigarrinha da raiz. In: GUAGLIUMI, P. (Ed.). **Pragas da cana-de-açúcar - Nordeste do BrCsil**. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e Álcool, 1973, p.69-103. (Coleção canavieira,10).

GUAGLIUMI, P. **As cigarrinhas-das-pastagens pragas da cana de açúcar no nordeste do Brasil**. 10. ed. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e Álcool, 1972. 622p. (Coleção Canavieira, 7).

HALLSWORTH, J.E.; MAGAN, N. Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.74, p.261-266, 1999.

HEWITT, G.B. Grazing management as a means of regulating spittlebug (Homoptera: Cercopidae) numbers in Central Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.23, n.7, p.697-707, 1988.

HORNBOSTEL, V.L. et al. Sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) on engorged larval, nymphal and adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 5, p. 922-929, 2004.

HSIAO, Y.M.; KO, J.L. Determination of destruxins, cycle peptide toxins, produced by different strains of *Metarhizium anisopliae* and their mutants

induced by ethil methane sulfonate and ultraviolet using HPLC method. **Toxicon**, v. 39, p.837-841, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produto Interno Bruto dos Municípios 2007**. Disponível em: www.ibge.org.br. Acesso em: 13 jul. 2010.

JONSSON, C.M.; MAIA, A.H. **Protocolo de avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas, III: Testes em organismos não-alvo do ambiente aquático: organismos zooplanctônicos, organismos fitoplanctônicos e vertebrados**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 33p. (Documentos 11).

JOSHI, L.; ST. LERGER, R.J.; ROBERTS, D.W. Isolation of a cDNA encoding a novel subtilisin-like protease (Pr1B) from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* using differential display – RT – PCR. **Gene**, v.197, p.1-8, 1997.

KAAYA, G.P. Laboratory and field evaluation of entomogenous fungi for tick control. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, p. 559-564, 2000.

KANG, S.C.; PARK, S.; LU, D.G. Purification and characterization of a novel chitinase from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.73, p.266-281, 1999.

KOLLER, W.W.; VALÉRIO, J.R. Preferência de cigarrinhas-das-pastagens por plantas de *Brachiaria decumbens* Stapf cv. Basilisk com diferentes características morfológicas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 16 , p. 131-143, 1987.

KÖPPEN, W. **Climatologia**. México, DF: Fondo de Cultura Económica, 1948.

LANDELL, M.G.A.; VASCONCELOS, A.C. **Grupo Fitotécnico de Cana-de-açúcar**: Atas das reuniões 1992/2003. Ribeirão Preto: Grupo Fitotécnico, 2004. 400p.

LEITÃO-LIMA, P.S. et al. Monitoramento de cigarrinhas-das-pastagens em pequenas propriedades no município de Parauapebas-PA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 17., CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA, 2007, Londrina. **Resumos expandidos...** Londrina: IAPAR, 2007.

LEITE, J.G. et al. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2003. 92p.

LIU, H.; SKINNER, M.; PARKER, B. L.; BROWNBRIDGE, M. Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), and other entomopathogenic fungi against *Lygus Lineolaris* (Hemiptera: Miridae). **Journal of Economic Entomology**, v.95, p. 675-681, 2002.

LOPES, R.B. et al. Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 27-31, 2007.

LOUREIRO, E.S.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o controle da cigarrinha da raiz da cana, *Mahanarva fimbriolata*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro. **Resumos...** São Pedro, 2003. p.85.

MACEDO, N.; MACEDO, D. As pragas de maior incidência nos canaviais e seus controles. **Visão Agrícola**, v. 1, p.38-46, 2004.

MACEDO, N.; CAMPOS, M.B.S.; ARAUJO, J.R. Insetos nas raízes e colo da planta, perfilamento e produtividade em canaviais colhidos com e sem queima. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.15, n. 3, p.18-21, 1997.

MACEDO, N. *et al.* *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorokin no controle da cigarrinha-da-raiz (*Mahanarva fimbriolata* Stal) na cultura da cana-de-açúcar. **Brasil Açucareiro**, v.2, p.16 -19, 1977.

MACHADO, L.A.; ALVES, S.B. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Hom.: Cercopidae). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas, 2001. p. 223.

MARANGA, R.O. *et al.* Effects of combining the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the mortality of the tick *Amblyomma variegatum* (Ixodidae) in relation to seasonal changes. **Mycopathologia**, Amsterdam, v.159, n.4, p.527-532, 2005.

MATIOLI, J.C. **Algumas observações sobre cigarrinhas-das-pastagens no Estado do Espírito Santo**. Vitória: EMCAPA, 1976. 12p. v.1, 209p. (Circular Técnica, 1).

MELLO, D.R.; REIS, R.C.S.; BITTENCOURT, V.R.E.P. Patogenicidade *in vitro* do fungo *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF, 1879) Sorokin, 1883, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.15, n.4, p.157-162, 2006.

MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA–CNPMA, 1998. 264 p.

MELO, L. A. da S. **Estudo populacional das cigarrinhas-das-pastagens (Homoptera: Cercopidae) sobre *Brachiaria decumbens* Staff, na Região de Campo Belo, MG**. 1982. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Piracicaba, 1982.

MENDONÇA, A. F. Cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) In: **Cigarrinhas da cana-de-açúcar: controle biológico**. Maceió: Insecta, 2005. 317p.

MENDONÇA, A.F. **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Insetos & Cia, 1996. 239p.

MENEZES, M. de. et al. **Bases para o controle integrado das cigarrinhas-das-pastagens na região Sudeste da Bahia**. Ilhéus: CEPLAC-CEPEC, 1983. 33p.

MILANEZ, J.M. **Dinâmica populacional de *Zulia (Notozulia) entreriana* (Berg., 1879) e *Deois (Acanthodeois) flavopicta* (Stal, 1854) (Homoptera: Cercopidae) em diferentes gramíneas**. 1980. 79p. 79p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MILANEZ, J. M.; PARRA, J. R. P.; MENEZES, M. Influência de alguns elementos climáticos nas flutuações populacionais de *Zulia entreriana* (Berg. 1879) e *Deois flavopicta* (Stal, 1854) nas regiões de Nova Odessa e Piracicaba, Estado de São Paulo. **Revista Theobroma**, v.11, n. 4, p.219-228, 1981.

MILNER, R.J. Application of biological control agents in mound building termites (Isoptera: Termitidae): Experiences with *Metarhizium anisopliae*. **Sociobiology**, v. 41, p.419-428, 2003.

MILNER, R. J. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. **Biocontrol**, v.21, p.47-50, 2000.

MOINO JUNIOR, A. **Utilização de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de pragas de grãos armazenados.** 1993. 100p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" – Universidade de São Paulo Piracicaba.

MORAES, S.V. P. et al. Ocorrência da cigarrinha-das-pastagens *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) em gramíneas forrageiras e sua distribuição em áreas de cerrado e na Amazônia Legal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006.

NEVES, P.M.J. **Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera, Termitidae).** 1998. 113p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

NICHOLSON, W.L. et al. Resistance of *Bacillus endospores* to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, n.3, p.548- 572, 2000.

NILAKHE, S. S. **Amostragem de ninfas de cigarrinhas em pastagens de *Brachiaria decumbens* Stapf.** Campo Grande, EMBRAPA, CNPQC, 1982. 67p. (Boletim de Pesquisa, 2).

NILAKHE, S. S. **Sugestões para uma tática de manejo das pastagens para reduzir as perdas por cigarrinhas.** EMBRAPA/CNPGC. Campo Grande, 1983. 11p. (Circular Técnica, 16).

NILAKHE, S.S.; BUAINAIN, C.M. Observations on movement of spittlebug adults. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.123- 134, 1988.

NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M. I.O. ***Brachiria bryzantha* cv. Marandu.** 2. ed. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1985. 31p. (EMBRAPA, CNPGC. Documentos, 21).

OLIVEIRA, M. A. S.; ALVES, P. M. P. **Novas opções de gramíneas no controle da cigarrinha-das-pastagens em Rondônia.** Porto Velho: EMBRAPA-UEPAE Porto Velho, 1988. 18p. (Boletim de Pesquisa, 9).

OLIVEIRA, M. A. S.; CURI, W. J. Flutuação populacional da cigarrinha-das-pastagens e teste de patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinha. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., 1980, Campinas. **Resumos...** Campinas: Sociedade Entomológica do Brasil, 1980. p.133.

PAIÃO, J.C.V.; MONTEIRO, A.C.; KRONKA, S.N. Susceptibility of the cattle tick of the *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) to isolates of the fungus *Beauveria bassiana*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.27, n.2, p.245-251, 2001.

PEREIRA, J.C.R. **Pragas e doenças em pastagens e forrageiras – Curso de pecuária leiteira.** Coronel Pacheco: EMBRAPA – CNPGL, 1990. 38 p. (EMBRAPA - CNPGL. Documentos, 45).

PEREIRA, J.C.R.; NAZAR, R.A.; ARMOUND, W.B. Interrelacionamento de macro e micronutrientes com diferentes densidades de cigarrinhas-das-pastagens. Belo Horizonte: Divisão de Defesa Sanitária Vegetal, 1982. 15p.

PEREIRA, J.R.; PEREIRA, J.C.R. **Cigarrinha das pastagens**: importância e métodos de controle para a Zona da Mata de Minas Gerais. Coronel Pacheco: EMBRAPA–CNPGL, 1985. 23p. (Circular Técnica, 25).

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 (*Brachiaria decumbens*). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.4, p.465-469, 2008.

PRIOR, C.; JOLLANDS, P. Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina:Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 52, n. 1, p. 66-72, 1988.

REIS, R.C.S. et al. Efeito dos fungos *Beauveria bassiana* (Balsamo) e *Metarhizium anisopliae* Sorokin, 1883 na ecdise ninfal de *Amblyomma cooperi* (Nuttal; Warbuton, 1908) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 68-70, 2003.

REIS, P. R.; BOTELHO, W.; MENDES, W. B. A. **Recomendações para o controle das cigarrinhas-das-pastagens**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1983. 15p. (Boletim Técnico).

REIS, P. R. et al. Influência populacional das cigarrinhas das pastagens (Homoptera: Cercopidae) no Estado de Minas Gerais; identificação das espécies e área de distribuição. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE ENTOMOLOGIA, 3.; CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 5., 1978, Ilhéus. **Resumos...** Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1978. n.p.

ROBERTS, D.W.; GUPTA, S.; ST. LERGER, R.J. Metabolite production by entomopathogenic fungi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, p. 325-347, 1992.

SÁ, L.A.N. **Cigarrinhas-das-pastagens (Homoptera: Cercopidae): distribuição geográfica e variabilidade genética**. 1981. 119p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SHARAPOV, V.M.; KALVISH, T.K. Effect of soil fungistasis on zoopathogenic fungi. **Mycopathology**, v. 85, n.1-2, p.121-128, 1984.

SILVEIRA NETO, S. Controle de insetos e outras pragas das pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE O MANEJO DE PASTAGENS, 11., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p.73-97.

SILVEIRA NETO, S.; MARCHINI, L.C.; ALVES, S.B. Pragas das pastagens. In: CURSO DE ENTOMOLOGIA APLICADA A AGRICULTURA, 1992, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba: Fealq, 1992. p.335-353.

SOUZA, J. C. et al. **Cigarrinhas-das-pastagens: histórico, bioecologia, prejuízos, monitoramento e medidas de controle**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2008. (Circular Técnica).

ST. LERGER, R. J.; JOSHI, L.; ROBERTS, D. W. Ambient pH is a major determinant in the expression of cuticle-degrading enzymes and hydrophobin by *Metarhizium anisopliae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 709-713, 1998.

ST. LERGER, R. J. et al. Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.93, p. 6349-6354, 1996.

ST. LEGER, R.J. et al. Prepenetration events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v.58, p.168-179, 1991.

SUJII, E. R.; PIRES, C.S.S.; FONTES, E. M.G.; GARCIA, M. A. Effect of host plant on the fecundity of spittlebug *Deois flavopicta* Stal (Homoptera: cercopidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.4, p.547-552, 2002.

TAMAI, M.A. **Controle de *Tetranychus urticae* Koch fungos entomopatogênicos**. 2002. 120p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.

TEIXEIRA, C.A. **Dinâmica populacional da cigarrinhas-das-pastagens (*Deois incompleta*) em *Brachiaria bryzantha* e *Brachiaria humidicola* em Porto Velho – RO**. Porto Velho: CPAF Rondônia, 1996. 2p. (Documentos, 136).

TEIXEIRA, C.A.D.; TOWNSEND, C.R. Danos da cigarrinha da cana-de-açúcar (*Mahanarva fimbriolata* – Homoptera: Cercopidae) ao milho, arroz e capim Tanzânia em Ariquemes – RO. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador, BA. **Anais...** Salvador: Sociedade Entomológica do Brasil/ EMBRAPA-CNPMPF, 1997. 400p.

TÔNUS, M. Manejo integrado controla cigarrinhas em pastagens. **Balde Branco**, n.421, p.38-45, 1999.

TOWNSEND, C.R.; TEIXEIRA, C.A.D. **As novas cigarrinhas nas pastagens de Rondônia**. Apostila. Porto Velho: EMBRAPA, CPAF-RO, 2004. 12p.

TOWNSEND, C.R. et al. **Cigarrinha das pastagens em RO: diagnóstico e medidas de controle.** Porto Velho: EMBRAPA, 2001. 29p. (Documento, 53).

TOWNSEND, C.R. et al. **Cigarrinha-das-pastagens (Homoptera: Cercopidae): praga que volta atacar em Rondônia.** Porto Velho: EMBRAPA-CPAF, 1999. 6p. (Comunicado Técnico, 168).

TULLOCH, M. The genus *Metarhizium*. **Transactions of the British Mycological Society**, v.66, p.407-411, 1976.

VALÉRIO, J.R. Pragas em pastagens: identificação e controle. In: PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C. de; DA SILVA, S.C; FARIA, V.P. de (Ed.). **Teoria e prática da produção animal em pastagens.** Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 353-386.

VALÉRIO, J.R. et al. **Diagnóstico de morte de pastagens nas regiões central e norte do Estado de Mato Grosso.** Campo Grande: EMBRAPA - CNPGC, 2000. 10p.

VALÉRIO, J. R.; KOLLER, W. W. **Proposição para o manejo integrado das cigarrinhas-das-pastagens.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1992. 37p. (Documentos, 52).

VALÉRIO, J.R.; NAKANO, O. Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.23, n.5, p.447-453, 1988.

VALÉRIO, J. R.; OLIVEIRA, A. R. **Cigarrinha das pastagens: espécies e níveis populacionais no Estado de Mato Grosso do Sul e sugestões para o seu controle.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC/EMPAER, 1984. 20p. (EMBRAPA-CNPGC. Circular Técnica, 9).

VALÉRIO, J.R.; KOLLER, W.W. **Cigarrinhas das pastagens: inimigos naturais encontrados na região de Campo Grande, MS.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1982. 3p. (EMBRAPA-CNPGC - Comunicado Técnico, 8).

VENTURA, J.A.; MATIOLI, J.C. Ocorrência de epizootias naturais causadas por *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. em populações de *Zulia entreriana* (Berg., 1879) e *Deois* sp. no Estado do Espírito Santo. **Ecossistema**, v.5, n.1, p.92-95. 1980

VILLACORTA, A. Susceptibilidade de ninfas de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) (Homoptera: Cercopidae) a diferentes isolamentos de *Metarhizium anisopliae* (Metsh.) Sorokin. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.9, n.1, p.33-38, 1980.

WANG, C.; TYPAS, M. A.; BUTT, T. M. Detection and characterization of pr1 virulent gene deficiencies in the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 213, p. 251-255, 2002.

ZHIOUA, E. et al. Pathogenity of the entomopathogenicfungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) to *Ixodes scapularis* (Acaris:Ixodidae). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 83, n.5, p. 815-818, 1997.

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potencial as a biocontrol agent. **Pesticide Science**, v.37, p. 375-379, 1993.