

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DE CAMPO DE ISOLADOS DE *Metarhizium
anisopliae* (Metsch.) Sorok. PARA O CONTROLE DA CIGARRINHA-DA-
RAIZ DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854)
(HEMIPTERA: CERCOPIDAE)**

ELISÂNGELA DE SOUZA LOUREIRO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia - Área de Concentração em
Proteção de Plantas

BOTUCATU - SP

Abril – 2004

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DE CAMPO DE ISOLADOS DE *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. PARA O CONTROLE DA CIGARRINHA-DA-RAIZ DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (HEMIPTERA: CERCOPIDAE)

ELISÂNGELA DE SOUZA LOUREIRO

Orientador: Dr. Antonio Batista Filho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração em Proteção de Plantas

BOTUCATU - SP

Abril - 2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

L892s Loureiro, Elisângela de Souza, 1972-
Seleção e avaliação de campo de isolados de *Metarhizium anisopliae*(Metsch.) Sorok. para o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*(Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) / Elisângela de Souza Loureiro. -- Botucatu, [s.n.], 2004.
v, 91 f. : graf., tabs.

Tese (doutorado) -- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas.

Orientador: Antonio Batista Filho.

Inclui bibliografia.

1. Cana-de-açúcar - Doenças e pragas - Controle biológico. 2. Pragas agrícolas - Controle biológico.
3. Cigarrinha (Inseto). I. Batista Filho, Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "SELEÇÃO E AVALIAÇÃO DE CAMPO DE ISOLADOS DE Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorok. PARA O CONTROLE DA CIGARRINHA-DA-RAIZ DA CANA-DE-AÇÚCAR, Mahanarva fimbriolata (Stal, 1854) (HEMIPTERA: CERCOPIDAE)"

ALUNA: ELISANGELA DE SOUZA LOUREIRO

ORIENTADOR: DR. ANTONIO BATISTA FILHO

Aprovado pela Comissão Examinadora:



DR. ANTONIO BATISTA FILHO



PROF. DR. CARLOS FREDERICO WILCKEN

PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO



DR. JOSÉ EDUARDO MARCONDES ALMEIDA



DR. LUIS GARRIGOS LEITE

Data da Realização: 27 de fevereiro de 2004.

Aos meus Pais,
Flávio e Mercedes (*in memoriam*),
pelo amor, apoio, dedicação,
carinho e compreensão
durante todos os momentos
da minha vida.

DEDICO

Aos meus irmãos
Adrieli e Marcelo e
ao meu cunhado Rodrigo por todo o carinho, compreensão e amizade,
presentes em todos os momentos da vida.

Ao meu noivo Gustavo que nesses anos de convivência
me incentivou, foi compreensivo e companheiro.

OFEREÇO

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Pesquisador Dr. Antonio Batista Filho,
pela oportunidade de realizar este trabalho,
e pelo incentivo à participação de atividades que,
com certeza, contribuirão para o enriquecimento da
minha vida profissional.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por todos os momentos, pela capacidade, perseverança e força a mim concedidos para a realização do curso.

Ao Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida, Pesquisador Científico do Instituto Biológico, pela valiosa colaboração na realização desse trabalho, e pela amizade nestes anos de convivência.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em especial ao Departamento de Defesa Fitossanitária/Produção Vegetal, pela oportunidade concedida para a realização desse curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da Bolsa de Estudo.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pelo suporte financeiro desta pesquisa.

Ao Dr. Luis Garrigós Leite Pesquisador Científico do Instituto Biológico, pela amizade, sugestões e auxílio na correção da tese.

Aos Pesquisadores Científicos do Instituto Biológico, Valmir Antonio Costa e Laerte Machado, pelo apoio recebido.

Aos eternos professores e ex-orientadores Antonio Carlos Monteiro e Alcides Moino Júnior, responsáveis pela minha dedicação à pesquisa e pela grande amizade.

Ao Prof Dr. Carlos Frederico Wilcken pelo apoio e sugestões feitas ao trabalho de tese.

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico pela amizade e convívio durante o período de realização deste trabalho.

Ao técnico agrícola José Miguel Mendes, da Usina Cerradinho Açúcar e Álcool S/A, pelo auxílio na condução dos trabalhos de campo.

À Usina Cerradinho Açúcar e Álcool S/A pela cessão de área comercial para a instalação dos experimentos e ao Eng^o Agr^o Luis Antonio Paiva e funcionários da Usina pelo apoio na condução dos experimentos.

A Inês, avó, tios e família Amorim Pessoa pelo carinho, confiança e compreensão em mim depositados.

Aos colegas Mariana, Nádia, Yelitza, Roberto, Gláucia e Adilson e aos demais alunos e professores do Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária pelo convívio e amizade durante o curso.

SUMÁRIO

RESUMO	1
SUMMARY	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1 A cana-de-açúcar no Brasil	8
2.2 Colheita mecanizada da cana-de-açúcar	10
2.3 Biologia da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, <i>Mahanarva</i> <i>fimbriolata</i>	12
2.4 Danos econômicos causados por <i>Mahanarva fimbriolata</i>	14
2.5 Métodos de controle de <i>Mahanarva</i> spp	17
2.5.1 Controle Químico	17
2.5.2 Controle biológico com parasitóides e predadores	18
2.5.3 Controle biológico com fungos entomopatogênicos	20
2.6 Seleção e produção de isolados de fungos entomopatogênicos	25
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Isolados de fungos entomopatogênicos	29
3.2. Estabelecimento da concentração	33
3.3 Seleção dos isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i>	35
3.4 Produção em arroz pré-cozido	35
3.5 Avaliação da eficiência dos isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> , em condições de campo	37

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 Estabelecimento da concentração	40
4.2 Seleção de isolados	42
4.3 Produção em meio de arroz pré-cozido	52
4.4. Avaliação, em condições de campo, da eficiência dos isolados de	54
<i>Metarhizium anisopliae</i>	49
4.1.1 Produtividade agrícola e parâmetros tecnológicos da cana-de-	
açúcar	70
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
6. CONCLUSÕES	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

RESUMO

Com o objetivo de determinar a patogenicidade de diferentes isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre ninfas de *Mahanarva fimbriolata* foi testada, em laboratório, a patogenicidade de 79 isolados, provenientes de diferentes hospedeiros e regiões do país. Inicialmente, foi realizado um bioensaio para estabelecimento da concentração a ser utilizada nos experimentos de seleção, adotando-se, como padrão, o isolado IBCB 348 de *M. anisopliae*. Através da Análise de Probit, foi calculada a CL_{50} obtendo uma concentração de $1,2 \times 10^8$ conídios/mL, decorridos 4 dias da pulverização. As avaliações foram realizadas diariamente, observando-se os níveis de mortalidade acumulada (total, confirmada e corrigida) de cada tratamento. Os melhores isolados testados foram IBCB 348; IBCB 351; IBCB 363; IBCB 408; IBCB 410; IBCB 418; IBCB 425 e IBCB 482, os quais apresentaram uma eficiência igual ou superior a 70% de mortalidade confirmada, aos seis dias da pulverização. Os isolados IBCB 348; IBCB 408; IBCB 410 e IBCB 425 foram os que mais produziram conídios em arroz com $2,08 \times 10^8$, $1,75 \times 10^8$, $2,22 \times 10^8$ e $2,30 \times 10^8$ conídios/g de arroz pré-cozido, respectivamente, pelo método de bandeja. Foi pulverizado 2kg/ha de arroz+fungo, contendo $1,5 \times 10^{12}$ conídios/ha, destacando-se os isolados IBCB 348 e IBCB 408 que causaram mortalidade, para ninfas de 100%, respectivamente, aos 15 dias da pulverização. Decorridos 30 dias da pulverização, os isolados IBCB 408 e IBCB 425 apresentaram eficiência de controle de 63 e 62%, respectivamente, para as ninfas e para os adultos foi de 100%, respectivamente. Aos 60 dias da aplicação, o isolado IBCB 425 foi o mais eficiente

para controlar as ninfas (48,4%) e para os adultos de *M. fimbriolata*, os isolados não foram eficientes. Nas avaliações realizadas aos 90 e 120 dias, a população de cigarrinha manteve-se acima do nível de dano econômico. A eficiência dos isolados foi nula para os adultos e para as ninfas o isolado IBCB 408 apresentou eficiência de 30,6%, decorridos 90 dias da aplicação. Aos 120 dias da aplicação a eficiência dos isolados foi nula para as ninfas e para os adultos a eficiência máxima (63%) foi obtida pelo isolado IBCB 408. Já aos 150 dias, a população de cigarrinha apresentou queda geral, devido ao início do período de seca e frio, não havendo diferença entre os tratamentos e para todos os isolados o número de ninfas/metro linear ficou abaixo de 3 ninfas/metro linear. O isolado IBCB 425 promoveu um parasitismo de 58%, aos 150 dias da aplicação. O controle foi satisfatório, sem interferir na produtividade agrícola (TCH) e na quantidade de açúcar por hectare (TAH) e nos parâmetros tecnológicos pureza, fibra e pH.

Palavras-chave: Insecta, fungos entomopatogênicos, controle biológico, controle microbiano, *Saccharum* spp.

SELECTION AND FIELD EVALUATION OF *METARHIZIUM ANISOPLIAE* (METSCH.) SOROK. ISOLATES FOR THE CONTROL OF THE SUGARCANE ROOT SPEATLEBUG, *Mahanarva fimbriolata* (HEMIPTERA: CERCOPIDAE) (Stal, 1854) CONTROL. 2004. 91p. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ELISÂNGELA DE SOUZA LOUREIRO

Adviser: ANTONIO BATISTA FILHO

SUMMARY

This work was carried out evaluate the pathogenicity of different isolates of the fungus *Metarhizium anisopliae* against nymphs of *Mahanarva fimbriolata*. The pathogenicity of 79 isolates, provenients from differents hosts and regions of the country, were tested in the laboratory. First, it was performed a bioassay to determine the concentration to be used in the selection experiments, the IBCB 348 isolate of *M. anisopliae* was used as standard. Evaluations were done daily, observing the levels of mortality (total, confirmed and corrected) of each treatment. The best isolates were IBCB 348; IBCB 351; IBCB 363; IBCB 408; IBCB 410; IBCB 418; IBCB 425 and IBCB 482, which showed an efficiency equal or higher than 70% six days after the pulverization. The isolates IBCB 348; IBCB 408; IBCB 410 and IBCB 425 produced the largest number of conidia with $2,08 \times 10^8$; $1,75 \times 10^8$; $2,22 \times 10^8$ and $2,30 \times 10^8$ conidia/g of rice, respectively by the tray method. Was pulverized 2kg/ha de rice+fungus, with $1,5 \times 10^{12}$ conidia/ha, showing off the isolates IBCB 348 and IBCB 408 that caused a mortality for nymphs of 100%, respectively, 15 days after the pulverization. After 30 days of the pulverization, the isolates IBCB 408 and IBCB 425 showed control efficiency of 63 and 62%, respectively, for the nymphs and for adults the efficiency was 100%, respectively. Sixty day after the application, the isolate IBCB 425 were the most efficient for control nymphs (48%) and for adults of *M. fimbriolata* the isolates weren't efficient. In the evaluation realized at 90 and 120 days, the speatlebug population was kept above the economic threshold level. The efficiency of the isolates was null for adults and for nymphs, the isolate IBCB 408 showed efficiency of 31%, after ninety days of the pulverization. At 120 days, the efficiency

of the isolates was null for nymphs and for adults the maxim efficiency (63%) was obtain for isolate 408. At 150 days, the speatlebug population dropped fall in general, because the period of dry and cold begun, there wasn't difference among the treatments and for all isolates the number of nymphs/linear meter was less than 3 nymphs/linear meter. The isolate IBCB 425 promoted a parasitism of 58%, at the 150 days after the application. The control was satisfactory, without interfere in the agricultural productivity, quantity of sugar/ha and the technologic parameter as pure, fiber and pH.

Key words: Insecta, enthomopathogenic fungus, biological control, microbial control, *Saccharum* spp.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) é uma gramínea, semiperene, pertencente à família Poacea e é originária da Ásia. Atualmente, a cana-de-açúcar destaca-se entre as quatro maiores culturas do país em relação à área plantada, divisas geradas e emprego de mão-de-obra (cerca de 1 milhão de empregos diretos), com elevada importância na economia brasileira. O Brasil é o maior produtor mundial, com os menores custos de produção, e também o maior exportador do produto dominando 18% do mercado internacional. A área de plantio na safra 2002/2003 foi de 5,3 milhões de hectares, com uma área colhida de 5.600.000 hectares e produção de 389,8 milhões de toneladas (UNICA, 2004).

O Estado de São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar responsável por 60% da produção nacional, colhendo 223,3 milhões de toneladas na safra 2002/2003 (IEA, 2004), com uma produção de 8,80 bilhões de litros de álcool (52,06%) e 15,17 milhões de toneladas de açúcar (47,94%) (UNICA, 2004).

O uso do fogo como prática de colheita, na lavoura canavieira, é um assunto que vem sendo discutido há anos pelos países produtores. Os diversos problemas causados para o meio ambiente repercutiram nas regiões produtoras do Estado de São Paulo, onde se proliferaram ações judiciais, baseadas na Constituição Federal de 1988, que proíbe o uso do fogo como prática agrícola (SZMRECSÁNYI, 1994). Desse modo, o Decreto-lei Estadual nº 42.056/96, que dispõe sobre a proibição da despalha da cana-de-açúcar para a

indústria por queima, vem de encontro com os anseios tecnológicos para o aumento sustentável da produtividade da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo.

A adoção do corte mecanizado, em substituição a queima, ocasiona o acúmulo da palhada depositada no solo, influenciando diretamente no aumento de certas pragas tais como as cigarrinhas (ALMEIDA et al., 2001; DINARDO-MIRANDA et al., 2001a).

Dentre os fatores que afetam o crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura da cana-de-açúcar, os insetos-praga têm papel de destaque. Tanto na região Nordeste, quanto na Sudeste do Brasil, as cigarrinhas representam um dos principais problemas fitossanitários da cultura. No Estado de São Paulo, a espécie *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), conhecida por cigarrinha-da-raiz, provoca sérios problemas devido a sua ocorrência generalizada e altos níveis populacionais. Seu principal dano é a "queima da cana-de-açúcar" consequência da alimentação do adulto. Na cana-de-açúcar em crescimento as toxinas, injetadas na alimentação, causam redução no tamanho e grossura dos entrenós, que ficam curtos e fibrosos (Guagliumi 1973).

Considerando que a legislação ambiental de São Paulo, no futuro, proibirá a queimada em toda a área do Estado, espera-se um aumento significativo na população de *M. fimbriolata*. Entre as ferramentas para minimizar o problema e que se enquadre num programa de manejo sustentável da cultura está o controle biológico, principalmente utilizando-se o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.

Nos estados do Nordeste, *M. anisopliae* vem sendo utilizado com grande sucesso no controle da cigarrinha *Mahanarva posticata* (Stal, 1855) (Hemiptera: Cercopidae) na cultura da cana-de-açúcar correspondendo a um dos mais bem sucedidos programas de controle biológico na América Latina (Alves, 1998). O programa teve início em 1969, e a partir de 1975 o fungo passou a ser produzido em laboratórios das usinas de açúcar em Pernambuco (Marques et al., 1981). Uma das etapas mais importantes deste programa foi à utilização de um isolado de *M. anisopliae* altamente patogênico à praga, selecionado em bioensaios a partir de um grande número de outros isolados coletados na região (Alves, 1998).

As diferentes condições climáticas do Estado de São Paulo, quando comparada aos estados produtores do Nordeste, e também a diferença de espécie predominante de cigarrinha, exigem estudos para avaliar e viabilizar um programa de controle

microbiano por meio de *M. anisopliae*. Uma das etapas fundamentais para o estabelecimento de tal programa é a seleção de isolados do entomopatógeno.

Este trabalho teve os seguintes objetivos:

- 1) Selecionar isolados virulentos do fungo *M. anisopliae*, em condições de laboratório, visando o controle de *M. fimbriolata*;
- 2) Avaliar, em condições de laboratório, o crescimento, produção e a viabilidade de conídios dos isolados selecionados do fungo com vistas a sua produção massal;
- 3) Testar a eficiência dos isolados selecionados de *M. anisopliae* em populações naturais de *M. fimbriolata*, em cultivos de cana-de-açúcar colhida mecanicamente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cana-de-açúcar no Brasil

Segundo Barreto (1999), a cana-de-açúcar é originária da Ásia (região de Bengala, na Índia). A maioria dos historiadores, porém, aceita a tese de surgimento da cultura entre 10 e 12 mil anos, e data em 3.000 a.C. o caminho percorrido pela cana-de-açúcar da Península Malaia e Indochina à Baía de Bengala. Na era cristã chegou à China e foi introduzida posteriormente em diversos países, tais como, Java, Tibet, Ceilão, Egito, Síria, Marrocos, Espanha, Itália, México, Cuba e Brasil.

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial do produto, com os menores custos de produção, seguido dos países Índia, Austrália e Tailândia (ambos com seis milhões de toneladas), México, Cuba e África do Sul. A cana-de-açúcar é cultivada em todos os estados brasileiros, sendo São Paulo o maior produtor nacional com aproximadamente 60% da área plantada. Na região Nordeste destacam-se Pernambuco e Alagoas com 20% e 17% da área cultivada, respectivamente. Os Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, juntos têm 15% da área plantada (SEAGRI, 2003).

A cultura da cana-de-açúcar tem sido explorada no Brasil após o fim do ciclo do pau-brasil *Cesalpinia echinata*. No ano de 1532, Martin Afonso de Souza, introduziu a cana-de-açúcar em atualmente, cidade de São Vicente, Litoral de São Paulo e praticamente na mesma época funda um engenho de açúcar em Pernambuco. Na quarta década

do século XVI a cana-de-açúcar chegou à planície do Rio Paraíba do Sul. No ano de 1535 instala-se o primeiro grande engenho do Brasil-Colônia em Pernambuco, sendo que em meados de 1546 é remetida à primeira remessa de açúcar ao Rei de Portugal. Transformou-se no principal produto agrícola brasileiro durante 150 anos, período denominado ciclo da cana-de-açúcar. Somente por volta de 1720 a gramínea chegou aos Campos dos Goytacazes (que abrangiam as terras do Espírito Santo e Rio de Janeiro), onde se mantém até os tempos atuais (PEREIRA, 1972, VARGAS, 1972).

Segundo Pereira (1972), durante a colonização do Brasil a cana-de-açúcar era colhida até a terceira soca, quando o canavial era adubado com esterco e permanecia durante um ano em pousio. O termo rotação de cultura era usado na época para designar apenas a variação no período de plantio ou da colheita. Somente a partir do início do século XX é que começaram as preocupações com o manejo dos canaviais. Um decreto presidencial de 1910 criou a Estação Experimental de Campos, que passou a produzir resultados efetivos a partir da metade dessa década. A partir dos trabalhos de melhoramento de plantas e manejo de solos chegou-se, no início da década de 70, a 1.800 kg/ha de rendimento de açúcar. Com o incentivo à pesquisa e financiamento da produção, a produtividade média no Estado de São Paulo na safra 2002/2003 foi ao redor de 80 a 85 toneladas/hectare, em ciclo de cinco a seis cortes (UNICA, 2004).

A importância econômica da cana-de-açúcar é grande, visto que ela produz diversos alimentos para o homem e para animais e da produção de álcool combustível para a indústria automobilística, sendo o único país do mundo que utiliza em larga escala um combustível de biomassa (álcool) para substituir derivados de petróleo, que é fóssil. Esse modelo contém variáveis importantes do desenvolvimento sustentado: segurança energética, economia de divisas, geração de emprego e renda de forma descentralizada e respeito ao meio ambiente, com rígido controle da poluição e planejamento da utilização dos recursos naturais (UNICA, 2004).

A cultura da cana-de-açúcar sempre esteve em evidência na pesquisa agropecuária do país, confirmada, atualmente, pelo projeto genoma da planta. Na década de 1970, a criação do IAA/PLANALSUCAR possibilitou o desenvolvimento de uma política técnico-científica que permitiu um melhor rendimento agrícola, visando suprir a demanda gerada pelo aumento da produção de álcool, estimulada pela alta do petróleo no mercado

internacional verificada naqueles anos. Essa política de estímulo à produção e os subsídios ao setor promoveram a expansão da área cultivada (PEIXOTO, 1986).

A diversidade de clima determina períodos de plantio e colheita distintos para as diversas regiões. Em São Paulo, de modo geral, planta-se de outubro a março e colhe-se de maio a outubro; enquanto no nordeste o plantio se faz de julho a novembro e a colheita de dezembro a maio. A cana-de-açúcar exige calor e umidade, sem essas condições não ocorrerá maturação boa. A faixa ótima de temperatura é de 30 a 34 °C. Abaixo de 20 °C e acima de 35 °C o crescimento é muito lento, com crescimento nulo acima de 38 °C.

2.2 Colheita mecanizada da cana-de-açúcar

O conceito de "área mecanizável" pode ser encontrado em diversos trabalhos como Ripolli & Villa Nova (1992) e Sparovek et al. (1997), e segue basicamente uma limitação topográfica. Segundo o conceito, terrenos com declividade superior a 12% não são passíveis de mecanização, em razão do aumento do percentual de perdas em matéria prima, e do risco de capotamento da máquina colhedora. Assim, passou a ser regulamentado o uso do fogo para todas as áreas com cana-de-açúcar no Estado, considerando inclusive a pequena propriedade: "as áreas de colheita mecanizável, pertencentes a fornecedores e por eles colhidas, sem qualquer auxílio ou interferência de serviços prestados por quaisquer agroindústrias ou empresas a elas coligadas, ocupando área inferior a 125 ha, terão, para os efeitos deste regulamento, o mesmo tratamento que as áreas de colheita não mecanizável".

De acordo com VEIGA FILHO (1998), a plena mecanização do processo produtivo da cana-de-açúcar, representará um grande avanço tecnológico essencial para a redução de custos. Porém, no processo de difusão existem algumas dificuldades, decorrentes da complexidade dos fatores envolvidos, que vão da necessidade de adoção de nova sistemática de planejamento da lavoura, adequando-a ao corte mecanizado, a restrição de solos aptos e a estratégia determinada pelas empresas produtoras das máquinas. Muitos autores também afirmam que o rendimento das colhedoras mecânicas sob o sistema de cana-de-açúcar colhida sem queima é de 20 a 30% inferior ao sistema tradicional, devido à presença da palha que dificulta a operação (FURLANI NETO, 1995; BARBOSA, 1997).

No sistema de colheita sem a despalha a fogo, é lançada sobre a superfície do solo uma cobertura de palha (“mulch” ou “trash”). A prática de colheita de cana-de-açúcar sem despalha a fogo pode contribuir significativamente para a melhoria da fertilidade do solo, pois esse resíduo vegetal possui, considerável quantidade de nitrogênio e outros nutrientes, que podem ser disponibilizados à cultura, após serem mineralizados. Por outro lado à fertilização dessas áreas com nitrogênio em superfície, pode levar a imobilização do nutriente devido à elevada relação C:N da palhada, como também, podem ocorrer perdas por volatilização de amônia se o fertilizante for à uréia (RIPOLI & VILLA NOVA, 1992; ABRAMO FILHO, 1995).

Ripolli & Villa Nova et al. (1992), chegaram à conclusão de que a queimada da cana-de-açúcar resulta em um grande desperdício energético, pois se perde, em média, o equivalente a 39.066 litros de álcool (etanol) por hectare. Este valor corresponde em média 30% da fitomassa da parte aérea produzida em um hectare e que poderia ser prontamente utilizada como uma fonte de energia renovável.

Aliada aos possíveis problemas causados ao ambiente e ao desperdício energético, a queima da cana-de-açúcar antes da colheita e a queima, muitas vezes, dos restos da cultura (palhada), leva à diminuição no teor de matéria orgânica do solo, o que é agravado pela diminuição da qualidade desta, com redução nos teores potencialmente mineralizáveis, tendo como consequência, em longo prazo, a redução da produtividade da cana-de-açúcar (OLIVEIRA et al., 1999).

A colheita mecanizada da cana-de-açúcar sem despalha a fogo vem sendo empregada de modo intensivo e com resultados positivos há mais de 15 anos na Austrália e também em Cuba.

Segundo Bernardes et al. (1998) a colheita de cana-de-açúcar sem queima apresenta diversas vantagens como proteção do solo contra a erosão, possibilidade de redução do número de terraços, supressão do cultivo mecânico nas soqueiras, e menor compactação do solo e dano às soqueiras principalmente no sistema de colheita com transbordo. Por outro lado, a colheita mecanizada sofre restrições técnicas e implica em modificações do sistema produtivo e em investimentos. Atualmente, no Estado de São Paulo, 25% da área plantada de cana-de-açúcar, está sendo colhida por máquinas (UNICA, 2004).

2.3 Biologia da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*

Moreira (1920) fez as primeiras referências no país para insetos conhecidos na atualidade por "cigarrinha-da-raiz" da cana-de-açúcar, citando como sendo *Tomaspsis parana* Distant (Hemiptera: Cercopidae), referindo-se como uma espécie indígena da fauna entomológica brasileira, que ocasionalmente atacou a cana-de-açúcar. Posteriormente, Franco (1951) citou, pela primeira vez, a ocorrência de *Tomaspsis liturata* var. *ruforivulata* Stal (Hemiptera: Cercopidae) sob o nome de "baratinha" era conhecida já desde muitos anos, sendo que na safra de 1890-1892 dizimou todos os canaviais do município de Riachuelo.

O nome "cigarrinha" é comumente empregado para indicar os cercopídeos graminícolas que atacam principalmente a cana-de-açúcar e as pastagens (cigarrinhas dos canaviais e cigarrinhas das pastagens), outras culturas como, por exemplo, o feijão. Durante muitos anos foram reunidos no gênero *Tomaspsis* e que foram gradualmente distribuídos pelos especialistas nos gêneros *Aeneolamia*, *Deois*, *Guarania*, *Mahanarva*, *Maxantonia*, *Monecphora*, *Sphenorhina*, *Tomaspsis*, *Zulia* (FENNAH, 1968).

Moreira (1925) relatou que as fêmeas depositam, em média, 50 a 70 ovos exclusivamente no solo, próximos aos resíduos vegetais e às raízes das touceiras, porém nunca inseridos nas bainhas das folhas. Em canaviais cobertos por palhas, a oviposição pode ser feita também nas entrelinhas da cultura. Assim, em áreas de corte mecanizado de cana-de-açúcar sem queima ou em áreas de corte de canas para semente, onde não se queima o canavial, permanecendo grande quantidade de palha sobre o solo, a oviposição poderá ser feita amplamente, em qualquer parte do solo por baixo da palha, concentrando-se, porém, nas linhas da cultura. Garcia (2003), demonstrou que em condições de laboratório o número de ovos/fêmea nas gerações foi de 379,8 ovos na primeira, de 338,3 ovos geração na segunda e de 308,1, com média geral de 342,1 ovos.

No período seco, os ovos passam por uma fase de "diapausa" do qual eclodem as ninfas no início do período de chuvas. Desta maneira, durante o inverno no Nordeste do país (abril-maio até setembro) ao contrário da região Sudeste do Brasil, essa estação é caracterizada por chuvas e calor, podendo haver de duas até quatro gerações, sendo que a última é paralisada no estágio de diapausa. Barbosa (1998) citou que no Estado de São

Paulo os ovos apresentam diapausa na estação seca, aparecendo uma primeira geração no início da estação chuvosa (outubro), e uma segunda e maior geração por volta de fevereiro. A umidade do solo é o fator considerado de maior importância no desenvolvimento do inseto. Garcia (2003), demonstrou que em condições de laboratório a duração do período embrionário obteve um valor médio de 20,8 dias para três gerações, com uma viabilidade média da fase de ovo, também para as três gerações de 80,1%.

As ninfas são especificamente radicícolas e se desenvolvem alimentando-se nas raízes superficiais e radículas da cana-de-açúcar, assim como nas raízes adventícias inferiores das gramíneas hospedeiras. Podem ocorrer também nas raízes adventícias ou raízes aéreas do colmo, bem como, nas radículas encontradas por baixo da palha, nas entrelinhas. Sugam a seiva em quantidade variável segundo sua idade e condições climáticas, envolvendo-se numa espuma branca, espessa, produzida por elas, sem aparentemente causar prejuízo apreciável à planta hospedeira. Essa espuma lhe serve de proteção contra o ressecamento e contra os ataques de vários outros insetos durante todo o seu ciclo de desenvolvimento. As ninfas passam por quatro ecdises, durante um período que pode variar entre 30-40 dias até mais de 60-70, dependendo das condições climáticas ambientais (GUAGLIUMI, 1972a).

Segundo Fewkes (1969), os adultos, para se alimentar, sugam a seiva das folhas e das partes verdes do colmo; seu rostro perfura a epiderme e penetra no tecido celular parenquimatoso para facilitar o fluxo do líquido, injetam enzimas (amilase e oxidase) e/ ou aminoácidos que destroem o cloroplasto, causando a necrose e morte dos tecidos, especialmente acima e abaixo da área picada. Ao sugar a seiva, os adultos de *M. fimbriolata* expelem, a intervalos irregulares, e especialmente quando são molestados, gotas de líquido claro, não açucarado. Chegam a medir 13 mm, com uma coloração avermelhada estendendo-se dos élitros ao escutelo, ao pronoto e a cabeça, com as asas anteriores orladas de preto e com faixas longitudinais da mesma cor. Possuem hábito crepuscular-noturno, ficando escondidos dentro do “cartucho” ou na face inferior das folhas durante o dia e sendo bastante fototrópicos com as luzes artificiais. Voadores de pouco alcance, praticamente, saltam entre as folhas da cana-de-açúcar e de uma planta a outra, geralmente sem superar grandes distâncias (GUAGLIUMI, 1972a).

O ciclo biológico completo da *M. fimbriolata* varia de acordo com a temperatura e umidade no solo, podendo alcançar em média 60-80 dias (ovos: 15-20 dias; ninfas: 30-40 dias; longevidade dos adultos: 15-20 dias). Podem ocorrer até quatro gerações da praga a cada ano, durante todo o período de chuvas. Garcia (2003), demonstrou que em condições de laboratório o ciclo de vida dessa mesma espécie, teve uma média de 75,4 a 81,9 dias, sendo a fase de ovo de 20,6 a 21 dias; a de ninfas de 36,8 a 37,4 dias e a longevidade dos adultos de 18 a 23,5 dias.

2.4 Danos econômicos causados por *Mahanarva fimbriolata*

O ataque de cigarrinha-da-raiz, nos canaviais, pode acarretar prejuízos com a morte de numerosos rebentos e depreciação da cana-de-açúcar jovem, resultando em uma perda evidente no rendimento em toneladas de cana/ha, bem como a queda do rendimento na usina, já que a cana-de-açúcar grande atacada pelas cigarrinhas não reduz sensivelmente seu peso, mas sim o seu teor de sacarose ou de açúcar extraível nos colmos moídos, além de aumentar o teor de glicose, impurezas e porcentagem de fibras. Se os ataques de *M. fimbriolata* prolongam-se por várias semanas, especialmente quando se tratar de cana-de-açúcar planta jovem, são destruídas completamente e estas devem ser replantadas. Quando estas resistem ao ataque, a consequência mais comum é a morte de numerosos rebentos e um notável atraso no desenvolvimento da cultura (MOREIRA, 1925).

Guagliumi (1972a) observou que ao sugarem as raízes e radículas causam desnutrição da planta em pleno período de chuvas. A morte de raízes ocasiona desequilíbrios na fisiologia da planta, caracterizado pela desidratação do floema e do xilema que darão ao colmo características ocas, afinamento e, posteriormente, aparecimento de rugas na superfície externa. De acordo com El-Kadi (1977) as ninfas, ao se alimentarem, ocasionam a "desordem fisiológica" em decorrência de suas picadas que, ao atingirem os vasos lenhosos da raiz (xilema), sugam a seiva bruta, deteriorando-os, impedindo ou dificultando o fluxo de água e de nutrientes.

O principal dano que *M. fimbriolata* causa nos canaviais é a "queima da cana" devido à inoculação de toxinas, uma consequência direta do ataque nas folhas, e se

manifesta poucos dias depois da alimentação efetuada pelos adultos. Os adultos, ao injetarem toxinas, produzem pequenas manchas amarelas longitudinalmente em torno dos pontos picados nas folhas. Com o passar do tempo, tornam-se avermelhadas e finalmente, opacas, reduzindo sensivelmente a capacidade de fotossíntese das folhas e o conteúdo de sacarose do colmo. As manchas amareladas são numerosas e geralmente muito extensas em cada folha, começando pelas mais velhas para as mais novas, chegando a atingir toda a planta (GUAGLIUMI, 1972a).

As perfurações dos tecidos pelos estiletes infectados provocam contaminações por microorganismos no líquido nutritivo, causando deterioração de tecidos nos pontos de crescimento do colmo e, gradualmente, dos entrenós inferiores até as raízes subterrâneas. As deteriorações aquosas apresentam cores escuras começando pela ponta da cana-de-açúcar e podem causar a morte do colmo (EL-KADI, 1977).

Na cana-de-açúcar em processo de crescimento, a toxigenia causa um estado de debilitação geral que traz como conseqüência à redução no tamanho e espessura dos gomos, que ficam curtos e fibrosos, sendo estes em contraste com os de cana-de-açúcar sadia, que durante o inverno (no Nordeste do país) produz entrenós bem compridos e succulentos (GUAGLIUMI, 1972a).

Nas áreas foliares afetadas pela toxigenia o fluxo da seiva, é interrompido com conseqüente redução do processo fotossintético da folha, paralisando parcialmente as funções vegetativas e queda na sintetização e armazenamento da sacarose no colmo e traz como conseqüência sua inversão em glicose e levulose (GUAGLIUMI, 1972a).

A cana-de-açúcar “queimada” pelos ataques dos adultos da cigarrinha causa dois tipos de danos econômicos: o primeiro é no campo, com a redução de 39,0% na produtividade e o segundo é a perda de 34,0% no teor de sacarose dos colmos moídos. Estes prejuízos foram calculados, no ano de 1964 na Estação Experimental de Campos-RJ.

Segundo Fernandes (1990), quando o ataque é severo as folhas amarelecem e perdem a posição normal que apresentavam quando sadias. Com a inversão da sacarose, o pol (porcentagem de sacarose aparente) é diminuído a valores da ordem de 3 a 4%, quando o normal é, no mínimo, 14,4%, não compensando, portanto, o corte da cana-de-açúcar. Dinardo-Miranda et al. (2000a) observaram significativas reduções no pol da cana-de-açúcar (PC) do caldo e incrementos na fibra, de variedades de cana-de-açúcar severamente atacadas

pela cigarrinha-da-raiz da cana, evidenciando que o secamento e a rachadura dos colmos, decorrentes do ataque da praga, exercem grande influência sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar.

Barbosa (1998) citou que quando ocorre o ataque de *M. fimbriolata* em variedades sensíveis, como é o caso da variedade SP 70 1143, o prejuízo é bastante severo, tendo já ocorrido caso de produtividade de 30 t/hectare de cana-de-açúcar "podre" em um local com estimativa de 70 t/hectare. O autor afirma ainda que diante da expansão da colheita crua é recomendável a observação desta sensibilidade nas variedades em introdução em nosso país.

Estudos recentes mostram que as quebras de produtividade agrícola, causadas pela cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, podem ser significativas para muitas das variedades cultivadas atualmente no país, como citado por Dinardo-Miranda et al. (1999, 2000a e 2001a), onde estas reduções variaram de 48 a 63,2 t/ha para as variedades RB 72454, RB 82 5336, RB 83 5486 e SP 80 1816. Já os genótipos IAC 83-2396, SP 80 1842 e RB 82 5336, foram severamente atacados, podendo ser considerados os preferidos pela cigarrinha-da-raiz dentre os 16 genótipos avaliados, enquanto IAC 82 3092; IAC 87 3187 e P0 86 1107 apresentaram as menores infestações.

Balbo Jr. & Mossim (1999), em levantamentos efetuados na região de Ribeirão Preto, observaram que os cultivares SP 80 18 42 e RB 82 5336 estão entre os mais atacados, seguidos pelos cultivares RB 72454, RB 83 5486. De acordo com Almeida et al. (2003c), as variedades RB 85 5546 foi a mais atacada pela *M. fimbriolata* (1,82 ninfas/metro linear) em relação à RB 85 5113; RB 85 5002; RB 85 5156 IAC 87 3396; RB 85 5453; SP 80 3321; RB 83 5486, SP 70 1816; RB 82 5336; IAC 82 2045; SP 80 1842 e RB 84 5257.

Os primeiros testes de laboratório concluíram que uma população de 25 ninfas de *M. posticata*, atacando uma planta durante um período de 40 dias, ocasiona uma perda de 16,5% no seu peso, enquanto que o dano causado por um adulto, alimentando-se durante 30 dias, reduz o peso verde em 21,0%. Ataques de 3 a 5 adultos fazem com que a planta murche e morra rapidamente (GUAGLIUMI, 1973).

Os resultados obtidos nos ensaios conduzidos em 1977, 1978 e 1979 no Estado de Alagoas foram avaliados sob diferentes condições de exposição da praga e concluiu-se que os ataques da cigarrinha-da-folha, *M. posticata*, podem ocasionar perdas de

12,7% na produção agrícola e de 17,5% no rendimento industrial, em função de uma infestação média de 0,7 adultos e 4,3 ninfas/colmo (ENEIAA/PLANALSUCAR, 1981).

Segundo Mendonça (1996), a estratégia de controle da cigarrinha-da-raiz inicia-se com o monitoramento da praga. O monitoramento de *M. fimbriolata* 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. O nível de dano econômico (NDE) é de 20 ninfas/ metro linear de sulco e 1 adulto/cana; o nível de controle é de 2-4 ninfas/metro e 0,5 a 0,75 adultos/cana.

2.5 Métodos de controle de *Mahanarva* spp.

2.5.1 Controle Químico

Guagliumi (1969) relatou que os adultos da mosca predadora *Salpingogaster nigra* (Diptera: Syrphidae) se mostram muito sensíveis aos inseticidas aplicados principalmente em formulações líquidas ou pó, enquanto as larvas não resistem a quaisquer inseticidas, principalmente aos granulados sistêmicos, morrendo decorrente de seu efeito de contato ou pelo efeito sistêmico ao sugarem as ninfas intoxicadas pelo inseticida. Para manter esse nível de predação deve-se evitar aplicações de inseticidas em suas áreas de ocorrências, assegurando assim sua permanência nos canaviais.

As pulverizações devem ser realizadas preferencialmente durante o início da infestação anual, momento em que a densidade populacional da praga é reduzida e, muitas vezes, de distribuição localizada. A tentativa de controle visando a segunda geração em diante é difícil, dado que a área infestada e densidade populacional são bem maiores. Nesta fase, as plantas de cana-de-açúcar se encontram bem desenvolvidas, dificultando a prática de aplicação dos inseticidas com os equipamentos tratorizados (EL-KADI, 1977). O bom controle realizado contra os primeiros surtos da praga, podem dar uma proteção efetiva para todo o seu período de infestação na cultura (GUAGLIUMI, 1973).

O controle químico aéreo de adultos poderá ser feito com absoluta restrição e como última alternativa de controle a ser utilizado, evitando-se aplicações em

grandes áreas, desta maneira, reduzindo as possibilidades de desequilíbrios biológicos (MENDONÇA, 1996).

O uso de equipamentos tratorizados, com pingentes longos, adaptados à barra de pulverização, é muito utilizado, sendo uma boa opção em grandes áreas, principalmente no início da infestação quando o tamanho das plantas ainda permite seu uso, cobrindo de cada vez uma grande quantidade de sulcos. Não se recomenda o uso de aplicações aéreas objetivando o controle de ninfas pela dificuldade de se atingi-las nos locais onde se encontram (MENDONÇA, 1996). O reduzido rendimento de serviço é provavelmente umas das principais desvantagens para o uso dos pulverizadores costais, especialmente quando é grande a área infestada pela cigarrinha, o que vem ocorrendo atualmente.

Os produtos químicos mais utilizados no Estado de São Paulo para o controle de ninfas são: Actara (thiamethoxan), Furadan (carbofuran) e Temik (aldicarb). A pulverização deve ser dirigida para o controle de adultos ou ninfas de *M. fimbriolata*, contudo, as ninfas deverão ser consideradas como o alvo principal. Para esta fase, deve-se dirigir as aplicações diretamente para a base das touceiras e entrelinhas da cultura, utilizando-se equipamentos como os pulverizadores costais manual, motorizado ou pressurizado.

Experimentos realizados em campo com aplicação de Furadan 100 G - Carbofuran (20,0 kg/ha), Temik 150 G - Aldicarb (12,0 kg/ha) e Actara 250 WG - Thiamethoxam (1,0 kg/ha), aplicados em novembro, apresentaram 100% de controle aos 15 dias da pulverização. Aos 40 dias, o controle diminuiu, para o inseticida Carbofuran (10,3%). O produto Thiamethoxam, aparentemente, apresentou um desempenho mais modesto no início, aumentando com o tempo. Assim, percebe-se parece que seu período residual se estende por mais tempo, fato já constatado anteriormente (BOTELHO et al. 2000).

2.5.2 Controle biológico com parasitóides e predadores

Alves & Almeida (1997) citam que o controle biológico com macro ou microrganismos é um dos principais componentes do manejo integrado de cigarrinhas. O controle biológico 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 aplicado com as máquinas convencionais, com pequenas adaptações.

Acropolynema herwali (Hymenoptera: Mymaridae) é um parasitóide específico do gênero *Mahanarva* e foi encontrado em 1948 em Campos, no Estado do Rio de Janeiro. Naquele ano foram observados ovos parasitados da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *M. fimbriolata* e nos anos de 1968 a 1971 foram encontrados ovos também parasitados das espécies *M. posticata* (cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar) e *M. rubicunda indentata*. Segundo Souza (1970), apesar de ser parasito específico, sua eficácia é reduzida por se tratar de um parasitismo mono-embrionário.

Guagliumi (1969) relatou que a mosca predadora *S. nigra* é considerado o principal predador de ninfas, sendo de ocorrência comum tanto em áreas de pastos nativos ou cultivados como na cana-de-açúcar. Sua distribuição é generalizada no Brasil e em toda América Latina, controlando ninfas de todas as espécies de cigarrinhas da raiz (*M. fimbriolata*, *Aeneolamia* spp. e *Prosapia* spp.). Os adultos podem viver cerca de duas semanas. Durante esse período as fêmeas, em condições de laboratório, chegam a depositar de 250 a 300 ovos no interior das espumas onde se encontram as ninfas do inseto-praga. A larva suga e mata cerca de 30 a 40 ninfas grandes de cigarrinhas, além de um número bem superior de ninfas pequenas. Em condições de campo foram observados níveis de predação de até 12% de ninfas/m linear de sulco de cana-de-açúcar.

Pheidole genalis Borgmeir (Hymenoptera: Myrmicinae) é uma formiga predadora muito eficiente, não só no controle de ninfas e adultos de cigarrinha, mas de outros insetos que estejam em sua área de distribuição, como por exemplo, a cochonilha rosada. Não é formiga produtora de fungo e, em consequência, vive unicamente da predação. As entradas de seus olheiros apresentam uma arquitetura muito detalhada, diferenciando facilmente de olheiros de outras espécies. Trata-se de uma formiga que marca território, impedindo assim a instalação de outras espécies de formiga na área. Os soldados apresentam dois pares de espinhos dorsais (GUAGLIUMI, 1972a).

2.5.3 Controle biológico com fungos entomopatogênicos

Os fungos da Ordem Entomophthorales têm sido encontrados causando epizootias em populações de insetos e ácaros em todo o mundo. Dentre esses fungos incluem-se as espécies *Batkoa* sp. e *Furia* sp., patógenos das cigarrinhas das pastagens e cana-de-açúcar, pertencentes aos gêneros *Mahanarva* e *Deois*, respectivamente (Batista Filho et al., 1997; Leite et al., 2000). *Batkoa* sp. pode ser mais difícil para desenvolvimento como bioinseticida, com crescimento mais lento e menor produção, enquanto que *Furia* sp. cresce mais rapidamente, com maior produção nos diferentes meios (Leite et al., 2000).

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* foi encontrado pela primeira vez parasitando adultos e ninfas de *M. fimbriolata* por Pestana (1923).

Guagliumi (1972a) descreveu que o fungo *M. anisopliae* pode ser aplicado sem contaminar o meio ambiente nas touceiras da cana-de-açúcar no controle das ninfas de *M. posticata*, reduzindo rapidamente e de forma duradoura a população da praga.

Segundo Alves (1998), o inóculo proveniente das aplicações do fungo ou propágulos do patógeno oriundos das diferentes fontes de inóculo, serve para contaminar as ninfas e/ou adultos de *M. posticata*. A doença inicia-se após a movimentação dos adultos contaminados com o fungo entomopatogênico e após a morte do inseto nas bainhas das plantas, esporula sobre os cadáveres, sendo os conídios levados pela água da chuva, orvalho ou vento para as várias partes da planta. Após a eclosão das ninfas no solo ou nas folhas baixas da planta, os insetos entram em contato com uma grande quantidade de esporos do fungo. Além disso, a espuma abundante liberada pelas ninfas cria um ambiente favorável ao patógeno. Muitas dessas ninfas morrem formando os focos primários da doença e outras se desenvolvem em adultos contaminados que disseminam a doença pelo canavial. A fase ninfal do inseto é a mais suscetível ao fungo e, após essa fase, ocorrem os focos secundários e a doença se dissemina, atacando toda a população da cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar.

O desenvolvimento da doença inicia-se quando os conídios germinam e penetram no tegumento do inseto num período de dois a três dias. A fase de colonização decorre em dois a quatro dias, e a esporulação ocorre em dois a três dias, dependendo das condições de temperatura e umidade do ambiente. O ciclo total da doença varia de oito a dez dias. Após a morte, os indivíduos apresentam um crescimento micelial branco sobre o corpo,

seguido por esporulação abundante de cor verde. Raramente as ninfas não apresentam esporulação sobre o corpo. Em virtude de sua localização na planta é comum a presença de adultos somente com o crescimento micelial branco. Isso se deve à ocorrência de condições inadequadas de umidade durante o processo de esporulação (ALVES, 1998).

O primeiro ensaio de aplicação de *M. anisopliae* no controle de cigarrinhas da cana-de-açúcar foi efetuado no Estado de Sergipe pelos pesquisadores do extinto Instituto do Açúcar e do Alcool (IAA), visando o controle de *M. posticata*. Os esporos do fungo foram aspergidos na base das touceiras onde havia abundância de espumas e, apesar da umidade relativa ser bastante baixa, o fungo foi eficiente com o aparecimento de ninfas mortas parasitadas (ENEIAA/PLANALSUCAR, 1980).

Guagliumi (1972a) cita que as aplicações das suspensões aquosas dos esporos do fungo *M. anisopliae* no controle de *M. posticata* deverão ser efetuadas dirigindo-se o jato em direção às ninfas da primeira geração invernal (40-50 dias depois das primeiras chuvas). Estes tratamentos, no entanto, não excluem o controle com produtos fitossanitários de natureza química, aplicados sobre as folhagens da cana-de-açúcar com o objetivo de matar os adultos que já estiverem formados. Guagliumi (1972b) relata que as pulverizações do fungo na cana-de-açúcar foram realizadas por meio de máquinas pulverizadoras de alta pressão e aviões, visando instalar numerosas "áreas de dispersão" do fungo.

As pesquisas realizadas pela Estação Central de Araras (SP) do IAA/PLANALSUCAR mostraram uma eficiência de controle de *M. fimbriolata* de 55,18% no controle das ninfas e 52,42% no de adultos, no ano de 1975, em canaviais do Estado de São Paulo (IAA/PLANALSUCAR, 1975).

Em experimentos realizados por Almeida et al. (2001), visando o controle de *M. fimbriolata*, no sistema de cultivo orgânico da cana-de-açúcar, foi utilizado *M. anisopliae* com os seguintes tratamentos: 1kg/ha do isolado ESALQ 1037; 2kg/ha do isolado ESALQ 1037; 1kg/ha do isolado IBCB 10 e 2kg/ha do isolado IBCB 10 e dosagens diferentes de óleo de timbó. Foi verificado que aos 60 dias da pulverização houve uma redução de ninfas em todos os tratamentos e, aos 90 dias da aplicação, nos tratamentos com o fungo, a infestação foi de 1,4 ninfas/metro, diferente dos tratamentos com inseticidas naturais (7,4 ninfas/metro) e a testemunha com 5 ninfas/metro.

Com relação ao número de aplicações e a quantidade do bioinseticida a ser utilizado no controle da cigarrinha-da-raiz, Almeida et al. (2002b e 2003b) citam que a aplicação de 1kg de arroz + fungo do isolado IBCB 10 de *M. anisopliae* é suficiente para manter a população abaixo do nível considerado de controle (5 ninfas/metro linear), quando aplicado nos meses de novembro e dezembro, na variedade de cana-de-açúcar RB 85 5536.

Almeida et al. (2002b) avaliaram concentrações diferentes dos inseticidas naturais (óleo de Nim, timbó e composto biorgânico) e do fungo *M. anisopliae* (isolados IBCB 10 e ESALQ 1037) e observaram 100,0% de eficiência nas parcelas tratadas com o entomopatógeno. Os inseticidas naturais causaram um efeito de choque sobre a população de cigarrinha, havendo uma reinfestação aos 60 dias da aplicação. Almeida & Batista Filho (2003) verificaram que quando o óleo de Nim é aplicado um mês antes da aplicação de 1kg de *M. anisopliae* (isolado IBCB 10) controlou, com maior eficiência, a população de *M. fimbriolata* quando comparado à aplicação do fungo e depois o óleo de Nim. Provavelmente ocorreu efeito deletério do óleo de Nim sobre *M. anisopliae* e um curto período residual do inseticida natural.

Batista Filho et al. (2001) observaram que o isolado IBCB 10 de *M. anisopliae* (isolado de *M. fimbriolata*) foi mais eficiente no controle de *M. fimbriolata* quando comparado com os isolados ESALQ 1037 (isolado de *Scaptocoris castanea*) e PL 43 (isolado de *M. posticata*) obtendo-se, aos 103 dias da pulverização, uma baixa infestação. Entretanto, no tratamento IBCB 10, pulverização quinzenal, a infestação de ninfas/metro foi de 2,5 e no tratamento IBCB 10, aplicação mensal, de 3 ninfas/metro. Dessa maneira, os autores concluíram que o isolado IBCB 10 foi o melhor dentre os demais isolados testados, com aplicação mensal entre os meses de novembro, dezembro e janeiro.

A época da aplicação do fungo influencia no controle da população de *M. fimbriolata*. Almeida et al. (2003c) verificaram que quando a aplicação de *M. anisopliae* (isolado IBCB 348) é realizada no mês de outubro a população da cigarrinha permanece abaixo do nível de controle. Com relação à análise de produção da variedade SP 701816, verificou-se que o Pol (PCC) foi maior quando o fungo foi aplicado nos meses de outubro e novembro, diferindo estatisticamente dos tratamentos em que o fungo foi aplicado nos meses de dezembro e janeiro.

Diferentes concentrações e número de aplicações *M. anisopliae* foram testados na área de cana-de-açúcar da usina Açúcar Guarani S.A., Olímpia-SP, sendo que na variedade RB 85 5536 não se aplicou vinhaça e na variedade SP 80 1842 aplicou-se vinhaça antes da aplicação dos tratamentos. Foi utilizado o isolado IBCB 10 em concentrações variáveis de $1,75 \times 10^5$, $3,5 \times 10^6$, $5,25 \times 10^6$ conídios/mL no controle de *M.fimbriolata*. Verificou-se que a aplicação de 1 kg/ha de arroz esporulado em 400 L de água/ha ($1,75 \times 10^5$ conídios/mL) manteve a população de cigarrinha abaixo do nível considerado de controle (5 ninfas/metro linear) durante o ciclo da praga (outubro a abril), quando aplicado em novembro e dezembro (ALMEIDA et al., 2002b).

Lopes et al. (2002) avaliaram a eficiência do produto Metarril PM, formulado com *M. anisopliae* (isolado ESALQ 1037), visando o controle de *M. fimbriolata*. Os tratamentos foram: Metarril PM (1, 2, 3 e 4 kg/ha), Furadan 350 (carbofuran 5 kg/ha) e Testemunha, distribuídos em quatro repetições de oito linhas de 20 metros. Para as concentrações de 2 e 3 kg/ha o controle foi de 35 e 55%, respectivamente. Na concentração de 4kg/ha o controle foi semelhante ao obtido no tratamento com Furadan 350, em torno de 80%, o que corresponde a uma média de 0,4 ninfas por metro, comparado com 2,5 ninfas na testemunha. O produto Metarril PM apresentou a eficácia semelhante ao inseticida Furadan 350.

No Estado de São Paulo muitas usinas têm optado pela aplicação de *M. anisopliae* com equipamentos tratorizados, os mesmos utilizados para a aplicação de herbicidas, com o jato de pulverização direcionado para a linha e entrelinha da cultura. A massa de grãos é separada dos conídios na peneira do tanque pulverizador, para que não ocorra o entupimento dos bicos. As aplicações terrestres devem ser feitas com pulverizadores com volume de aplicação de 200 a 400 L/ha. Em aplicações aéreas gastam-se 20 a 30 L/ha, 2 a 5 metros acima do nível da cultura (ALVES, 1998).

Segundo Mendonça et al. (2001), outro método de aplicação é a utilização do arroz + fungo diretamente no tanque do avião, semelhante a uma formulação granulada. As aplicações com o fungo foram feitas em áreas com menores infestações de ninfas (até 10 ninfas/ha), ocorrendo muitos casos onde as infestações ultrapassavam 20 ninfas/metro e alguns casos raros com mais de 100 ninfas/metro. Algumas áreas necessitaram de uma segunda aplicação. De modo geral, as populações da praga se mantiveram sob controle

nas áreas tratadas, obtendo-se resultados semelhantes aos das áreas tratadas com inseticida sistêmico. Para aplicações do fungo "granulado" em canaviais mais baixos pode ser feita utilização da distribuidora de calcáreo, o que irá baratear ainda mais o controle. Os autores relatam experimentos de campo onde foram aplicados 474 ha com 5kg/ha e 1385 ha com 10kg/ha, equivalentes a 375-500g de conídios/ha e 750-1000g de conídios/ha, respectivamente com cerca de 5×10^9 e 1×10^{10} conídios/g e outros tipos de controle. Todos os tipos de manejo utilizados controlaram eficientemente a população de *M. fimbriolata*.

Na década de 70, o número de aplicações de *M. anisopliae* no controle de *M. posticata* cresceu de 189 aplicações em 1977 para 650 aplicações em 1978, abrangendo uma área de 17.806 ha, ou seja, 16.861 ha a mais do que no ano anterior. Os levantamentos de campo, nas áreas tratadas com o fungo, mostraram efeitos de controle altamente satisfatório. Considerando-se os efeitos das aplicações até 90 dias constataram, em média, reduções de 36,17% ninfas/colmo; a mortalidade alcançou níveis de até 86% e a incidência do fungo aumentou em até 57,17% (IAA/PLANALSUCAR, 1977).

Já no ano de 1982 foi estimado um controle exercido pelos isolados PL 5, PL 27 e PL 43 de *M. anisopliae* da ordem de 33,78% para adultos e 12,42% para ninfas de *M. posticata*. Esses resultados foram obtidos devido aos tratamentos ou aplicações do fungo realizados em 51.000 ha em Alagoas, e aproximadamente 56.000 ha nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. Foi estimada, para o ano de 1983, uma produção de fungo no Estado de Pernambuco de aproximadamente 17.000 a 18.000 kg, cobrindo uma área entre 150.000 a 180.000 ha (IAA/PLANALSUCAR, 1982).

Alves (1998) cita que o controle das cigarrinhas-das-pastagens e da cana-de-açúcar é um bom exemplo da utilização prática de patógenos no controle de pragas. Em Alagoas, no período de 1977 a 1991, Marques (1992) relatou que foram pulverizados *M. anisopliae* em aproximadamente 670.000 ha de cana infestados por *M. posticata*, havendo uma redução de 72,0% na ocorrência desta praga. Inicialmente, a área tratada com inseticida químico era de 150.000 ha/ano, diminuindo para 30.000 ha após a aplicação do fungo.

2.6 Seleção e produção de isolados de fungos entomopatogênicos

A seleção de isolados de um determinado fungo é de fundamental importância quando se quer implantar um programa de controle microbiano de pragas e representa a principal etapa para o desenvolvimento de bioinseticidas. Esse procedimento é sempre possível já que existe uma grande variabilidade genética, podendo ser considerada uma das principais vantagens da utilização desses patógenos como agentes de controle de artrópodes (ALVES, 1998). São utilizados alguns parâmetros para diferenciar isolados, entre os quais destacam-se o crescimento e produção de conídios em diferentes meios de cultura, sensibilidade a produtos químicos, produção de exoenzimas e sobrevivência à luz ultravioleta (FRIGO & AZEVEDO, 1986; FENG & JOHNSON, 1990; PACCOLA-MEIRELLES & AZEVEDO, 1990; SÓSA-GOMEZ et al., 1994).

São vários os relatos na literatura de trabalhos de seleção de isolados de fungos com vistas ao controle de diversas pragas no Brasil, entre as quais: cupins (ALMEIDA, 1994, ALMEIDA et al., 1997 e NEVES, 1998); grãos armazenados (MOINO Jr. et al., 1998); gorgulho aquático do arroz *Oryzophagus oryzae* (Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) (TAKADA, 2002), broca gigante da cana-de-açúcar *Castnia licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castiniidae) (FIGUEIREDO et al., 2002), entre outros. Tamai (1997, 2002) testou isolados de vários fungos entomopatogênicos para o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). Para a espécie de mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn., 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), Ramos (2001) testou 7 isolados de *M. anisopliae*, obtendo mortalidade de 34 a 90%, sendo selecionado o isolado E 9. e Já o isolado PL 43 provocou 83,3% de mortalidade às ninfas de *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) (Thysanoptera: Thripidae) (LOPES, 1999).

Em outros países, Lecuona et al. (1996) encontraram grandes diferenças na patogenicidades de 21 isolados de regiões brasileiras e argentinas de *B. bassiana* a larvas da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae), a mortalidade variou de 50 a 90% para as larvas. Os isolados brasileiros foram menos patogênicos do que os argentinos. Feng & Johnson (1990) encontrou diferenças entre seis isolados de *B. bassiana* ao pulgão *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Hemiptera: Aphididae), com

mortalidade variando de 10 a 75% e de 40 a 95%, nas concentrações de 5×10^5 e 1×10^7 conídios/mL.

Por meio destes trabalhos obteve-se isolados e fungos promissores para serem utilizados com sucesso em programas de controle microbiano de pragas. Os fungos imperfeitos ou fungos mitospóricos, Classe-forma Hyphomycetes *Beauveria bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii*, *Hirsutella thompsonii* possuem amplo espectro de hospedeiros e são de fácil produção em meios naturais e artificiais. Esses fungos são de ocorrência comum e podem ser facilmente isolados de amostras de solo e de insetos e/ou ácaros infectados, sendo predominantes nas principais coleções de fungos entomopatogênicos no Brasil (ALMEIDA & BATISTA FILHO, 2001).

Diversos isolados de *M. anisopliae* vêm sendo estudados para o controle de insetos das Ordens Isoptera, Orthoptera, Hemiptera e Coleoptera que atacam culturas de importância econômica. *M. anisopliae* var. *anisopliae* é a variedade mais estudada devido a sua considerável produção de destruxinas (KERSHAW et al., 1999). Este patógeno ocorre naturalmente sobre mais de 300 espécies de insetos das diferentes ordens, e pode ser um eficiente agente de controle biológico de insetos-praga (ZIMMERMANN, 1993; ALVES et al., 1998a).

Macedo et al. (2003a) estudaram a patogenicidade de 22 isolados de *M. anisopliae*, provenientes de espécies de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *M. fimbriolata*, e cigarrinha-da-folha, *M. posticata*, e dois produtos comerciais Metarril e Biocerto, bioinseticidas utilizados comercialmente para o controle de cigarrinhas. As avaliações foram realizadas 5 dias da pulverização e as mortalidades corrigidas variaram de 20 a 65%, sendo os isolados IBCB 348, ESALQ 1285, IBCB 345, IBCB 384 e o produto comercial Metarril (formulado com o isolado ESALQ 1037) os mais patogênicos e promissores para o controle de *M. fimbriolata*.

Os fungos entomopatogênicos pertencentes a Classe-forma Hyphomycetes possuem quase todas as características desejáveis para um patógeno ser efetivo como produto comercial, fato este que tem despertado grande interesse no seu estudo. Entre as características pode-se destacar a facilidade de produção e aplicação, especificidade e a ausência de toxicidade ao homem e ao meio ambiente, além de permitir a associação destes organismos com outras táticas de controle, viabilizando sua utilização em grandes áreas

(ALVES, 1998). São capazes de atacar um grande número de espécies de artrópodes e praticamente todos os estágios de desenvolvimento dos insetos. A maioria dos fungos atua por contato e por ingestão, sendo que a sua grande variabilidade genética permite estudos de seleção de cêpas ou isolados e avaliação dos mais virulentos para o controle de pragas (LEITE et al., 2003).

A produção em grande escala de *M. anisopliae* é feita predominantemente em meio de cultura sólido, utilizando-se grãos de arroz como substrato. O sistema foi aperfeiçoado por Alves & Pereira (1989) a partir das técnicas utilizadas no país. O processo é composto de duas fases, sendo a primeira dedicada ao crescimento vegetativo (matrizes) do fungo sobre os grãos e a segunda visando à esporulação, efetuada em bandejas. O ciclo de produção é de 12 a 15 dias e o rendimento é em torno de 9% de conídios em relação ao peso de grãos crus (ALVES & PEREIRA, 1998). Essa metodologia tem sido utilizada para a produção de *M. anisopliae* pelas biofábricas e usinas de açúcar e álcool no Estado de São Paulo.

Os principais problemas encontrados no processo de produção estavam relacionados ao desenvolvimento de metodologia simples, recipientes adequados e eliminação de contaminações (MARTIGNONI, 1964). Existem limitações para a utilização de fungos; uma das maiores é a forma de conservação desses microrganismos, que mantenha a sua patogenicidade e virulência pelo menos por dois anos, em condições de fácil armazenamento e aplicação. Este fator está intrinsecamente ligado às formulações.

As técnicas de produção de fungos para controle de pragas devem ter baixo custo e permitir a obtenção de alta concentração de formas viáveis e virulentas do patógeno, que possam ser formuladas e utilizadas.

Apesar do elevado potencial desse patógeno como agente de controle biológico, uma grande limitação no desenvolvimento e comercialização de produtos microbianos é a correta caracterização e padronização da linhagem selecionada, visando a preservação da sua identidade durante o processo produtivo.

A identificação das variedades *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *M. anisopliae* var. *majus* é baseada em características morfológicas, principalmente relacionadas com o tamanho dos conídios (TULLOCH, 1976), contudo, métodos mais precisos são

importantes na caracterização de linhagens específicas. Dentro da espécie *M. anisopliae* existem centenas e até milhares de isolados. Embora, sejam morfológicamente idênticos, eles apresentam características próprias. Não se deve preconizar que todos os isolados que naturalmente causam infecções em cigarrinhas sejam eficientes no controle desta praga. Em alguns casos em que os insetos estejam estressados, tornam-se suscetíveis a isolados que normalmente não causariam mortalidade significativa em populações sadias da praga. O isolado é o princípio ativo do bioinseticida e, portanto, um isolado ruim resulta em níveis de controle insatisfatórios.

A técnica de PCR é atualmente muito utilizada em estudos de variabilidade genética e diagnósticos moleculares. A variação do genoma de várias espécies e linhagens de fungos entomopatogênicos vem sendo detectada por diversos autores pelo método de RAPD-PCR (FEGAN et al., 1993; TIGANO-MILANI et al., 1995; FUNGARO et al., 1996; FUNGARO, 2000).

A principal vantagem da utilização em campo ou estufa, para o controle da praga alvo é a facilidade de produção em larga escala, o que viabiliza a utilização destes agentes de maneira inundativa (ALVES & PEREIRA, 1998). *M. anisopliae* ocorre em diferentes regiões do mundo.

No Brasil desde a década de 70, *M. anisopliae* vem sendo produzido e comercializado no Brasil para o controle da cigarrinha-da-folha *M. posticata* em cana-de-açúcar (ALVES, 1986; GILLESPIE & CLAYDON, 1989; ZIMMERMANN, 1993; ALVES et al., 1998a).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Isolados de fungos entomopatogênicos

Este estudo foi realizado no Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, sediado em Campinas, SP.

Nos bioensaios foram utilizados os isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* apresentados na Tabela 1.

Os isolados são provenientes da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico. Encontram-se armazenados em “freezer” a -12°C , na forma de conídios puros, acondicionados em “ependorfs”.

Para a realização dos bioensaios, cada isolado foi multiplicado colocando-se uma pequena quantidade de conídios puros, espalhados com alça de Drigalsky, em placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo meio completo (MC), com a seguinte composição:

KH_2PO_4 -----	0,36 g
$\text{NaHPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -----	1,05 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -----	0,60 g
KCl -----	1,00 g

Glucose -----	10,00 g
NaNO ₃ -----	1,58 g
Extrato de levedura -----	5,00 g
Ágar -----	20,00 g
Água destilada -----	1000,0 mL

As placas foram mantidas em câmaras climatizadas (25±1°C e fotofase de 12 horas) por um período de 8 dias, e posteriormente armazenadas em geladeira (4 °C) até a utilização nos experimentos.

Tabela 1. Identificação, hospedeiro e local de coleta dos isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Mahanarva fimbriolata*.

Isolado	Hospedeiro	Local de coleta
IBCB 10	Cigarrinha de pastagem	Araçatuba-SP
IBCB 103	<i>Scaptocoris castanea</i>	Campinas-SP
IBCB 104	<i>S. castanea</i>	Campinas-SP
IBCB 116	Amostra de solo	Contagem-MG
IBCB 121	Amostra de solo	Tabapuã-SP
IBCB 138	Amostra de solo	Pariquera-Açú-SP
IBCB 142	Amostra de solo	Cascável-PR
IBCB 160	Amostra de solo	Cascável-PR
IBCB 171	Amostra de solo	Aral Moreira-MS
IBCB 250	Amostra de solo	Mococa-SP
IBCB 323	Amostra de solo	Jundiaí-SP
IBCB 333	<i>Mahanarva fimbriolata</i>	Valparaíso-SP
IBCB 334	<i>M. fimbriolata</i>	Novo Horizonte-SP
IBCB 345	<i>M. fimbriolata</i>	Cosmópolis-SP

Tabela 1. (cont.) Identificação, hospedeiro e local de coleta dos isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Mahanarva fimbriolata*.

Isolado	Hospedeiro	Local de coleta
IBCB 347	<i>M. fimbriolata</i>	Araras-SP
IBCB 348	<i>M. fimbriolata</i>	Sertãozinho-SP
IBCB 351	Amostra de solo	Guariba-SP
IBCB 353	<i>M. fimbriolata</i>	Valparaíso-SP
IBCB 358	Amostra de solo	Big Valley-SP
IBCB 361	Amostra de solo	Cajatí-SP
IBCB 362	<i>M. fimbriolata</i>	Araras-SP
IBCB 363	<i>M. fimbriolata</i>	Araras-SP
IBCB 364	<i>Anthonomus grandis</i>	Araras-SP
IBCB 374	<i>M. fimbriolata</i>	Sertãozinho-SP
IBCB 380	<i>M. fimbriolata</i>	Água Branca-SP
IBCB 382	<i>M. fimbriolata</i>	Água Branca-SP
IBCB 383	<i>M. fimbriolata</i>	Água Branca-SP
IBCB 384	<i>M. fimbriolata</i>	Sertãozinho-SP
IBCB 385	<i>M. fimbriolata</i>	Sertãozinho-SP
IBCB 390	<i>M. fimbriolata</i>	Catanduva-SP
IBCB 391	<i>M. fimbriolata</i>	Tabapuã-SP
IBCB 398	<i>Galleria mellonella</i>	EMBRAPA
IBCB 400	<i>G. mellonella</i>	EMBRAPA
IBCB 407	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 408	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 410	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 411	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 412	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 414	Amostra de solo	Iporanga-SP

Tabela 1. (cont.) Identificação, hospedeiro e local de coleta dos isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Mahanarva fimbriolata*.

Isolado	Hospedeiro	Local de coleta
IBCB 416	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 417	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 418	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 419	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 420	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 423	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 425	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 426	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 427	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 428	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 429	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 437	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 438	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 439	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 440	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 462	Amostra de solo	Caconde-SP
IBCB 470	Amostra de solo	São Sebastião do Paraíso-MG
IBCB 471	<i>Quesada gigas</i>	Caconde-SP
IBCB 472	Amostra de solo	Iporanga-SP
IBCB 474	<i>M. fimbriolata</i>	São João da Estiva-SP
IBCB 475	Amostra de solo	Campinas-SP
IBCB 476	Amostra de solo	Campinas-SP
IBCB 477	Amostra de solo	Campinas-SP
IBCB 478	Amostra de solo	Mogi das Cruzes-SP
IBCB 479	Amostra de solo	Campinas-SP

Tabela 1. (cont.) Identificação, hospedeiro e local de coleta dos isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Mahanarva fimbriolata*.

Isolado	Hospedeiro	Local
IBCB 480	Amostra de solo	Campinas-SP
IBCB 481	Amostra de solo	Campinas-SP
IBCB 482	Amostra de solo	Campinas-SP
IBCB 489	Amostra de solo	Campinas-SP
BC 248	<i>M. fimbriolata</i>	Sertãozinho-SP
BC 249	<i>M. fimbriolata</i>	Sertãozinho-SP
E 9	Cigarrinha de pastagem	Embrapa
E 9 (19)	Cigarrinha de pastagem	EMBRAPA
ESALQ 1037	<i>Solenopsis</i> sp.	Porto Alegre-RS
E 601	Cigarrinha de pastagem	Embrapa
N° 20-Unicamp	Cigarrinha de pastagem	Campinas-SP
PL 26	<i>M. posticata</i>	?
PL 43	<i>M. posticata</i>	Alagoas
PL 49	<i>M. posticata</i>	?
SPL 358	<i>A. grandis</i>	Piracicaba-SP

3.2. Estabelecimento da concentração

Inicialmente, foi realizado um bioensaio para estabelecimento da concentração a ser utilizada nos experimentos de seleção de isolados. Foi utilizado, como padrão, o isolado IBCB 348, por ser o inóculo de produção utilizado por muitas biofábricas paulistas até o ano de 2002. Foram testadas quatro concentrações de *M. anisopliae* ($1,0 \times 10^8$; $5,0 \times 10^7$; $1,0 \times 10^7$ e $5,0 \times 10^6$ conídios/mL) e um tratamento testemunha que recebeu apenas água destilada estéril. A concentração utilizada foi aquela que causou porcentagem de

mortalidade confirmada (porcentagem dos insetos nos quais ocorreu esporulação do fungo) superior a 70%, pela análise de Probit para obtenção dos valores de CL_{50} (conídios/mL), 4 dias após a pulverização para ser utilizada nos experimentos subseqüentes.

As suspensões de conídios foram preparadas a partir da conidiogênese do fungo produzida em meio de cultura sólido completo (MC), descrito no item 2.1, com água destilada, estéril e espalhante adesivo (Tween 80) a 0,1%. A contagem do número de conídios foi feita em câmara de Neubauer sob microscópio ótico.

Os bioensaios foram compostos por cinco placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo uma folha de cana-de-açúcar, lavada com água estéril, medindo 8 cm de comprimento e envolvida nas extremidades por um pedaço de algodão umedecido com água. Sobre as folhas de cana-de-açúcar foram colocadas 10 ninfas de *M. fimbriolata* perfazendo um total de 50 insetos por tratamento.

As ninfas de *M. fimbriolata* foram coletadas em canalial no município de Martin Afonso-SP, pertencente à Usina São João S.A., isento de pulverizações com produtos fitossanitários químicos. As ninfas foram coletadas com pinça entomológica e colocadas no interior de caixas de isopor contendo folhas de cana-de-açúcar e levadas para o laboratório.

A aplicação de 1 mL das suspensões de *M. anisopliae* foi feita sobre a folha de cana-de-açúcar contendo as cigarrinhas, com o auxílio de uma Torre de Potter adaptada, com pressão de 15 libras/pol². As placas de Petri contendo os insetos foram fechadas e mantidas em câmara climatizada à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotofase de 12 horas e umidade relativa de $70\pm 10\%$.

Foi avaliada a mortalidade diariamente. Cada inseto morto foi lavado em álcool 70% e água destilada esterilizada, para desinfestação superficial. Em seguida, os insetos foram transferidos para placas de teste ELISA, esterilizadas e colocadas dentro de um recipiente plástico hermético, contendo papel filtro umedecido e sobre este, uma espuma umedecida. O recipiente plástico foi mantido em câmara climatizada à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, com fotofase de 12 horas e umidade relativa de $70\pm 10\%$. Por meio deste procedimento é que se obteve a confirmação da mortalidade causada pelo patógeno, observando-se o crescimento micelial e conidiogênese no cadáver.

3.3. Seleção dos isolados de *Metarhizium anisopliae*

Baseado na concentração selecionada no experimento anterior foi realizado um bioensaio utilizando a metodologia descrita no item 3.2 (estabelecimento da concentração). Foi testada a eficiência de 79 isolados de *M. anisopliae*.

O experimento de seleção foi composto por cinco bioensaios, contendo cada um, quantidades diferentes de isolados, um tratamento testemunha e o isolado padrão IBCB 348.

A mortalidade foi verificada diariamente. Os cadáveres foram observados e aqueles que apresentaram extrusão e reprodução do patógeno foram anotados e representaram a mortalidade confirmada. Os isolados que apresentaram porcentagem de mortalidade confirmada maior ou igual 70% até o sexto dia após a pulverização, mantida em câmara úmida, foram selecionados para a etapa de produção em arroz pré-cozido.

Foram calculados os dados de mortalidade confirmada (porcentagem dos insetos nos quais ocorreu esporulação do fungo), mortalidade total (mortalidade independente da causa) e mortalidade corrigida calculada pela fórmula de Abbott (1925), para o 4^o e 6^o dias após a inoculação. Os resultados de mortalidade das ninfas de *M. fimbriolata* proporcionado pelos 79 isolados foram distribuídos e analisados separadamente em cinco bioensaios.

3.4. Produção em arroz pré-cozido

Nesta etapa foram utilizados apenas os isolados mais virulentos às ninfas de *M. fimbriolata*.

Esses isolados foram repicados em placas de Petri contendo meio MC. As placas foram incubadas durante dez dias em câmara climatizada BOD (25±1°C e fotofase de 12 horas) para promover o crescimento e esporulação do fungo. Após 10 dias, os conídios foram retirados por meio de raspagem com alça metálica e então preparada uma suspensão contendo 5 x 10⁷ conídios/mL com água estéril mais espalhante adesivo (Tween 80) a 0,1%.

Inicialmente, foi realizado o cozimento do arroz em água fervendo, por cerca de 15 minutos, até que este apresentasse a textura “emborrachada”. Foi escorrida a água, colocando o arroz em bandejas. Após o resfriamento foi colocado 100g de arroz em sacos de plástico de polipropileno (35cm de comprimento x 22 cm de largura). Esses sacos foram fechados com grampos de metal, autoclavados por 25 minutos a 120°C, e resfriados em condição ambiente.

Cada isolado de *M. anisopliae* foi inoculado com 1mL de uma suspensão de conídios com 5×10^7 conídios/mL em oito sacos plásticos, com o auxílio de uma seringa descartável, no interior do saco plástico. Em seguida, fechado o orifício com uma etiqueta adesiva, agitando-se o saco plástico para uma distribuição uniforme dos conídios no grão de arroz.

Após a inoculação, os sacos foram acondicionados, por 10 dias, em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas) para a germinação dos conídios e o crescimento do micélio do fungo. Decorrido este período, foram selecionados, para cada isolado, seis sacos não contaminados com crescimento uniforme de micélio, tiveram seus conteúdos transferidos, cada um, para uma bandeja plástica de 46 cm de comprimento, 30 cm de largura e 11cm de altura (ALVES & PEREIRA, 1989). As bandejas foram mantidas empilhadas em sala asséptica a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ U.R. e fotofase de 12 horas, por 8 dias. No quarto dia cruzaram-se as bandejas empilhando-as, permitindo assim uma circulação de ar entre elas, conseqüentemente uma secagem mais rápida do arroz com fungo. Decorridos oito dias, o material contido na bandeja foi colocado em saco plástico, totalizando seis sacos plásticos para cada isolado, que serviram como repetição e foram armazenados em geladeira (4°C).

Para exame da concentração e da viabilidade dos conídios foram retirados, ao acaso, duas amostras de 1 grama de arroz com fungo de cada saco plástico, adicionando-se a mesma 10 mL de água estéril mais espalhante adesivo (Tween 80) a 0,1%, para a preparação de uma suspensão de conídios. A suspensão foi diluída e quantificada em câmara de Neubauer, com auxílio do microscópio com aumento de 400x. Para a leitura da viabilidade, foram preparadas quatro placas de Petri contendo meio de cultura BDA, inoculadas com o fungo. As placas foram incubadas por 20 horas a 26°C e 12 horas de

fotofase. Foram quantificados os números de conídios germinados e não germinados, dos quadrantes, em microscópio ótico com objetiva de 400x (ALVES et al., 1998b).

Os valores de produção e da viabilidade dos conídios foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados dos valores de produção foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$.

3.5. Avaliação da eficiência dos isolados selecionados de *Metarhizium anisopliae*, em condições de campo.

O experimento foi realizado em uma área de cana-de-açúcar da Usina Cerradinho Açúcar e Álcool S.A., Fazenda Anjo da Guarda, no município de Novaes-SP, possuindo um solo Argissolo (Podzólico Vermelho Amarelo) eutrófico e ambiente A₁.

A área experimental constituiu-se de uma plantação comercial de cana-de-açúcar da variedade SP 80 1816, onde o 1º e o 2º corte foram realizados mecanicamente. Não foi aplicada vinhaça e a área apresentava infestação média de 3 ninfas por metro linear.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 5 tratamentos e 4 repetições. Ressalta-se que os isolados testados foram aqueles que apresentaram mortalidade acumulada confirmada acima ou igual 70,0% ao sexto dia após a pulverização, em condições de laboratório. Os tratamentos foram os seguintes:

- 1 - *M. anisopliae* (IBCB 348)
- 2 - *M. anisopliae* (IBCB 408)
- 3 - *M. anisopliae* (IBCB 410)
- 4 - *M. anisopliae* (IBCB 425)
- 5 – Testemunha

O ensaio foi instalado em 04/11/2002 com a aplicação de 2kg/ha de arroz + fungo esporulado com concentração de $1,5 \times 10^{12}$ conídios/ha. Os isolados de *M. anisopliae* foram produzidos em substrato de arroz pré-cozido preparados de forma semelhante ao descrito no item 3.4, segundo metodologia proposta por ALVES & PEREIRA

(1989). A produção do patógeno foi realizada no Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico.

As suspensões de conídios foram preparadas pela lavagem do arroz + fungo em água. Posteriormente, os conídios em suspensão foram filtrados na peneira do tanque do pulverizador. Em seguida, completou-se o volume do tanque do trator com água, perfazendo-se 300L de calda. A pulverização foi realizada imediatamente após a preparação da calda.

Foram utilizados 2 kg/ha de arroz + fungo esporulado e aplicados em cada repetição de 7 linhas de 100 metros de comprimento, sendo cada parcela de 1050 m², com espaçamento entre linhas de 1,5m, num total de 4.200 m², deixando-se uma bordadura de 7 linhas.

A aplicação foi realizada com pulverizador de barras acoplado a um trator, com bicos leque TF 5 e volume de aplicação de 300 L/ha. Os pingentes direcionaram os bicos leques para ambos os lados da linha da cultura, com os jatos atingindo 30% do colmo e 70% o solo, sem afastamento da palhada.

As avaliações foram realizadas aos 15, 30, 60, 90, 120, 150 dias após a aplicação, observando-se o número de adultos e ninfas mortas em cada parcela; o número de vivos e os insetos parasitados (crescimento externo do fungo) e não parasitados. Foi avaliado o número de insetos em dois metros lineares da linha de cana-de-açúcar em ambos os lados, perfazendo-se três pontos por parcela, distanciados 40 metros para cada tratamento.

Na colheita, avaliou-se a produtividade (t cana/ha) pela técnica de biometria, pesando-se um metro linear de cana-de-açúcar das três linhas centrais da parcela, contando-se o número de canas pesadas e todas as canas da parcela. O peso de cana-de-açúcar da parcela foi calculado através do produto do peso médio de uma cana-de-açúcar pelo número de canas da parcela, segundo metodologia descrita por Landell et al. (1999). Esses dados foram posteriormente transformados em toneladas de cana-de-açúcar por hectare (TCH).

Por ocasião da colheita, foi retirada uma amostra de 10 colmos de cana-de-açúcar colhidos seguidamente. O material foi levado para o laboratório e após a desintegração da matéria-rima, realizou-se a extração do caldo, através de prensa hidráulica. Do caldo extraído determinou-se o Brix e a Pol no Caldo calculando-se a Pureza do Caldo. A

partir da pesagem do Bagaço, Prensa Úmido calculou-se a Fibra % Cana, pH e a seguir o Açúcar Teórico Recuperável (ATR) e por último, estimada a Tonelada de Açúcar por Hectare (TAH). Esses parâmetros foram analisados segundo metodologia proposta pela CONSECANA (2002).

Os dados foram submetidos à análise de variância com teste de Duncan a 5% para comparação das médias de ninfas por parcela e para o cálculo da eficiência de controle obtidas através da fórmula de Abbott (1925).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estabelecimento da concentração

Por meio da análise de modelo de Probit, o número de insetos infectados mortos até o 5^o dia foi maior para CL₅₀ de $1,2 \times 10^7$ conídios/mL (Figura 1). Verificando-se que a mortalidade de 50% foi obtida pulverizando-se 1mL da suspensão de conídios contendo $1,2 \times 10^7$ conídios/mL, aplicado sobre 40 cm² da superfície da folha de cana-de-açúcar. Para se obter a mesma porcentagem de mortalidade em campo seriam necessários $1,2 \times 10^{12}$ conídios/ha. Esta dose está equivalente àquela recomendada por Batista Filho et al. (2001), de $1,0 \times 10^7$ conídios/mL em campo para os isolados IBCB 10, ESALQ 1037 e PL 43. Os dados deste estudo estão próximos aos de Almeida et al. (2002b), que obtiveram nível de controle abaixo de 5 ninfas/metro linear na concentração de $1,75 \times 10^5$ conídios/mL e dose de $1,75 \times 10^{12}$ conídios/ha.

Foi considerada a mortalidade confirmada como parâmetro para estudar comportamento dos melhores isolados bem como as concentrações, pois representa a capacidade de colonização do patógeno superando todos os agentes competidores presentes no inseto (NEVES, 1998). A mortalidade total representa a somatória da mortalidade causada diretamente (mortalidade confirmada) e indiretamente pelo patógeno, além da mortalidade causada por outros fatores como estresse e manuseio.

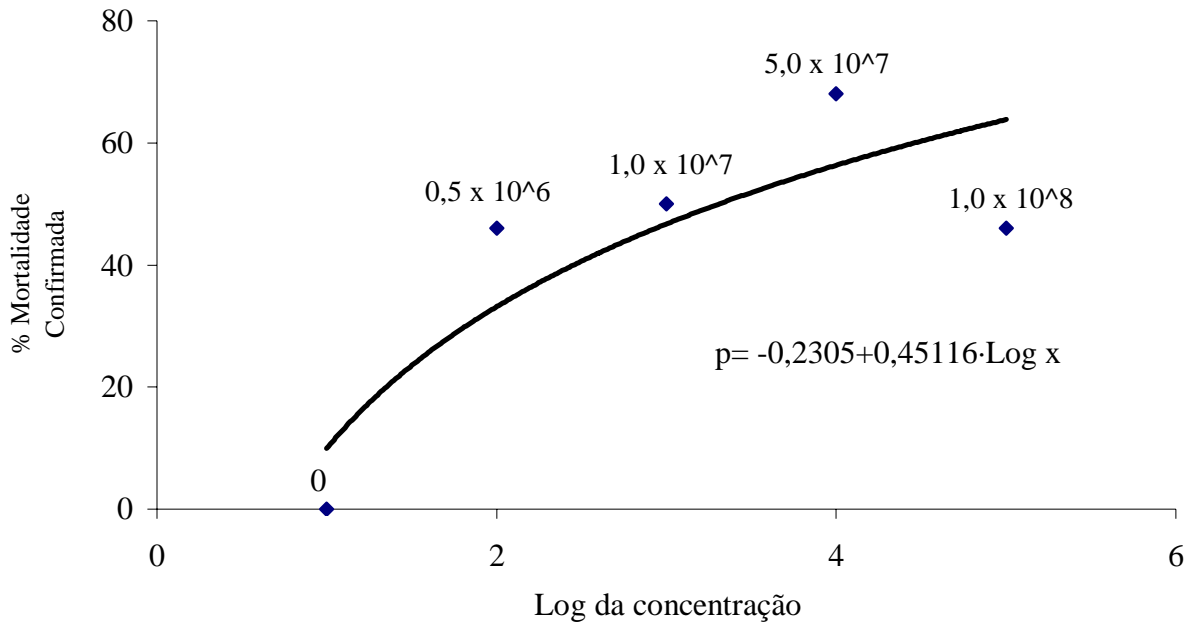


Figura 1. Mortalidade (%) das ninfas de *Mahanarva fimbriolata* quatro dias após aplicação com *Metarhizium anisopliae* (isolado IBCB 348), nas concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 e 1×10^8 conídios/mL ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e $70 \pm 10\%$ UR).

Levando-se em consideração que nos insetos mortos, onde o fungo não se desenvolveu, ocorreu uma septicemia, caracterizada pelo aspecto e odor, duas hipóteses que podem explicar essa situação quais sejam: o fungo possibilita a entrada de outros microorganismos (bactérias) através dos orifícios presentes na cutícula, no momento da penetração ou quando os conídios provocam o rompimento do tecido epitelial pela germinação/penetração ou pela liberação de toxinas que desestruturam a parede intestinal, possibilitando contaminação da hemolinfa. Também, a contaminação externa dos insetos pode ser maior quando são manipulados durante a instalação dos bioensaios.

A mortalidade indireta pode ser causada por diferentes fatores, que podem ou não ocorrer, tornando-a bastante variável. Ao contrário, a mortalidade direta ou confirmada representa o número de insetos nos quais o fungo esporulou, evidenciando a capacidade do fungo completar todo o seu ciclo dentro do hospedeiro (NEVES, 1998).

4.2 Seleção de isolados

Nos experimentos de seleção de isolados ocorreu uma variação na patogenicidade entre os isolados testados. Observando-se a Tabela 2, referente ao primeiro bioensaio, ocorreu variação de 16 a 54% para a mortalidade confirmada e de 94 a 100% para a mortalidade total, não tendo nenhum isolado provocado mortalidade confirmada acima de 70%. No segundo bioensaio apenas o isolado IBCB 348 causou mortalidade confirmada de 70% e a mortalidade corrigida variou de 0 a 100% aos seis dias da inoculação (Tabela 3). No terceiro bioensaio apenas o isolado IBCB 425 alcançou mortalidade confirmada de 70% e a mortalidade corrigida de 100% aos seis dias da inoculação (Tabela 4). No quarto bioensaio apenas o isolado IBCB 351 provou mortalidade confirmada de 70% aos seis dias da inoculação (Tabela 5). No quinto bioensaio os isolados IBCB 348, IBCB 363, IBCB 408, IBCB 410, IBCB 418 e IBCB 482 causaram alta mortalidade confirmada variando de 77 a 88% e também alta mortalidade corrigida de 100% (Tabela 6). Esta variação da patogenicidade é observada com certa freqüência em bioensaios de seleção, podendo estar associada a fatores como baixa virulência do isolado, especificidade, tolerância do hospedeiro, entre outros aspectos (ALVES, 1998).

O período que os fungos entomopatogênicos levam para provocar a morte de uma determinada espécie (tempo médio de incubação) varia em função de diversos fatores, dentre eles a espécie do hospedeiro, estágio de desenvolvimento, dentro de uma mesma família, etc.

A patogenicidade de *M. anisopliae* variou de 66 a 100% (mortalidade total) e 0 a 100% (mortalidade corrigida) aos seis dias da inoculação (Tabela 2 a 6). Resultados semelhantes foram encontrados por Moino Jr. et al. (1998), ao avaliar a patogenicidade de 72 isolados dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* a três espécies de insetos-praga de grãos armazenados. Os autores observaram uma grande variação nas mortalidades obtidas, isolados que foram totalmente ineficientes e outros que provocaram mortalidade confirmada de 100%. Almeida (1994) avaliou a patogenicidade de mais de cem isolados dos mesmos fungos ao cupim *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) (Isoptera: Rhinotermitidae). Foi selecionado o isolado 634 de *B. bassiana* que causou alta mortalidade confirmada no inseto e apresentou boa produção de conídios em diversos meios de cultura e

sobre o inseto teste. Outros autores, tais como, Almeida et al., (1997) e Neves (1998) para o controle de cupins, Tamai (2002) para o controle de ácaros.

Tabela 2. Mortalidade acumulada (confirmada e total) (%) no 4^o e 6^o dias após a pulverização de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em ninfas de *Mahanarva fimbriolata* (25±1°C, fotofase de 12 horas e 70±10% UR).

Isolados	Dias após a inoculação					
	4 dias			6 dias		
	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida
Testemunha	0,0	36,0	0,0	0,0	66,0	0,0
IBCB 171	16,0	68,0	50,0	22,0	98,0	94,1
IBCB 334	14,0	54,0	28,1	30,0	100,0	100,0
IBCB 345	34,0	80,0	68,8	44,0	98,0	94,1
IBCB 347	50,0	100,0	100,0	50,0	100,0	100,0
IBCB 348	44,0	78,0	65,6	54,0	100,0	100,0
IBCB 353	24,0	58,0	34,4	44,0	100,0	100,0
IBCB 374	38,0	84,0	75,0	44,0	100,0	100,0
IBCB 380	48,0	90,0	84,4	50,0	94,0	82,4
IBCB 383	16,0	60,0	37,5	18,0	100,0	100,0
IBCB 384	12,0	34,0	0,0	28,0	98,0	94,1
IBCB 391	14,0	62,0	40,6	28,0	100,0	100,0
IBCB 437	20,0	70,0	53,1	26,0	100,0	100,0
IBCB 438	10,0	64,0	43,8	16,0	100,0	100,0

Os valores de mortalidade confirmada variaram de 16% (Tabela 2) a 88% (Tabela 6), aos seis dias da inoculação para os 79 isolados testados. Apesar dos isolados IBCB 383; IBCB 384; IBCB 171; IBCB 391; IBCB 437; IBCB 438; IBCB 385; IBCB 250; IBCB 474 e IBCB 476 apresentarem uma mortalidade total acima de 85% e mortalidade corrigida variando de 50 a 100%, decorridos seis dias da inoculação, a mortalidade confirmada

foi baixa (Tabelas 2 a 6). Porém não são todos os insetos mortos que apresentam sinais característicos ou morreram com a penetração do fungo. Esse fato pode ser explicado devido à septicemia generalizada causada por bactérias, interferindo no crescimento vegetativo do fungo no interior dos insetos (Tabelas 2 a 6).

Tabela 3. Mortalidade acumulada (confirmada e total) (%) no 4^o e 6^o dias após a pulverização de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em ninfas de *Mahanarva fimbriolata* (25±1°C, fotofase de 12 horas e 70±10% UR).

Isolados	Dias após a inoculação					
	4 dias			6 dias		
	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida
Testemunha	0,0	60,0	0,0	0,0	90,0	0,0
IBCB 10	48,0	100,0	100,0	48,0	100,0	100,0
IBCB 103	50,0	90,0	75,0	50,0	100,0	100,0
IBCB 104	38,0	100,0	100,0	38,0	100,0	100,0
IBCB 116	46,0	100,0	100,0	46,0	100,0	100,0
IBCB 121	38,0	100,0	100,0	38,0	100,0	100,0
IBCB 138	42,0	100,0	100,0	42,0	100,0	100,0
IBCB 142	42,0	100,0	100,0	42,0	100,0	100,0
IBCB 250	22,0	100,0	100,0	22,0	100,0	100,0
IBCB 348	64,0	92,0	80,0	70,0	100,0	100,0
IBCB 385	30,0	88,0	70,0	30,0	88,0	0,0
IBCB 462	40,0	98,0	95,0	40,0	100,0	100,0
IBCB 470	44,0	100,0	100,0	44,0	100,0	100,0
IBCB 471	44,0	98,0	95,0	44,0	100,0	100,0
IBCB 472	50,0	100,0	100,0	50,0	100,0	100,0
IBCB 474	18,0	100,0	100,0	18,0	100,0	100,0
IBCB 475	46,0	98,0	95,0	48,0	100,0	100,0
IBCB 479	50,0	100,0	100,0	50,0	100,0	100,0
IBCB 481	30,0	98,0	95,0	30,0	100,0	100,0

Tabela 4. Mortalidade acumulada (confirmada e total) (%) no 4^o e 6^o dias após a pulverização de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em ninfas de *Mahanarva fimbriolata* (25±1°C, fotofase de 12 horas e 70±10% UR).

Isolados	Dias após a inoculação					
	4 dias			6 dias		
	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida
Testemunha	0,0	56,0	0,0	0,0	86,0	0,0
IBCB 333	42,0	92,0	81,8	48,0	100,0	100,0
IBCB 348	60,0	94,0	86,4	64,0	100,0	100,0
IBCB 358	42,0	86,0	68,2	52,0	100,0	100,0
IBCB 361	34,0	90,0	77,3	40,0	100,0	100,0
IBCB 362	44,0	84,0	63,6	48,0	100,0	100,0
IBCB 364	42,0	88,0	72,7	44,0	100,0	100,0
IBCB 417	38,0	86,0	68,2	50,0	100,0	100,0
IBCB 423	28,0	82,0	59,1	34,0	100,0	100,0
IBCB 425	46,0	66,0	22,7	70,0	100,0	100,0
IBCB 426	48,0	80,0	54,5	52,0	88,0	14,3
IBCB 427	44,0	84,0	63,6	50,0	100,0	100,0
IBCB 429	36,0	88,0	72,7	38,0	100,0	100,0
IBCB 439	36,0	82,0	59,1	36,0	100,0	100,0
E 9	40,0	90,0	77,3	44,0	100,0	100,0
E 9 (19)	46,0	86,0	68,2	50,0	98,0	85,7
ESALQ 1037	38,0	82,0	59,1	48,0	100,0	100,0
E 601	40,0	82,0	59,1	46,0	100,0	100,0
N ^o 20-Unicamp	46,0	78,0	50,0	56,0	100,0	100,0
PL 26	44,0	86,0	68,2	50,0	100,0	100,0
PL 43	54,0	94,0	86,4	54,0	100,0	100,0
PL 49	48,0	88,0	72,7	56,0	100,0	100,0
SPL 358	52,0	84,0	63,6	56,0	100,0	100,0

Tabela 5. Mortalidade acumulada (confirmada e total) (%) no 4^o e 6^o dias após a pulverização de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em ninfas de *Mahanarva fimbriolata* (25±1°C, fotofase de 12 horas e 70±10% UR).

Isolados	Dias após a inoculação					
	4 dias			6 dias		
	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida
Testemunha	0,0	48,0	0,0	0,0	88,0	0,0
IBCB 348	34,0	46,0	0,0	66,0	88,0	0,0
IBCB 351	38,0	50,0	3,8	70,0	100,0	100,0
IBCB 382	36,0	60,0	23,1	56,0	100,0	100,0
IBCB 400	34,0	66,0	34,6	48,0	94,0	50,0
IBCB 420	42,0	94,0	88,5	44,0	100,0	100,0
IBCB 428	26,0	48,0	0,0	44,0	92	33,3
IBCB 439	40,0	92,0	84,6	44,0	100,0	100,0
IBCB 440	38,0	50,0	3,8	40,0	88,0	0,0
IBCB 476	8,0	48,0	0,0	18,0	94,0	50,0
IBCB 477	38,0	84,0	69,2	40,0	100,0	100,0
IBCB 480	32,0	84,0	69,2	36,0	100,0	100,0
IBCB 489	32,0	58,0	19,2	48,0	100,0	100,0

Na fase de seleção é possível descartar materiais pouco virulentos e com baixa capacidade de penetração e germinação (Moino Jr., 1993), deixando isolados com potencial para uma avaliação mais precisa de sua virulência. Assim, nesta fase, optou-se pela seleção baseada na mortalidade confirmada ($\geq 70\%$), e produção de conídios em meio sólido.

A escolha da mortalidade confirmada como parâmetro de seleção deve-se ao fato de que os fungos diferem fundamentalmente dos produtos fitossanitários de origem química, devido à capacidade de aumento da densidade do patógeno por meio da transmissão da doença, repetindo o ciclo por meio da população hospedeira (HAJEK & ST. LEGER, 1994).

Tabela 6. Mortalidade acumulada (confirmada e total) (%) no 4^o e 6^o dias após a pulverização de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* em ninfas de *Mahanarva fimbriolata* (25±1°C, fotofase de 12 horas e 70±10% UR).

Isolados	Dias após a inoculação					
	4 dias			6 dias		
	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida	Mortalidade Confirmada	Mortalidade Total	Mortalidade Corrigida
Testemunha	0,0	52,0	0,0	0,0	88,0	0,0
IBCB 160	48,0	88,0	75,0	56,0	100,0	100,0
IBCB 323	54,0	82,0	62,5	62,0	98,0	83,3
IBCB 348	70,0	86,0	70,8	80,0	100,0	100,0
IBCB 363	54,0	60,0	16,7	88,0	100,0	100,0
IBCB 390	40,0	64,0	25,0	64,0	100,0	100,0
IBCB 398	44,0	76,0	50,0	60,0	100,0	100,0
IBCB 407	46,0	78,0	54,2	62,0	100,0	100,0
IBCB 408	52,0	84,0	66,7	70,0	100,0	100,0
IBCB 410	62,0	80,0	58,3	80,0	100,0	100,0
IBCB 411	52,0	82,0	62,5	64,0	100,0	100,0
IBCB 412	42,0	90,0	79,2	48,0	100,0	100,0
IBCB 414	56,0	84,0	66,7	66,0	100,0	100,0
IBCB 416	46,0	78,0	54,2	60,0	100,0	100,0
IBCB 418	58,0	74,0	45,8	78,0	100,0	100,0
IBCB 419	52,0	78,0	54,2	60,0	92,0	33,3
IBCB 478	48,0	74,0	45,8	64,0	100,0	100,0
IBCB 482	58,0	78,0	54,2	80,0	100,0	100,0
BC 248	52,0	90,0	79,2	58,0	100,0	100,0
BC 249	54,0	80,0	58,3	64,0	100,0	100,0

De maneira geral apenas 17 isolados, dos 79 testados, provocaram mortalidade total inferior a 70% no quarto dia após a pulverização (Tabelas 2 a 6). O aparecimento de insetos mortos ocorre, principalmente, a partir do quarto dia da inoculação, o que corresponde ao segundo e terceiro dias após a fase de penetração, consequência das

diferenças de população, alterações no tempo de manipulação do inseto e outros fatores (ALVES, 1998).

A rapidez com que o patógeno mata seu hospedeiro é uma característica desejável para o controle de muitas pragas agrícolas, contudo, não deve ser considerada como única. É de extrema importância também que o isolado seja capaz de proporcionar elevada mortalidade final, exigindo desta maneira pulverizações menos frequentes e possibilitando reduzir os custos de controle das pragas (TAMAI, 2002).

Para insetos sociais como cupins e formigas o efeito rápido do inseticida (químico ou biológico) não é uma característica desejada, pois estes insetos apresentam comportamento de proteção de colônia que envolve o isolamento dos indivíduos doentes do restante da colônia, impedindo desta forma a transmissão e/ou disseminação do inseticida entre os indivíduos sadios.

A maioria dos 27 isolados provenientes de espécies de cigarrinha de diferentes regiões do país apresentou comportamento semelhante entre si, com baixos valores de mortalidade confirmada ao quarto e sexto dia, sendo os dois únicos isolados IBCB 348 e IBCB 363 os que apresentaram mortalidade confirmada de 80 e 88%, respectivamente, (Tabela 6). Portanto, para permitir uma comparação mais exata dos resultados de cada isolado, desse experimento, foi utilizado como padrão, o isolado IBCB 348 em cada bioensaio. De acordo com Vestergaard et al. (1995), a patogenicidade independe do hospedeiro ou local de origem do isolado. A baixa porcentagem de mortalidade confirmada verificada nos bioensaios pode estar relacionada com a variabilidade genética de cada isolado.

Macedo et al. (2003a) estudaram a patogenicidade dos produtos comerciais Metarril e Biocerto, bioinseticidas utilizados comercialmente para o controle de cigarrinhas. Aos 5 dias da pulverização, as mortalidades corrigidas chegaram a 65%, sendo Metarril (formulado com o isolado ESALQ 1037) o mais eficiente e promissor para o controle de *M. fimbriolata*.

Os isolados PL 43, E 9, ESALQ 1037 e IBCB 10 causaram mortalidade total, decorridos quatro dias da pulverização, de 94, 90, 82 e 100% e baixos valores de mortalidade confirmada (Tabela 3 e 4), não sendo selecionados para o controle de ninfas de *M. fimbriolata*, diferentemente do observado por Mendonça et al. (2001), com alta mortalidade do isolado PL 43. Arruda & Mendonça (2003) citam que o isolado PL 43 é

altamente eficaz, reduzindo a população de *M. fimbriolata* níveis abaixo de 5 ninfas/m linear. Para *M. posticata* os isolados PL 43 e PL 26 causaram 86% de mortalidade (IAA/PLANALSUCAR, 1982).

Para outras espécies de insetos, os isolados E 9 e ESALQ 1037 foram altamente virulentos a ninfas de mosca-branca (HERRERA, 1995 e RAMOS, 2001) e para o ácaro rajado *T. urticae* (TAMAI, 2002). Já o isolado PL 43 provocou 83,3% de mortalidade às ninfas de *F. occidentalis* (LOPES, 1999).

O isolado IBCB 348, utilizado como padrão nos cinco bioensaios de seleção, apresentou variações de mortalidade confirmada e total de 54 a 80% e 88 a 100%, respectivamente, ao sexto dia da aplicação. A mortalidade corrigida foi de 100%, em quatro, dos cinco bioensaios estudados. Essa variação pode ser explicada por conseqüências das diferenças de população, alterações no tempo de manipulação do inseto e outros fatores. Portanto, para permitir uma comparação mais adequada, cada isolado foi comparado com os resultados obtidos pelo padrão IBCB 348 daquele teste (Tabelas 2 a 6). O referido isolado já foi selecionado como promissor no programa de controle microbiano. Este isolado é produzido em larga escala por biofábricas e usinas no estado de São Paulo (ALMEIDA et al., 2003a; MACEDO et al., 2003a). O isolado é aplicado contra ninfas da cigarrinha-da-raiz em cana-de-açúcar, com corte mecanizado, proporcionando altos níveis de controle de até 85%, quando comparado aos resultados observados pelos produtos fitossanitários químicos (ALMEIDA et al., 2002a e BATISTA FILHO et al., 2002).

Macedo et al. (2003a) estudaram a patogenicidade de 22 isolados de *M. anisopliae*, isolados das espécies de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *M. fimbriolata* e cigarrinha-da-folha *M. posticata*, observando 5 dias da pulverização que as mortalidades corrigidas variaram de 20 a 65%, sendo os isolados IBCB 348, ESALQ 1285, IBCB 345 e IBCB 384 os mais patogênicos e promissores para o controle de *M. fimbriolata*. Tamai (2002) observou que o isolado IBCB 348 promoveu mortalidade superior a 90% ao ácaro *T. urticae*, pós 5 dias da pulverização, em condições de laboratório.

Os isolados IBCB 425 (Tabela 4), IBCB 351 (Tabela 5) e IBCB 348, IBCB 363, IBCB 408, IBCB 410, IBCB 418 e IBCB 482 (Tabela 6) causaram mortalidade confirmada acima de 70%. Ocorreu um aumento considerável na taxa de mortalidade confirmada das ninfas após o quarto dia da inoculação. Esta capacidade de isolado produzir

propágulos do patógeno é um aspecto importante e que pode levar ao desencadeamento de epizootias em campo, uma vez que, em condições ambientais favoráveis, mantém ou aumenta o potencial de inóculo em uma determinada área (ALVES & LECUONA, 1998). Foi possível observar no quarto dia após a inoculação, ninfas de cigarrinhas com sintomas de infecção, as quais em poucas horas depois seriam mortas pelo patógeno. Este fato pode ser explicado devido às características do microrganismo, como tempo de germinação e colonização, os quais são variáveis e podem determinar a virulência do isolado e seu tempo de incubação necessário para que promova a morte do hospedeiro (ALVES, 1998).

Em contrapartida, os isolados IBCB 348, IBCB 351, IBCB 363, IBCB 408, IBCB 410, IBCB 418, IBCB 425 e IBCB 482 estão relacionados à baixa mortalidade total no 4º dia da pulverização (Tabelas 4, 5 e 6). Segundo Pacola-Meirelles & Azevedo (1990) e Kleespies & Zimmermann (1994) a variabilidade dos isolados é resultado das diferenças na produção de enzimas (amilase, protease, lipase) e toxinas, na velocidade de germinação dos conídios, na atividade mecânica de penetração na cutícula e na capacidade de colonização dos isolados.

Observando-se a Figura 2, verificou-se que a maioria dos isolados causou mortalidade confirmada entre 41 a 50% para o 4º e 6º dias, respectivamente, após a pulverização sobre as ninfas de *M. fimbriolata*. Até o 4º dia a mortalidade máxima obtida pelos isolados variou de 61 a 70%, enquanto que para o 6º dia, a mortalidade máxima foi ao redor de 81 a 90%.

Após os processos de adesão, germinação e penetração do patógeno no hospedeiro, os insetos apresentaram o tegumento flácido e com pigmentação leitosa, provocada provavelmente pelos metabólitos secundários como as destruxinas produzidas por vários fungos (ALVES, 1998). Estes metabólitos diminuem a resposta imunológica das células do hospedeiro. Estas características são semelhantes às descritas por Vestergaard et al. (1999) em relação a esse patógeno. Após a colonização total dos insetos pelo fungo, os insetos infectados tornam-se rijos e recobertos por uma grande quantidade de conídios de coloração variando de verde claro a escuro e verde-acinzentado (ALVES, 1998). Essas características também foram visíveis para as ninfas de *M. fimbriolata* tratadas com os diferentes isolados de *M. anisopliae*.

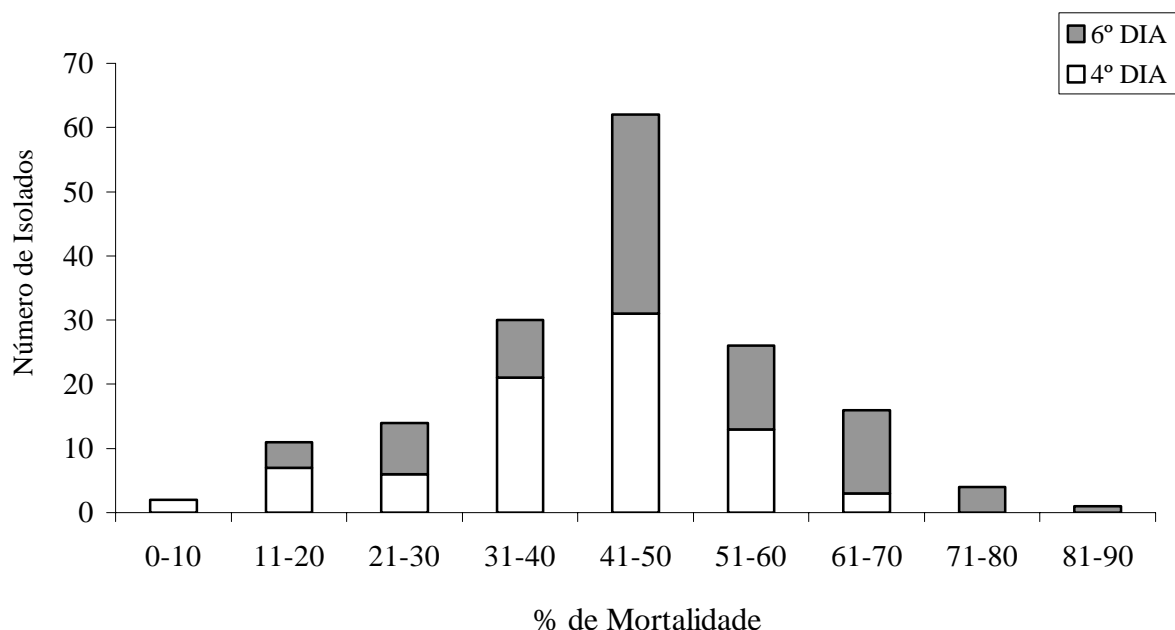


Figura 2. Distribuição de freqüência de isolados de *Metarhizium anisopliae* em relação à mortalidade confirmada causada em ninfas de *Mahanarva fimbriolata*.

Os isolados selecionados, que proporcionaram mortalidade confirmada superior ou igual a 70% no sexto dia de observação, foram IBCB 348, IBCB 351, IBCB 363, IBCB 408, IBCB 410, IBCB 418, IBCB 425, IBCB 482 (Tabelas 4, 5 e 6). Embora os oito isolados de *M. anisopliae* tenham proporcionado alta patogenicidade, outras características desejáveis precisam ser estudadas para que possam ser utilizados nas formulações de produtos a serem desenvolvidos para o controle de *M. fimbriolata*. Uma dessas características é a máxima produção de conídios. Dessa maneira, esses isolados foram submetidos à análise de produção de conídios em arroz pré-cozido e autoclavado.

4.3 Produção em meio de arroz pré-cozido

Os isolados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 foram os mais produtivos, não diferindo estatisticamente entre si, com rendimentos de $2,08 \times 10^8$; $1,75 \times 10^8$; $2,22 \times 10^8$ e $2,30 \times 10^8$ conídios/grama de arroz, respectivamente, (Tabela 7). Estes isolados, exceto IBCB 408, diferiram estatisticamente dos isolados IBCB 418; IBCB 351; IBCB 363 e IBCB 482 (Tabela 7).

Tabela 7. Produção média de (conídios/grama) de arroz esporulado e viabilidade de isolados do fungo *Metarhizium anisopliae* (T=25±1 °C; UR= 70±10%; fotofase de 12 horas).

Isolados	Produção de conídios (x 10 ⁸) ^{1,2} (± EP)*	Viabilidade (%) ¹ (± EP)*
IBCB 348	2,08 ± 0,28 a	99,29 ± 0,25 a
IBCB 351	0,92 ± 0,07 b	97,08 ± 0,43 a
IBCB 363	0,87 ± 0,04 b	97,71 ± 0,42 a
IBCB 408	1,75 ± 0,30 ab	99,21 ± 0,27 a
IBCB 410	2,22 ± 0,33 a	98,17 ± 0,46 a
IBCB 418	0,96 ± 0,03 b	97,92 ± 0,47 a
IBCB 425	2,30 ± 0,31 a	99,33 ± 0,26 a
IBCB 482	0,86 ± 0,03 b	80,33 ± 3,84 b
CV (%)	35,74	7,81

* Erro padrão da média.

¹ Médias seguidas por letras distintas, nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey .

² Dados transformados por $\sqrt{x+0,5}$

Alves & Pereira (1989) obtiveram um rendimento de conídios, variando de 6,0 a 11,0% de arroz + fungo com $1,0 \times 10^{10}$ conídios/grama de arroz + fungo produzidos por meio do método de bandeja. Esta produção de *M. anisopliae* foi 1000 vezes superior quando comparada à produção dos isolados IBCB 425; IBCB 410; IBCB 348 e IBCB 408, com valores de valores de $2,30 \times 10^8$; $2,22 \times 10^8$; $2,08 \times 10^8$ e $1,75 \times 10^8$ conídios/grama de arroz+fungo, respectivamente. Mendonça & Costa (1987) testaram a linhagem PL 191 de *M. anisopliae*, inoculando-se 10 mL de suspensão com $1,0 \times 10^8$ conídios/mL em 100 g de arroz parboilizado e 35% de água destilada. Após 18 dias de incubação, obteve-se um rendimento de conídios por grama de substrato ao redor de 12,8%.

Neves (1998) não obteve diferença significativa entre o isolado E 9 com rendimento de $1,54 \times 10^9$ conídios/g de arroz + fungo e os isolados ESALQ 1037, ESALQ 1097 com rendimento de $3,37 \times 10^9$ e $1,04 \times 10^9$ conídios/g, respectivamente. Esses isolados foram selecionados para o controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae). Alves & Pereira (1989) obtiveram, para o isolado ESALQ 1037, uma produção de $8,13 \times 10^8$ conídios/g. Já Fernandes (1991) verificou para os isolados 865, 866 e 259, produção da ordem de $3,23 \times 10^9$, $2,35 \times 10^9$ e $2,45 \times 10^9$ conídios/g.

Takada (2002) observou rendimento de $2,40 \times 10^8$, $2,32 \times 10^8$, $2,25 \times 10^8$ e $7,0 \times 10^6$ conídios/g de arroz + fungo, para os isolados IBCB 104, IBCB 233, IBCB 103 e E 9, respectivamente. Os dados desse autor apresentaram uma distribuição muito semelhante, utilizando-se a mesma técnica de produção, aos dados obtidos nessa pesquisa quando comparados aos demais relatados na literatura.

A diferença na produção de conídios para os isolados selecionados no presente trabalho quando comparada a isolados que produzem na ordem de $1,0 \times 10^9$ conídios/g (ALVES & PEREIRA, 1989; NEVES, 1998) pode estar relacionada, entre outras causas, a dificuldade de se reproduzir, entre um experimento e outro, todas as condições disponíveis para o crescimento dos fungos no arroz, tais como: teor de umidade e tempo de cozimento do arroz, variação na temperatura da sala de incubação e nível de contaminação (TAMAI, 1997). Somando-se a essas diferenças, são levados em conta, também, a técnica de produção, intervalos da avaliação, variedades de arroz, diferentes condições de armazenamento e vigor do isolado (ALVES, 1998). Entretanto, estes resultados são importantes para a comparação da produção de isolados dentro do mesmo experimento.

Quanto à viabilidade dos conídios de *M. anisopliae*, apenas o isolado IBCB 482 teve menor porcentagem de germinação, ao redor de 80,3%. Os isolados IBCB 425; IBCB 348 e IBCB 408 apresentaram, respectivamente, 99,33; 99,29 e 99,21% de germinação (Tabela 7). Esses valores foram semelhantes aos encontrados por Alves & Pereira (1989), sendo observada a viabilidade dos conídios de *M. anisopliae* variando de 90 a 100%.

Os isolados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 produziram maior quantidade de conídios que os demais isolados testados. Dessa maneira, os quatro isolados são os mais adequados para a produção pela técnica desenvolvida por Alves & Pereira (1989). Estudos adicionais são necessários para o desenvolvimento de formulação e técnica de produção massal tendo em vista o estabelecimento de programas de controle microbiano de *M. fimbriolata*.

4.4. Avaliação, em condições de campo, da eficiência dos isolados selecionados de *Metarhizium anisopliae*.

Na contagem de ninfas de cigarrinha-da-raiz, presentes em um metro linear de sulco de plantio, pode-se constatar que 15 dias após a pulverização havia uma população menor que 0,5 ninfas/metro linear, portanto, muito inferior ao nível de controle (5 ninfas/metro). Não houve diferença entre os tratamentos, observando-se uma baixa população de ninfas/metro linear (Tabela 8).

Quanto ao número de adultos vivos não ocorreram diferenças entre os tratamentos e também com relação à testemunha. Apenas nas parcelas onde foi pulverizado o isolado IBCB 410 foram observados 0,24 adultos/cana (Tabela 9).

Com relação à eficiência do patógeno, foi observado que os isolados IBCB 348 e IBCB 408 causaram mortalidade para ninfas de 100 e 100%, respectivamente, 15 dias da pulverização. Para os adultos, esses mesmos isolados não apresentaram eficiência. Os isolados IBCB 410 e IBCB 425 apresentaram eficiência de 51%, respectivamente, tanto para controlar as ninfas e os adultos (Figura 3).

Tabela 8. Número médio de ninfas de cigarrinha-da-raiz *Mahanarva fimbriolata*, por metro linear de cana-de-açúcar em parcelas da cultura tratadas com diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae*, aplicados em novembro, 2002 (Catanduva, SP).

Tratamentos (n=4) ^{1 e 2}	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
<i>M. anisopliae</i> IBCB 348	0,00±0,00* a	4,68±0,20 a	23,75±0,34 a	42,63±0,29 a	49,32±0,21 b	2,53±0,10 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 408	0,00±0,00 a	3,08±0,14 a	21,26±0,25 a	22,80±0,11 a	39,02±0,17 ab	1,66±0,07 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 410	0,24±0,02 a	6,98±0,19 a	17,88±0,29 a	30,50±0,18 a	42,23±0,15 ab	0,72±0,04 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 425	0,24±0,02 a	3,18±0,12 a	13,63±0,25 a	38,80±0,11 a	33,45±0,03 ab	0,98±0,04 a
Testemunha	0,49±0,03 a	8,33±0,21 a	26,41±0,20 a	32,87±0,33 a	31,53±0,14 a	1,18±0,07 a
Blocos	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
<i>M. anisopliae</i> IBCB 348	0,19±0,02 a	3,28±0,13 ab	13,91±0,50 a	34,19±0,24 a	39,54±0,05 b	2,36±0,09 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 408	0,00±0,00 a	0,98±0,02 a	12,79±0,24 a	34,17±0,09 a	24,61±0,05 a	0,96±0,04 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 410	0,59±0,02 a	8,85±0,15 b	45,79±0,14 b	36,17±0,12 a	51,28±0,18 b	0,77±0,03 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 425	0,00±0,00 a	8,95±0,18 b	17,53±0,31 a	39,37±0,23 a	43,55±0,06 b	1,55±0,04 a
CV (%)	1,35	11,27	11,31	11,68	5,29	5,63

* Erro padrão da média.

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna pelo teste de Duncan 5%.

² Dados originais. Dados transformados por $\log x + 10$.

Aos 15 a 20 dias da pulverização com *M. anisopliae* a porcentagem de mortalidade das ninfas e dos adultos de *M. posticata* pode chegar acima de 80%, nas áreas de maior contato com a suspensão dos conídios (GUAGLIUMI, 1971). Lopes et al. (2002) avaliaram a eficiência do produto Metarril PM, formulado com *M. anisopliae* (isolado ESALQ-1037). Na concentração de 4Kg/ha o controle foi semelhante ao obtido no tratamento com Furadan 350, em torno de 80%. Esses dados são semelhantes aos obtidos no presente estudo.

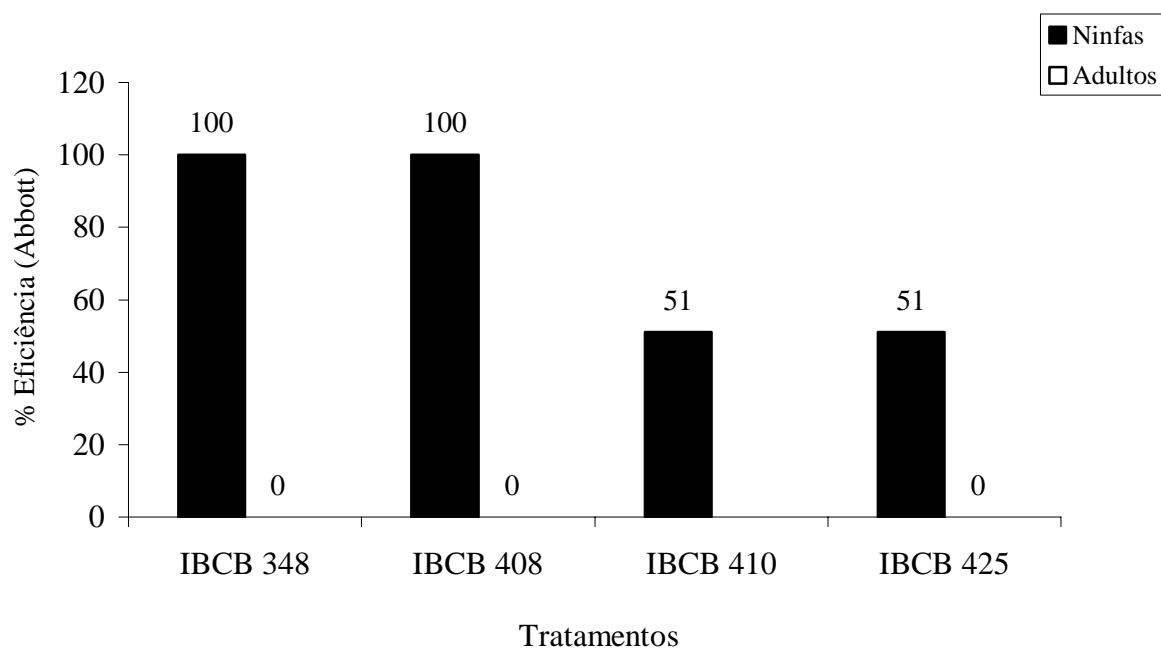


Figura 3. Eficiência de controle de ninfas e adultos de *Mahanarva fimbriolata*, 15 dias após a aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Catanduva-SP, 2002).

Aos 30 dias da aplicação, os isolados testados não diferiram entre si e nem quando comparados aos valores ninfas/metro linear da testemunha (Tabela 8). Apenas os tratamentos com o isolado IBCB 410 e a testemunha, obtiveram uma população de ninfas acima do nível de controle (5 ninfas/metro linear). Com relação ao número de adultos vivos não ocorreram diferenças entre os tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9. Número médio de adultos de cigarrinha-da-raiz *Mahanarva fimbriolata*, por metro linear de cana-de-açúcar em parcelas da cultura tratadas com diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae*, aplicados em novembro, 2002 (Catanduva, SP).

Tratamentos (n=4) ^{1 e 2}	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias
<i>M. anisopliae</i> IBCB 348	0,00±0,00* a	0,00±0,00 a	0,47±0,04 a	0,98±0,04 a	1,46±0,04 a	0,00±0,00 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 408	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,49±0,03 a	0,74±0,02 a	0,72±0,04 a	0,00±0,00 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 410	0,24±0,02 a	0,00±0,00 a	0,62±0,03 a	0,74±0,02 a	1,22±0,04 a	0,00±0,00 a
<i>M. anisopliae</i> IBCB 425	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,72±0,04 a	0,98±0,04 a	0,93±0,06 a	0,00±0,00 a
Testemunha	0,00±0,00 a	0,51±0,03 a	0,24±0,02 a	0,71±0,04 a	1,96±0,04 a	0,24±0,02 a
CV (%)	1,00	0,98	3,10	2,90	3,61	1,00

* Erro padrão da média.

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna pelo teste de Duncan 5%.

² Dados originais. Dados transformados por $\log x + 10$.

O isolado IBCB 348 teve sua eficiência reduzida apresentando apenas 43,82% de controle para ninfas, aos 30 dias da pulverização. Os isolados IBCB 408 e IBCB 425 apresentaram eficiência de controle de 63 e 62%, respectivamente para as ninfas (Figura 4). Esses dados foram superiores aos encontrados por Lopes et al. (2002) que observaram a eficiência do produto Metarril PM, sendo que para as concentrações de 2 e 3kg/ha o controle da ninfas foi de 35 e 55%, respectivamente.

A eficiência de controle para os adultos foi de 100% para todos os isolados testados na avaliação aos 30 dias da pulverização do patógeno. Fato interessante ocorreu com a eficiência do isolado IBCB 410 que, para as ninfas, foi muito baixa (16,20%) e para os adultos foi observada uma eficiência de 100%. De maneira geral, os isolados foram eficientes para os adultos de *M. fimbriolata* e para as ninfas, foi menor quando comparados aos valores da avaliação decorridos 15 dias da pulverização (Figura 4). Essa baixa eficiência é devido ao aumento da temperatura e baixa precipitação ocorridas durante o período de avaliação (15 dias após a aplicação), podendo ser visualizado nas Figuras 5 e 6. A rápida perda de viabilidade dos conídios pela radiação ultravioleta tem sido referida como um dos fatores capazes de reduzir a eficiência de *M. anisopliae* no controle de pragas. Braga et al. (2001) relataram que a radiação ultravioleta (UVB) reduziu fortemente a viabilidade e desenvolvimento de conídios de trinta isolados de *Metarhizium* spp. O efeito foi proporcional ao tempo de exposição e intensidade da radiação, sendo que a exposição direta por poucas horas aos níveis de radiação que ocorrem naturalmente ao longo das estações do ano inativam a maioria dos conídios dos isolados, assim como a temperatura alta é outro fator muito importante.

Dados de eficiência para as ninfas (43,82 a 63%) foram semelhantes aos obtidos por Guagliumi (1971), observando que aos de 30 dias da pulverização encontrou 60 a 65% de eficiência em ninfas e adultos de *M. posticata*, consequência da nova esporulação do fungo que se reproduziu nos insetos atacados pela pulverização direta.

Aos 60 dias da pulverização, os isolados IBCB 410 e IBCB 425 foram os que mantiveram o número de ninfas/metro linear abaixo do proporcionado pelos isolados IBCB 348 e IBCB 408 e da testemunha (Tabela 8). No geral, observou-se que decorridos 60 dias da pulverização, possivelmente, devido às altas temperaturas e baixa umidade relativa do

ar, o fungo não foi eficiente para controlar a praga, tendo uma nova reinfestação. Outro fator que também se deve levar em conta é a ocorrência da segunda geração de ninfas que poderá ser em dezembro/janeiro ou janeiro/fevereiro, quando a temperatura e umidade relativa são elevadas (EL-KADI, 1977), responsáveis pela maioria dos danos à cultura (GUAGLIUMI, 1971; ALMEIDA, 2001).

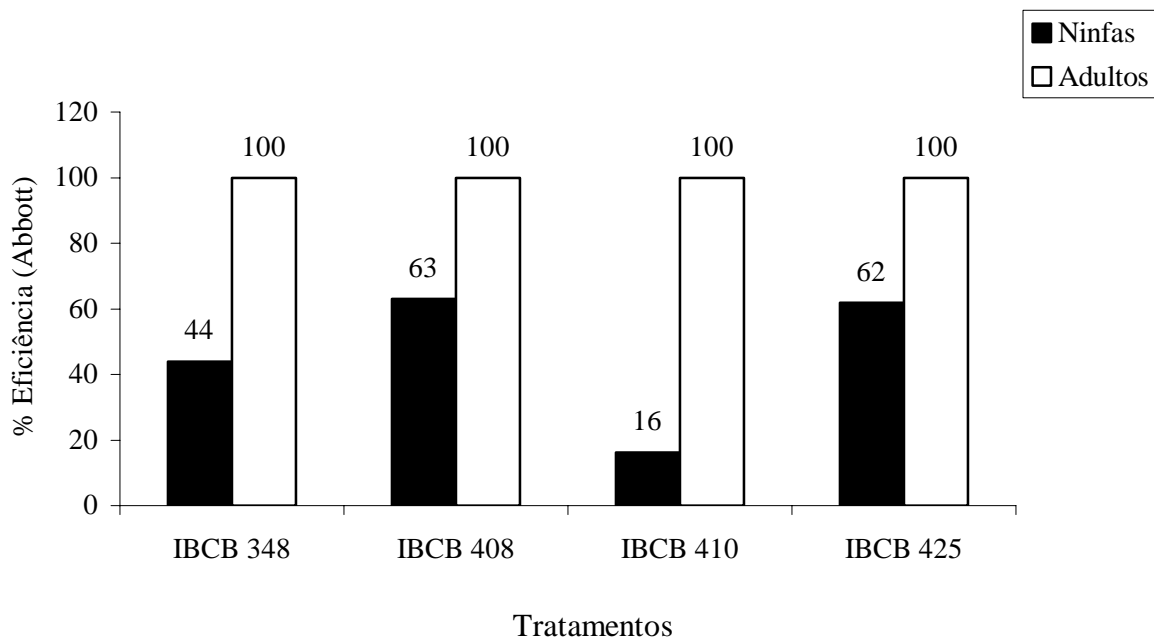


Figura 4. Eficiência de controle de ninfas e adultos de *Mahanarva fimbriolata*, 30 dias após a aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Catanduva-SP, 2002).

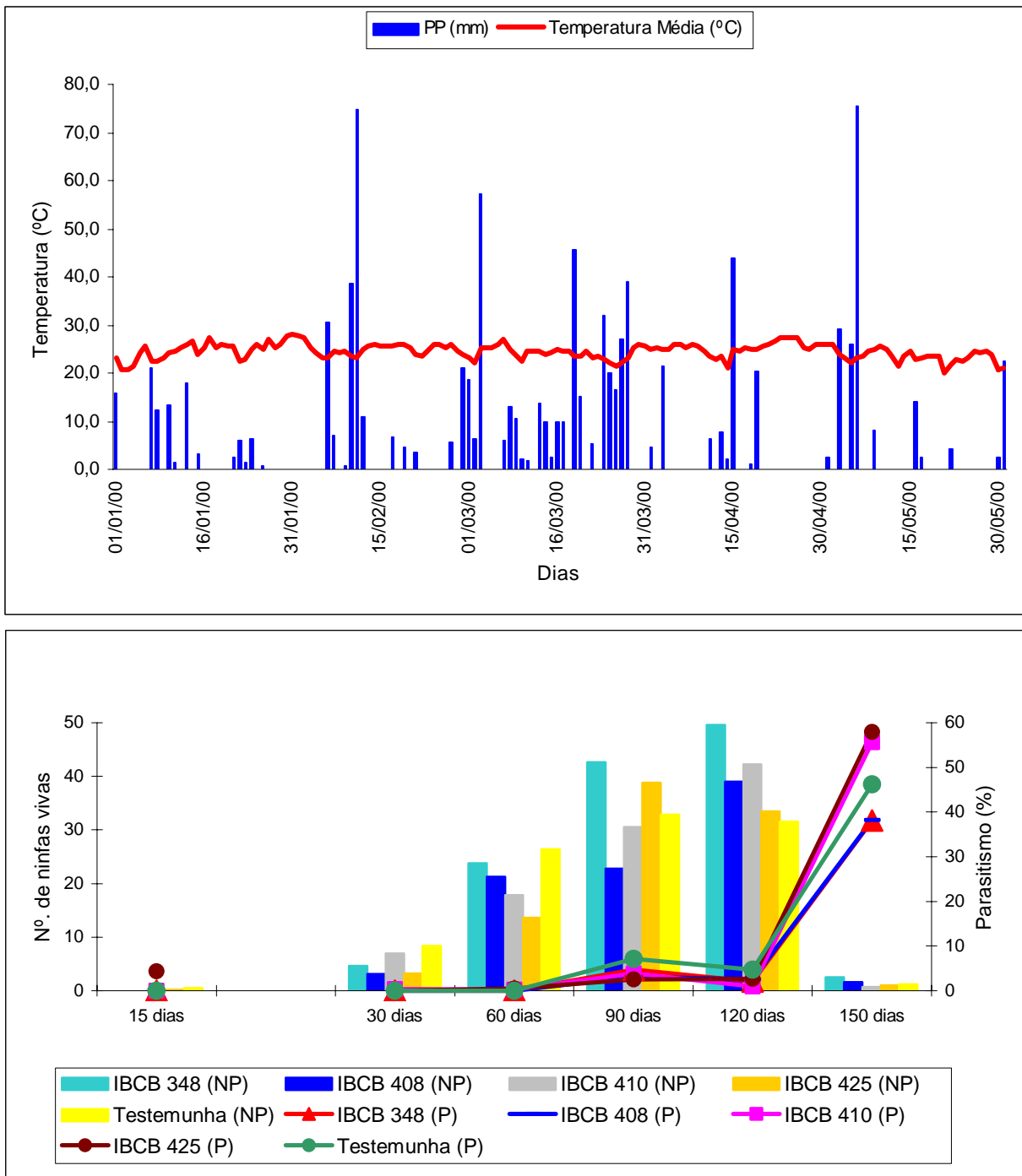


Figura 5. Número médio de ninfas vivas por metro linear de *Mahanarva fimbriolata* (NP), porcentagem de insetos parasitados (P) pelos isolados de *Metarhizium anisopliae*, temperatura média e precipitação de novembro de 2002 a abril de 2003 (Catanduva-SP).

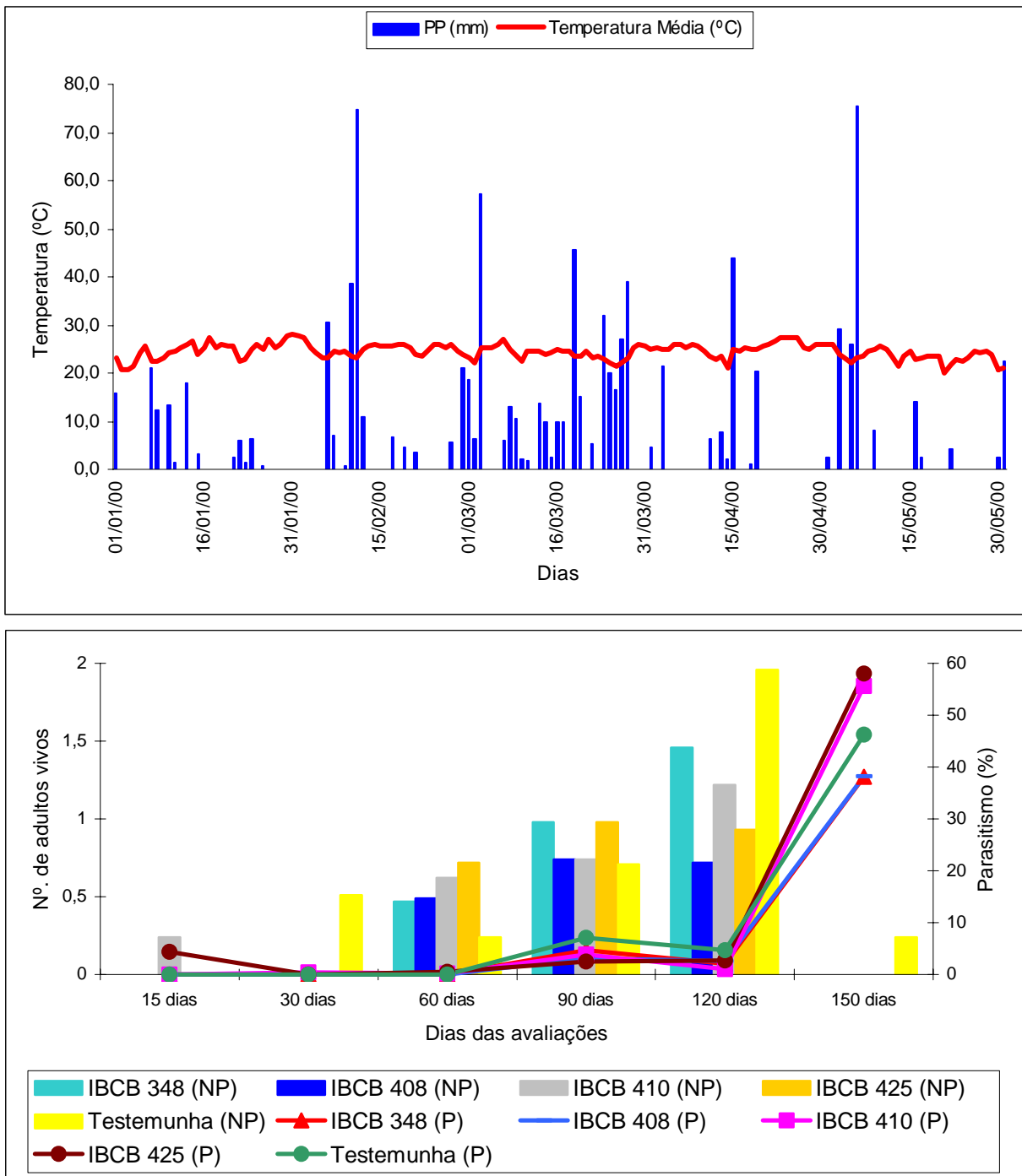


Figura 6. Número médio de adultos vivos por metro linear de *Mahanarva fimbriolata* (NP), porcentagem de insetos parasitados (P) pelos isolados de *Metarhizium anisopliae*, temperatura média e precipitação de novembro de 2002 a abril de 2003 (Catanduva-SP).

Observando-se a Tabela 9, aos 60 dias da pulverização, não foi encontrada diferença estatística entre os tratamentos, e apenas para os isolados IBCB 348 e IBCB 408 e as parcelas da testemunha com 0,47; 0,49 e 0,21 adulto/cana, respectivamente, ficando abaixo do nível de controle que varia de 0,5 a 0,75 adulto/cana.

A eficiência de controle para as ninfas, aos 60 dias da pulverização, variou de 10 a 48% para os isolados IBCB 348 e IBCB 425, respectivamente (Figura 7). Guagliumi (1971) obteve uma mortalidade de ninfas de *M. posticata* de 50%, resultados próximos aos obtidos no presente estudo. Reis (1983) obteve 17% de eficiência para o controle de *Notuzulia entreriana* (Hemiptera: Cercopidae) no norte de Minas Gerais. Estes resultados são considerados altos, pois, realizou-se apenas uma aplicação do fungo. Para os adultos não ocorreu eficiência de controle, para todos os isolados testados, dado diferente destes foi observado por Guagliumi (1971) que obteve uma média de mortalidade de ninfas e adultos de *M. posticata* de 35%. Entretanto, Almeida et al. (2002b), avaliando concentrações diferentes do fungo *M. anisopliae* (isolados IBCB 10 e ESALQ 1037), verificaram 100% de eficiência nas parcelas tratadas com o entomopatógeno aos 60 dias da aplicação.

De modo geral, não ocorreram diferenças estatísticas entre os isolados testados podendo correlacionar com as condições climáticas, observou-se durante o período de avaliação um aumento da precipitação em relação à amostragem aos 30 dias da aplicação (Figuras 5 e 6). Temperaturas altas e baixas precipitações também afetam a conidiogênese de *M. anisopliae* sobre cadáveres de insetos infectados (ARTHURS & TOMAS, 2001). De forma geral, as faixas ótimas são de 20-30°C e 96% UR, respectivamente. Pouca esporulação ocorre a 15 e 40°C, além de ser significativamente reduzida pela exposição a períodos de baixa umidade relativa. Esta produção de conídios é responsável pela transmissão secundária de *M. anisopliae* entre os insetos, permitindo desta forma diminuir a frequência de pulverizações necessárias para manter suas populações em níveis reduzidos.

Na amostragem de fevereiro/2003 (90 dias da aplicação) o número ninfas/metro linear aumentou em todos os tratamentos, demonstrando a necessidade de uma nova aplicação no mês de janeiro, para manter a população abaixo de 20 ninfas/metro linear que é considerado o nível de dano econômico (Tabela 8). A variedade SP 80 1816 é uma das preferidas pela cigarrinha, portanto, há necessidade de mais aplicações de fungo.

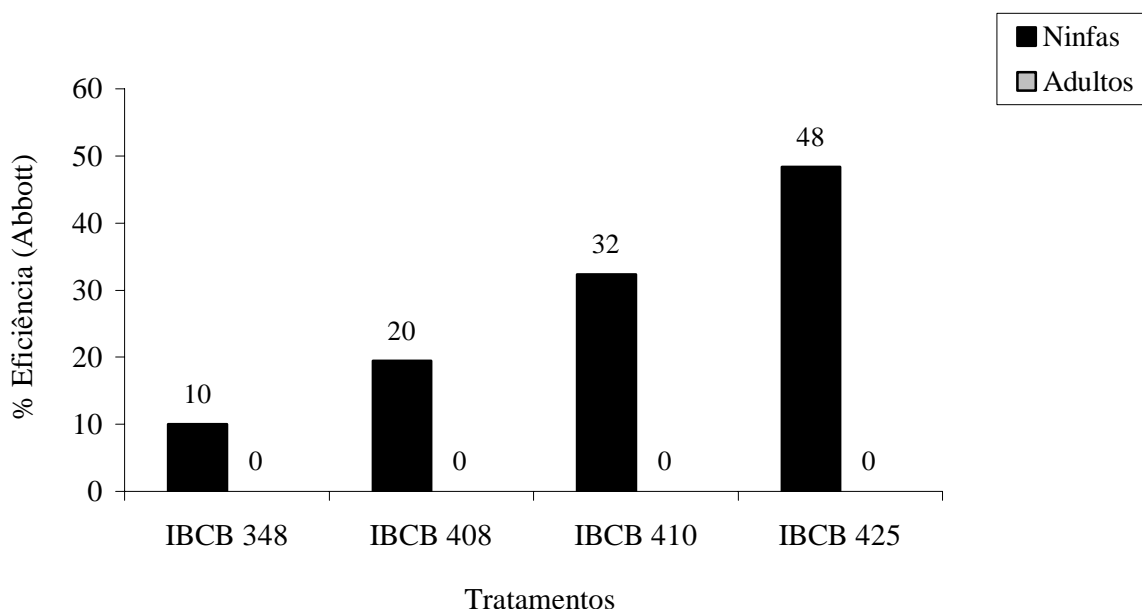


Figura 7. Eficiência de controle de ninfas e adultos de *Mahanarva fimbriolata*, 60 dias após a aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Catanduva-SP, 2003).

Aos 90 dias da pulverização, não ocorreu diferença estatística entre os isolados testados sendo que o número de adultos/cana na testemunha foi inferior quando comparados aos demais tratamentos, com 0,71 adultos/cana (Tabela 9). Durante o período de avaliação (90 dias da aplicação), observou-se temperaturas altas e baixa precipitação, praticamente 3 dias antes da avaliação a precipitação atmosférica foi nula (Figuras 5 e 6). Inglis et al. (1999) observaram que grandes variações diárias de temperaturas afetam negativamente a colonização do hemocele e mortalidade final de insetos por outra espécie de *Metarhizium flavoviride*, sendo afetadas mais intensamente quanto maior a amplitude entre as temperaturas máxima e mínima diária.

Observou-se na Figura 8 que o isolado IBCB 408 mostrou-se moderadamente eficiente com 31% de mortalidade das ninfas e nula para os adultos, aos 90 dias da pulverização. O isolado IBCB 410 apresentou eficiência para as ninfas de 7%, dados semelhantes aos obtidos com os isolados PL 5, PL 27 e PL 43 apresentando 12,42% para

ninfas de *M. posticata*, nos Estados de Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte (IAA/PLANALSUCAR, 1982). Para os adultos, todos os isolados testados não foram eficientes no controle de *M. fimbriolata*. Eficiências inferiores aos obtidos com os isolados PL 5, PL 27 e PL 43 de 33,78% para os adultos de *M. posticata* (IAA/PLANALSUCAR, 1982). Os isolados IBCB 348 e IBCB 425 não apresentaram nenhuma eficiência de controle, tanto para ninfas como para os adultos aos 90 dias da pulverização (Figura 8), resultados esses discordantes dos obtidos por Almeida et al. (2003b). Esses autores observaram que aplicações de 1kg de *M. anisopliae*, isolado IBCB 348, aplicados em outubro e novembro de 2001, diferiram dos demais tratamentos mantendo a população abaixo do nível de controle. A variedade de cana-de-açúcar utilizada foi SP 70 1816, terceiro corte, no município de Catanduva-SP. Os dados do IAA/PLANALSUCAR (1977) demonstraram efeito altamente satisfatório, com reduções de 36,17% ninfas/colmo. A mortalidade alcançou níveis de até 86% e a incidência do fungo aumentou em até 57,17%, aos 90 dias da pulverização.

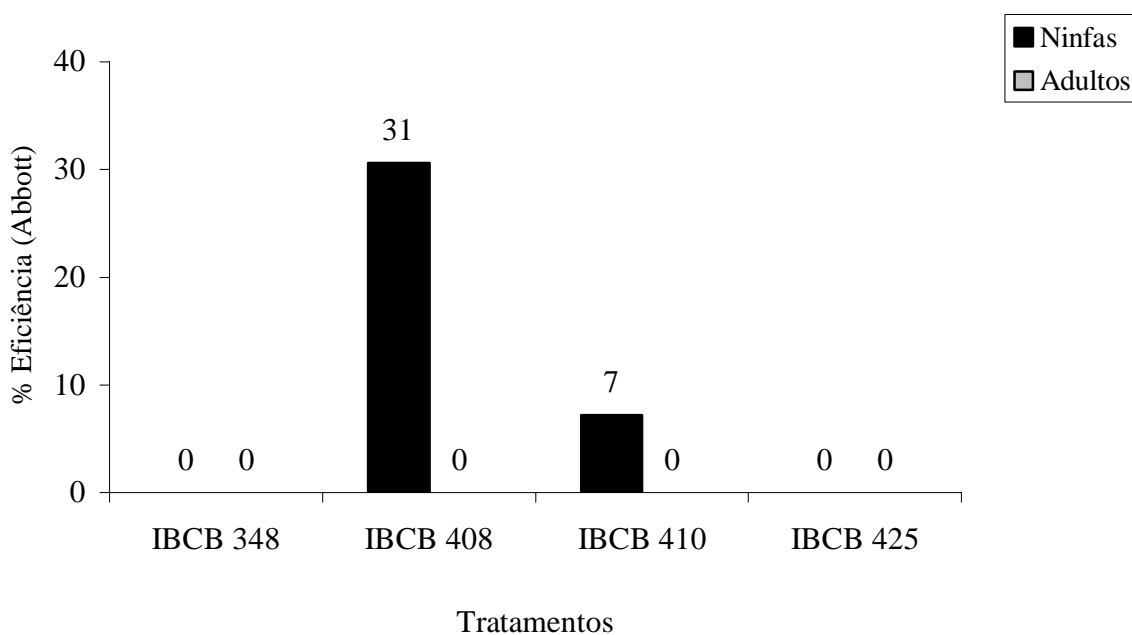


Figura 8. Eficiência de controle de ninfas e adultos de *Mahanarva fimbriolata*, 90 dias após a aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Catanduva-SP, 2003).

A maior eficiência de controle foi obtida quando o fungo foi aplicado a intervalos de 30 dias a partir do início da infestação da cultura pelas ninfas de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, com 2 a 3 pulverizações no mês de novembro (ALMEIDA et al., 2002b; BATISTA FILHO et al., 2002).

Na avaliação realizada aos 120 dias, em março de 2003, a população de cigarrinha mantinha-se alta, acima do nível de dano econômico (20 ninfas/metro linear). Ressalta-se que dois fatores podem ter contribuído para esse fato, quais sejam: só foi realizada uma única aplicação, em novembro de 2002, e também foi observada, durante o período de avaliação, temperatura média na faixa de 29-30°C e praticamente 15 dias sem chuva na região de Catanduva-SP, prejudicando a conidiogênese do fungo sobre os insetos (Figuras 5 e 6).

A faixa de temperatura entre 25-28°C e elevada umidade relativa são ótimas para o crescimento micelial de *M. anisopliae*. Reduzida à umidade relativa e temperaturas muito abaixo ou muito acima dessa faixa afetam negativamente esta fase do ciclo do fungo (HALLSWORTH & MAGAN, 1999).

Na safra 2001/2002, na mesma região, Almeida et al. (2003b) observaram que áreas tratadas com 1kg de *M. anisopliae* isolado IBCB 348, aplicado em outubro e novembro de 2001, mantiveram a população abaixo do nível de controle. Os autores observaram temperaturas mais amenas e altas precipitações durante a condução do experimento. No presente estudo, ocorreu diferença estatística entre o isolado IBCB 348 e a testemunha (Tabela 8).

Com relação ao controle dos adultos, aos 120 dias apenas o isolado IBCB 408 foi o que manteve a população de adultos/cana em torno do nível de controle com 0,72 adultos/cana, enquanto na testemunha a população foi de 1,96 adultos/cana (Tabela 9).

Quando foi realizada a pulverização dos isolados as plantas estavam pequenas, ao redor de 0,80 m de altura, apresentando reduzida massa foliar, expondo os conídios pulverizados à radiação solar e grandes amplitudes de temperatura e umidade relativa do solo e do ar. Em plantas mais desenvolvidas tem-se um microclima mais favorável ao fungo, mas por outro lado, problemas com a quebra de colmos pelos equipamentos. Estes fatores comprometem a capacidade de infecção das cigarrinhas por *M. anisopliae*, bem como a sobrevivência e multiplicação do fungo no agroecossistema (ALVES, 1998; ALVES &

LECUONA, 1998). Deste modo, nas doses aplicadas deve-se considerar que uma parcela destes conídios teve sua viabilidade diminuída pelo efeito adverso destes fatores. Assim, é necessário fornecer quantidades de conídios viáveis suficientes para que possam causar a morte da maioria das cigarrinhas presentes na área e, se possível, elevar a quantidade de inóculo do fungo na cultura, de tal forma que possibilite a infecção secundária dos insetos que surgirão nas gerações seguintes da praga.

Batista Filho et al. (2002) demonstraram que o desempenho dos isolados IBCB 10 e ESALQ 1037 de *M. anisopliae* foi melhor quando foram realizadas aplicações mensais, mantendo-se a população abaixo de 3 ninfas/metro linear, decorridos 131 dias da aplicação. A eficiência de controle foi superior aos resultados obtidos no presente estudo (33,45 ninfas/metro linear), aos 120 dias da aplicação, em uma única aplicação em novembro de 2002.

Com relação ao desempenho do *M. anisopliae*, observou-se por meio da Figura 9 que todos os isolados não foram eficientes para causar mortalidade das ninfas aos 120 dias da pulverização, inferiores àqueles obtidos por Guagliumi (1972a); Almeida et al. (2002b); Batista Filho et al. (2002) e Lopes et al. (2002). Para os adultos, o desempenho do fungo foi um pouco maior, sendo a eficiência dos isolados IBCB 408 e IBCB 425 superiores aos demais tratamentos, com 63 e 53%, respectivamente, sendo esse período o mais crítico durante todo o ciclo da cigarrinha (Figura 9).

Aos 150 dias de observação, a população de cigarrinhas teve redução geral, devido ao início do período de seca e frio, não havendo diferença entre os tratamentos, e para todos os isolados o número de ninfas/metro linear ficou abaixo de 3 insetos/metro linear. O isolado IBCB 410 foi o que proporcionou melhor desempenho entre os demais isolados testados com 0,72 ninfas/metro linear, seguido do isolado IBCB 425 com 0,98 ninfas/metro linear (Tabela 8).

Observou-se, por meio da Tabela 9, que não ocorreram diferenças entre os tratamentos sendo nula a população de adultos nas parcelas tratadas com os isolados, e na testemunha foi de 0,24 adultos/cana. Por meio das Figuras 5 e 6 observou-se ligeira precipitação (variando de 0 a 20 mm) e temperaturas mais amenas aliada a baixa população de cigarrinhas, evidenciando o aumento do parasitismo.

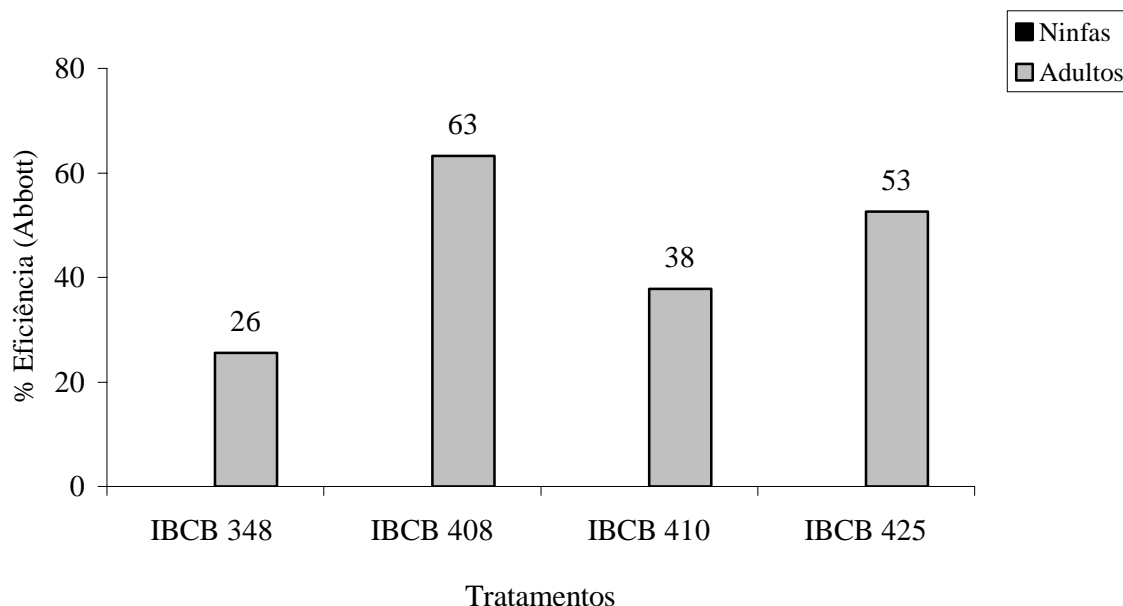


Figura 9. Eficiência de controle de ninfas e adultos de *Mahanarva fimbriolata*, 120 dias após a aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Catanduva-SP, 2003).

Com relação à eficiência observou-se, na Figura 10 que os isolados IBCB 348 e IBCB 408 não foram eficientes devido à redução do número de ninfas/metro linear. Para os adultos o desempenho do fungo foi ótimo, com eficiência de 100% para todos os isolados testados.

De maneira geral, por meio da análise de variância constatou-se que, em média, e ao longo dos 150 dias de avaliação, existiu diferença significativa entre os tratamentos, quanto ao número de ninfas/metro linear, apenas aos 120 dias após a pulverização. Entretanto, na avaliação da população de adultos/cana não ocorreram diferenças entre os tratamentos.

De forma geral, a testemunha apresentou aumento na densidade populacional da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com o passar dos dias. Ao longo da época de avaliação sua densidade incrementou consideravelmente, passando de 0,49 para 31,53 ninfas/metro linear e de 0,51 para 1,96 adultos/cana. A partir dos 150 dias teve início a

redução de população, coincidindo com o início do período de estiagem e diminuição da temperatura.

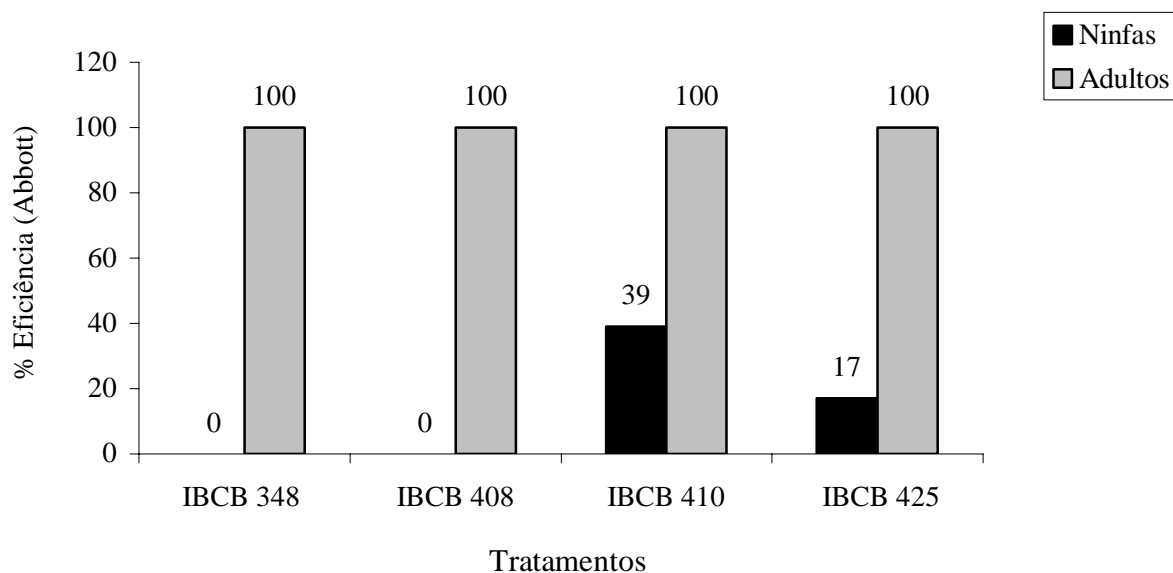


Figura 10. Eficiência de controle de ninfas e adultos de *Mahanarva fimbriolata*, 150 dias após a aplicação de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Catanduva-SP, 2003).

O parasitismo de ninfas e adultos de *M. fimbriolata* teve início somente aos 90 dias, sendo considerado baixo e acentuando-se nos meses de fevereiro e março, quando foi observado o aumento significativo da população de cigarrinha na área, demonstrando a necessidade da aplicação de *M. anisopliae* ainda na primeira geração do inseto. Também foram observadas, durante esse período de avaliação, altas temperaturas e precipitações muito baixas (8mm) na região de Catanduva-SP, prejudicando o parasitismo dos fungos sobre as cigarrinhas (Figuras 5 e 6). O parasitismo foi mais expressivo decorridos 150 dias da aplicação, observando-se um alto índice nas parcelas onde foram aplicados os isolados IBCB 425 e IBCB 410, com 58 e 55,6%, respectivamente, de parasitismo (Tabela 10).

Oliveira & Sobral (1982) testaram diferentes isolados e verificaram que E₉ e E₆ foram os mais eficientes, decorridos 5 dias da aplicação, com uma média de 18

ninfas mortas/m² de *Deois incompleta* (Hemiptera: Cercopidae) e alto parasitismo. Araújo & D' Aguiar (1975) constataram 92,0% de parasitismo em ninfas de *D. incompleta* usando-se suspensões aquosas de conídios, em casa-de-vegetação. Já Ventura (1977) em sua pesquisa em iguais condições obteve mortalidade confirmada variando de 20 a 60%.

O parasitismo do fungo foi bom, pois a variedade SP 80 1816 favorece o desenvolvimento da população de cigarrinha em todo o período de chuva. Um fato que deve ser levado em consideração ao baixo nível de parasitismo é devido à presença de formigas e outros artrópodos que vivem no solo e se alimentam de insetos mortos. Outros fatores tais como a desintegração das cigarrinhas parasitadas pelas chuvas ou mesmo, no momento das avaliações, estas ficam embaixo da palhada de cana-de-açúcar rente ao colo da planta, não sendo observadas.

Tabela 10. Parasitismo (%) de ninfas e adultos de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*, em cana-de-açúcar tratada com diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae*, aplicados em novembro 2002 (Catanduva-SP).

Tratamentos (n=4)	15 dias (%)	30 dias (%)	60 dias (%)	90 dias (%)	120 dias (%)	150 dias (%)
<i>M. anisopliae</i> IBCB 348	0,0	0,0	0,0	4,7	2,1	38,1
<i>M. anisopliae</i> IBCB 408	0,0	0,0	0,0	3,1	2,6	38,2
<i>M. anisopliae</i> IBCB 410	0,0	0,4	0,2	3,9	1,0	55,6
<i>M. anisopliae</i> IBCB 425	4,4	0,0	0,5	2,5	2,7	58,0
Testemunha	0,0	0,0	0,0	7,1	4,7	46,2

4.1.1 Produtividade agrícola e parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar

A variedade SP 80 1816 possui alto teor de sacarose a partir dos meses iniciais (abril/maio) da safra no Estado de São Paulo. Segundo Sousa (2001), níveis de Pol da cana (PCC) de 15,50 é considerado muito bom, 14,00 é médio e 12,50 inadequado. Observou-se que neste experimento, apesar de ter ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, o Pol da cana foi considerado bom (Tabela 11), sendo as parcelas tratadas com o isolado IBCB 348 (15,34%) muito próximo ao Pol considerado muito bom. O Pol da testemunha foi semelhante aos dados (13,97%) para essa mesma variedade de cana-de-açúcar colhida na Usina Éster, safra 2000/2001 (FERNANDES et al., 2002). Almeida et al. (2003c) verificaram que o Pol da cana foi maior quando o fungo foi aplicado nos meses de outubro e novembro, diferindo estatisticamente dos tratamentos em que o fungo foi aplicado nos meses de dezembro e janeiro.

Com relação à pureza do caldo, não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos. Os dados de pureza do caldo obtidos por Fernandes et al. (2002) foram de 89,5% para o tratamento com maturador Curavial e 90,4% para a testemunha. Dado esse da testemunha superior ao encontrado no presente estudo (Tabela 11). A pureza está correlacionada com o Pol da cana, porém duas áreas podem apresentar o mesmo pol da cana-de-açúcar, e aquela que estiver com pureza mais alta estará mais madura. A pureza é o parâmetro adequado para a avaliação da qualidade da cana-de-açúcar (FERNANDES, 2000).

Quanto ao teor de fibra, não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos quando comparado com o teor de fibra da testemunha (Tabela 11). Para essa mesma variedade, Fernandes et al. (2002) obtiveram teor de fibra para a testemunha de 11,4%. Quando ocorre um aumento do teor de fibra no colo da cana-de-açúcar, conseqüentemente ocorre uma diminuição na quantidade de Pol da cana. Dinardo-Miranda et al. (2000a) observaram significativas reduções no pol da cana (PC) do caldo e incrementos na fibra, de variedades de cana-de-açúcar atacadas pela cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, evidenciando que o secamento e a rachadura dos colmos, decorrentes do ataque da praga, exercem grande influência sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar.

Segundo Stupiello (1999), o pH do caldo extraído pela prensa é um indicador que vem sendo utilizado, com sucesso, na avaliação da qualidade da matéria-prima

e, quando menor ou igual a 5,00, indica uma cana-de-açúcar muito deteriorada; entre 5,01 e 5,10, deteriorada; entre 5,11 e 5,20, cana-de-açúcar pouco deteriorada ou muito verde; entre 5,21 e 5,30, cana-de-açúcar deteriorada normal ou verde; entre 5,31 e 5,40, cana-de-açúcar fresca ou madura e acima de 5,41, cana-de-açúcar fresca ou muito madura. Dessa forma, a qualidade da matéria prima para todos os isolados testados não estava prejudicada (pH variando de 5,37 a 5,40 – Tabela 11), indicando que o ataque da cigarrinha, mesmo quando a população estava acima do nível de dano econômico, não interferiu neste parâmetro.

Tabela 11. Análise tecnológica obtida na colheita da variedade SP 80 1816 com diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae*, aplicados em novembro 2002 (Catanduva-SP, 2003).

Tratamento (n=4) ^{1,2}	PCC (%) (± EP) ³	PUREZA CALDO (%) (± EP) ³	FIBRA (%) CANA (± EP) ³	pH DO CALDO (± EP) ³
IBCB 348	15,34±0,15 a	75,72±14,90 a	11,29±0,01 a	5,37±0,04 a
IBCB 408	15,15±0,09 ab	90,61±0,65 a	11,14±0,16 a	5,40±0,00 a
IBCB 410	14,07±0,42 b	89,96±1,00 a	11,00±0,17 a	5,40±0,00 a
IBCB 425	13,92± 0,58 b	89,91±0,34 a	11,14±0,34 a	5,37±0,02 a
Testemunha	14,18±0,23 ab	86,89±2,81 a	11,26±0,01 a	5,40±0,00 a
CV (%)	5,15	15,07	3,74	0,87

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna pelo teste de Duncan 5%.

² Dados não transformados.

³ Erro padrão da média.

Em relação à produtividade, Sousa (2001) relatou que o valor considerado muito bom é de 100t/ha, médio é de 85 t/ha e inadequado é de 70t/ha. Nas parcelas onde foi aplicado o isolado IBCB 425 foi observado produtividade de 90,91 t/ha,

considerada boa (Tabela 12). Não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos estudados, na ocasião da colheita. Esse aumento da produtividade pode ser atribuído ao fato da colheita da cana-de-açúcar ter sido realizada em setembro, tendo um tempo maior para a cana-de-açúcar se restabelecer fisiologicamente ao ataque da cigarrinha. Fernandes et al. (2002) relataram uma produtividade agrícola de 75t/ha nos experimentos, para essa variedade.

Dinardo-Miranda et al. (1999) observaram diferentes intensidades de perdas pela cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar em 18 genótipos de cana-de-açúcar plantados no Estado de São Paulo. A queda de produção foi maior no segundo corte da cultura, quando comparada com o primeiro, especialmente nas colheitas de agosto e outubro, com quedas médias de produtividade para os dois cortes, de 42,2% (65,2 t/ha) e 44,8% (64,8 t/ha), respectivamente. Neste trabalho, os autores sugerem que as soqueiras resultantes da colheita em maio sofrem danos menores por se encontrar mais desenvolvidas durante a época de grande população da praga, ao passo que as soqueiras resultantes das colheitas de agosto e outubro encontram-se ainda pequenas e foram muito danificadas pelo ataque da praga. Algumas das variedades comerciais plantadas atualmente no Estado de São Paulo são bastante atacadas por *M. fimbriolata*, dentre elas a variedade SP 80 1816 (DINARDO-MIRANDA, 2002).

As perdas chegam a ordem de até 30 a 60% em canaviais nos Estados de Sergipe e Bahia (MENDONÇA et al., 1996) e São Paulo (ALMEIDA et al., 2002c). Nos Estados de Sergipe e Alagoas já foram assinaladas perdas de produção superiores a 30 e 60%, respectivamente, pelo ataque de *M. posticata* no período de 1994 a 1996 (MENDONÇA, 1996).

Com relação à quantidade de açúcar por hectare não ocorreu diferença estatística entre os isolados (Tabela 12). Fernandes et al. (2002), relataram 51,2 kg de açúcar/t de cana-de-açúcar para essa variedade.

Os resultados obtidos nos ensaios conduzidos de 1977 a 1979 no Estado de Alagoas foram avaliados sob diferentes condições de exposição da praga, concluindo-se que o ataque da cigarrinha-da-folha, *M. posticata*, pode ocasionar perdas de 12,7% na produção agrícola e de 17,5% no rendimento industrial, em função de uma infestação média de 0,7 adultos e 4,3 ninfas/colmo (ENEIAA/PLANALSUCAR, 1981). Os primeiros testes de laboratório concluíram que uma população de 25 ninfas de *M. posticata*

atacando uma cana-de-açúcar durante um período de 40 dias ocasiona uma perda de 16,5% no seu peso, enquanto que o dano causado por um adulto, durante 30 dias, reduz o peso verde em 21% quando comparado com a testemunha (GUAGLIUMI, 1973).

Tabela 12. Produtividade agrícola (t/ha), TAH (t de açúcar/hectare) e ATR (kg açúcar/t de cana-de-açúcar) obtidos na colheita, em setembro/2003, em função dos tratamentos avaliados (Catanduva-SP, 2003).

Tratamento (n= 4) ^{1,2}	TCH (t/ha) (± EP) ³	TAH (t açúcar/ha) (± EP) ³	ATR (kg/t) (± EP) ³
IBCB 348	69,44±8,00 a	10,96±1,00 a	143,25±1,00 a
IBCB 408	82,25±1,12 a	10,27±0,23 a	140,34±0,90 a
IBCB 410	86,24±5,25 a	12,13±0,82 a	130,30±3,95 b
IBCB 425	90,91±11,26 a	12,85±2,21 a	131,60±2,21 b
Testemunha	67,88±5,65 a	9,58±0,89 a	128,97±5,40 b
CV (%)	20,56	23,84	5,10

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna pelo teste de Duncan 5%.

² Dados não transformados.

³ Erro padrão da média.

⁴ TCH= tonelada de cana-de-açúcar por hectare

⁵ TAH= tonelada de açúcar por hectare

⁶ ATR= açúcares totais recuperáveis

A cana-de-açúcar “queimada” pelo ataque dos adultos da cigarrinha representa dois tipos de danos econômicos, o primeiro é no campo, com relação à redução de 39% na tonelada/ha de cana-de-açúcar produzida, e o segundo fator é a perda de 34% no teor de sacarose dos colmos moídos. Estes prejuízos foram calculados, no ano de 1964, na Estação

Experimental de Campos-RJ. Veiga (1964) comparou estes danos em plantações de cana-de-açúcar sadia e na cultura atacada por *M. posticata*.

Ocorreu diferença estatística entre os tratamentos com relação à quantidade de açúcares totais recuperáveis, sendo os isolados IBCB 348 e IBCB 408 os que mais produziram açúcares, 143,25 e 140,34 kg de açúcar/t de cana-de-açúcar, respectivamente (Tabela 12). Fernandes et al. (2002), relatou 135,1kg de açúcar/t de cana-de-açúcar para essa variedade.

Para todos os tratamentos ocorreu um incremento na produtividade agrícola e para a o valor de tonelada de açúcar por hectare, obtidos em relação à testemunha. Entretanto, esses valores foram menores quando comparados às médias de produtividade agrícola, obtidas na Usina Cerradinho na safra 2002/2003. O isolado IBCB 425 promoveu maior ganho de produtividade de 23,03 t/ha e um ganho de 3,27 toneladas de açúcar/ha (Tabela 13). O controle efetuado com os inseticidas carbofuran (2,4kg/ha de i.a.) e thiamethoxan (0,25kg/ha de i.a.), nas condições do Estado de São Paulo, foi superior em 80% quando comparada com a testemunha, contribuindo para aumentos de produtividade de até 13,7 t/ha para thiamethoxam e 8,3 t/ha para carbofuran (DINARDO-MIRANDA et al., 2000b).

Já experimentos realizados com carbofuran 100G, nas dosagens de 40 e 60kg/ha, thiamethoxan 10GR, a 30kg/ha, terbufós 150G, de 27 a 40Kg/ha e fipronil 800WG, a 0,5kg/ha, resultaram em incremento significativos da produtividade agrícola de até 27,7 t/ha ou 42% de incremento em relação à testemunha (DINARDO-MIRANDA et al., 2001b). Dinardo-Miranda et al. (2001a), concluíram que o aldicarb foi o mais eficiente dentre outros inseticidas testados, contribuindo para o incremento da produtividade de 22,3 a 30,1 t cana/ha. Macedo et al. (2003b) obteve, para a variedade SP 80 1842, com a aplicação do produto fipronil 800 WG + aldicarb 150 G (0,21 + 1,035 kg/ha) e carbofuran 100G (kg/ha), ganhos de produtividades agrícolas de 40,3 e 32,2 t/ha, respectivamente.

O ganho na quantidade de açúcares totais recuperáveis (ATR) foi maior para o isolado IBCB 425 com 2,63kg de açúcar/t de cana-de-açúcar (Tabela 13). Dinardo-Miranda et al. (2001a) concluíram que o aldicarb foi o mais eficiente dentre outros inseticidas testados, promovendo um ganho de 2,70 a 3,67kg de açúcar/t de cana-de-açúcar.

Barbosa (1998) citou que quando ocorre o ataque de *M. fimbriolata* em variedades sensíveis, como é o caso da SP 70 1143, o prejuízo é bastante severo, tendo já ocorrido caso de produtividade de 30 t/hectare de cana-de-açúcar "podre" em um local com estimativa de 70 t/hectare. O autor afirma ainda que diante da expansão da colheita crua, é recomendável a observação desta sensibilidade nas variedades em introdução em nosso país. Estudos recentes mostram que as quebras de produtividade agrícola, causadas pela cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, podem ser significativas para muitas das variedades cultivadas atualmente no país, como citado por Dinardo-Miranda et al. (1999 e 2000a), onde estas reduções variaram de 48 a 63,2 t/ha para as variedades RB 72454, RB 82 5336, RB 83 5486 e SP 80 1842.

Apesar do melhor desempenho dos inseticidas químicos, principalmente nos parâmetros de TCH, TPH, ATR e Ágio, o controle biológico tem potencial para a manutenção da população de cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar abaixo do nível de controle e, principalmente, abaixo do nível de dano econômico, principalmente com aplicações a partir do mês de Novembro (ALMEIDA et al., 2003c).

De maneira geral, não ocorreu diferença estatística no fator blocos para a produtividade agrícola, bem como para os parâmetros tecnológicos analisados da variedade SP 801816 quando aplicados os isolados de *M. anisopliae*, no mês de novembro de 2002 (Tabela 11 e 12).

Macedo et al. (2003b), relataram que nos experimentos com dosagens diferentes dos produtos carbofuran e fipronil + aldicarb não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos para os parâmetros relacionados com a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar (Fibra %, Pol % cana e Pureza), variedade SP 18018 42, evidenciando que, quando a colheita se dá no devido momento, o ataque da praga causa danos mais expressivos à produção agrícola do que à qualidade da matéria-prima.

A perda gerada pelo ataque de cigarrinha nos tratamentos com *M. anisopliae* poderá ser compensada pelo baixo custo da aplicação e do entomopatógeno, pelo alto potencial de estabilização do fungo e a baixa contaminação ambiental e do ser humano, além da probabilidade de resistência da praga ao fungo entomopatogênico ser muito baixa devido às mutações genéticas e da possibilidade da seleção de isolados mais virulentos e com esporulação sobre cadáveres e produção em meios artificiais (ALMEIDA, 2003).

O efeito do controle da praga sobre a produtividade agrícola e a quantidade de açúcar por hectare foi bastante evidente, apesar de não ter ocorrido diferença entre os tratamentos (Tabela 12 e 13). Esses mesmos valores foram menores do que a média geral obtida na Usina Cerradinho na safra 2002/2003 (Tabela 13). Os isolados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 podem ser recomendados para o controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *M. fimbriolata* na concentração de 2kg/ha em duas ou mais aplicações no início do ciclo do inseto, podendo ser reaplicado aos 90 dias, dependendo da infestação da praga. Esses isolados são eficientes no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar sem interferir na produtividade agrícola, na quantidade de açúcar por hectare e nos parâmetros tecnológicos.

Tabela 13. Produtividade agrícola (t/ha), TAH (t de açúcar/hectare) e ATR (kg açúcar/t de cana-de-açúcar) e obtidos na colheita, em setembro/2003, em função dos tratamentos avaliados e a diferença de cada tratamento em relação à testemunha (Catanduva-SP, 2003).

Tratamento (n=4) ^{1, 2}	TCH (t cana/ha)	Diferença em relação à testemunha	TAH (t açúcar/ha)	Diferença em relação à testemunha	ATR (kg/t)	Diferença em relação à testemunha
IBCB 348	69,44a	1,56	10,96 a	1,38	143,25 a	14,28
IBCB 408	82,25 a	14,37	10,27 a	0,69	140,30 a	11,33
IBCB 410	86,24 a	18,36	12,13 a	2,55	130,30 b	1,33
IBCB 425	90,91 a	23,03	12,85 a	3,27	131,60 b	2,63
Testemunha	67,88 a	—	9,58 a	—	128,97 b	—
Média da Usina (safra 2002/2003)	92,60 a	—	15,0 a	—	145,00 a	—

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna pelo teste de Duncan 5%.

² Dados não transformados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura da cana-de-açúcar tem passado por grandes transformações no sistema de produção vigente no Estado de São Paulo devido à proibição parcial da queima como etapa da operação de colheita. Nesse sistema, a palha é deixada no campo após o corte, o que proporciona modificações no microclima da superfície do solo, melhorando a manutenção da umidade e temperatura, favorecendo o aumento da incidência e severidade dos danos causados pela cigarrinha-da-raiz, *Mahanarva fimbriolata*.

O uso do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* para o controle de *Mahanarva fimbriolata* no Estado de São Paulo têm aumentado intensamente nos últimos quatro anos, em decorrência dos elevados níveis de controle verificados em plantios comerciais. Conseqüentemente, têm estimulado o surgimento de diversas empresas interessadas em atender este mercado promissor.

Os resultados encontrados quanto à avaliação da patogenicidade dos isolados de *M. anisopliae* a ninfas e adultos, em laboratório e campo, demonstraram que *M. fimbriolata* é altamente suscetível.

Os isolados selecionados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 são promissores em controlar as ninfas e adultos podendo ser recomendados na dosagem de 2kg/ha com uma concentração mínima de 5×10^7 conídios/mL em duas ou mais aplicações

no início do ciclo do inseto, podendo ser reaplicado aos 90 dias, dependendo da infestação da praga.

O efeito do controle da praga sobre a produtividade agrícola e a quantidade de açúcar por hectare foi bastante evidente. Esses isolados são eficientes no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar sem interferir na produtividade agrícola e na quantidade de açúcar por hectare e interferindo pouco nos parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar, tais como, a quantidade de açúcares totais recuperáveis (ATR) e porcentagem de Pol por cento de cana (PCC) e não interferiram na porcentagem de pureza do caldo, porcentagem de fibra e no valor de pH do caldo.

6. CONCLUSÕES

- A concentração de $5,0 \times 10^7$ conídios/mL é a que promoveu maior porcentagem de mortalidade para *M. fimbriolata* dentre as demais concentrações testadas.
- Os isolados IBCB 351, IBCB 348, IBCB 363, IBCB 408, IBCB 410, IBCB 418, IBCB 425 e IBCB 482 causam maior porcentagem de mortalidade confirmada das ninfas após o sexto dia da inoculação.
- Os isolados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 produzem maior quantidade de conídios.
- Os isolados IBCB 348, IBCB 408, IBCB 410 e IBCB 425 do fungo *M. anisopliae* controlaram as ninfas e adultos de *M. fimbriolata* até 60 dias após a aplicação. Esses isolados foram eficientes no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar sem interferir na produtividade agrícola e na quantidade de açúcar por hectare e nos parâmetros tecnológicos pureza, fibra e pH.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.18, p.265-267, 1925.

ABRAMO FILHO, J. **Decomposição da palhada de cana-de-açúcar em canavial colhido sem queima**. 1995. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Rio Claro.

ALMEIDA, J.E.M. **Avaliação de fungos entomopatogênicos visando ao controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) (Isoptera: Rhinotermitidae)**. 1994. 105f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

ALMEIDA, J.E.M. Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com isolados de *Metarhizium anisopliae*. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 5., 2001, Sertãozinho. **Anais...** Campinas: 2001. p.35-47.

ALMEIDA, J.E.M. Resultados do controle da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar com *Metarhizium anisopliae*. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 9., 2003, Catanduva. **Anais...** Campinas: 2003. p.32-41.

ALMEIDA, J.E.M. et al. Controle de cigarrinha-da-raiz *Mahanarva fimbriolata* (Hom.: Cercopidae) com *Metarhizium anisopliae* em sistema de cultivo orgânico. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Livro de Resumos...** Poços de Caldas: 2001. p.141.

ALMEIDA, J.E.M. et al. Controle da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus. **Livro de Resumos...** Manaus: 2002c. p. 34.

ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B. Mortalidade de *Heterotermes tenuis* (Hagen) atraídos por armadilhas com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e imidacloprid. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, v. 25, n.3, p.507-512, 1996.

ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Selection of *Beauveria* spp. isolates for control of the *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, p.539-543, 1997.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, São Paulo, n.20, p.30-33, 2001.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G. Controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Hem.: Cercopidae) em cana cultivada no sistema orgânico. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., 2002, Recife. **Anais...** Recife: 2002a. v.21, n.1, p.79-83.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; ALVES, S.B. Produção e controle de qualidade de fungos entomopatogênicos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro. **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003a. p.41.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Controle da cigarrinha-da-raiz, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae), com *Metarhizium anisopliae* e óleo de Nim, em cana-de-açúcar sob cultivo orgânico. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro. **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003. p.65.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; MENDES, J.M. Controle de *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) com *Metarhizium anisopliae* aplicados em diferentes épocas, na cultura da cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8, 2003, São Pedro, **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003b. p.65.

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

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A.S. Controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., 2002, Recife. **Anais...** Recife: 2002b. v.21, n.1, p.84-89.

ALVES, S.B. **Fungos entomopatogênicos**. São Paulo: MANOLE, 1986. 407 p.

ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998a. Cap. 11, p. 289-381.

ALVES, S.B. et al. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998b. Cap. 20, p.637-711.

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

ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill em bandejas. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.14, p.188-192, 1989.

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. p.97-163.

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.

ARAÚJO, D.O.B.; D' AGUIAR, Z.M.F. Controle biológico das cigarrinhas-das-pastagens. **Boletim do Instituto Biológico**, Bahia, v.14, n.1, p.1-5, 1975.

ARTHURS, S.; THOMAS, M.B. Effects of temperature and relative humidity on sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in mycosed cadavers of *Schistocerca gregaria*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.78, p.59-65, 2001.

ARRUDA, A.O.; MENDONÇA, A.F. Controle biológico da cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Sta, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) nos canaviais da destilaria Agroserra, Maranhão. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro. **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003. p.67.

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

BARBOSA, V. Cultivo de soqueira, adubação e reforma de canaviais sob sistema de cana crua, p.52-54. In: SEMANA DA CANA-DE-AÇÚCAR DE PIRACICABA, 3., 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: 1997. p.52-54.

BARBOSA, V. Cultivo de soqueira, adubação e reforma de canaviais sob sistema de cana crua, p.31-32. In: SEMANA DA CANA-DE-AÇÚCAR DE PIRACICABA, 4., 1998, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: 1998. p.31-32.

BARRETO, A.D.P. Ciclo da cana-de-açúcar. **Boletim Técnico UFRRJ**, Campos, n.4, p.1-18.1999.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; TAKADA, H.M.; LAMAS, C.; RAMIRO, Z.A. Incidência do fungo entomopatogênico *Batkoa apiculata* (Entomophthorales) sobre cigarrinhas das pastagens em Pindamonhangaba, SP. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 10., São Paulo, 1997. Resumo... **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 64, p.82, 1997.

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). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Livro de Resumos...** Poços de Caldas: 2001. p. 223.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; MACHADO, L.A. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Hom.: Cercopidae). In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., 2002, Recife. **Anais...** Recife: 2002. v.21, n.1, p.84-89.

BERNARDES, M.S. et al. Sistemas de produção para áreas com restrições à colheita mecanizada de cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.16, n.4, p.35-37, 1998.

BOTELHO, P.S.M.; MACEDO, N. ; CAMPOS, M.S. Chemical control of de *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera-Homoptera: Cercopidae) in sugarcane. In: International Congress of Entomology, XXI., 2000, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu. 2000. v.1, p.51.

BRAGA, G.U.L et al. Variability in response to UV-B among species and strains of *Metarhizium* isolated from sites at latitudes from 61°N to 54°S. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.78, p.98-108, 2001.

CONSECANA, 2002. Disponível em (<http://www.orplana.com.br/consecana.htm>). Acesso em: 1 abr. 2004.

DINARDO-MIRANDA, L.L. O papel da retirada da palha no manejo da cigarrinha das raízes. **STAB Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.20, n.5, p.23, 2002.

DINARDO-MIRANDA, L.L. et al. Controle químico de cigarrinha das raízes, *Mahanarva fimbriolata*, em cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Alcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.19, n.4, p.20-23, 2001b.

DINARDO-MIRANDA, L.L. et al. Danos causados pelas cigarrinhas das raízes (*Mahanarva fimbriolata*) a diversos genótipos de cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.17, n.5, p.48-52, 1999.

DINARDO-MIRANDA, L.L. et al. Eficiência de inseticidas e medidas culturais no controle de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.18, n.3, p.34-36, 2000b.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; FERREIRA, J.M.G.; CARVALHO, P.A.M. Influência das cigarrinhas das raízes, *Mahanarva fimbriolata*, sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.19, n.2, p.34-35, 2000a.

DINARDO-MIRANDA, L.L., FERREIRA, J.M.G.; CARVALHO, P.A.M. Influência da época de colheita e do genótipo de cana-de-açúcar sobre a infestação de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.1, p.145-149, 2001a.

EL-KADI, M.K. Novas perspectivas no controle de cigarrinhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 4., 1977, Goiânia. **Conferências, palestras e exposições...** Goiânia: 1977. p.58-67.

ENCONTRO NACIONAL DOS ENTOMOLOGISTAS DO IAA/PLANALSUCAR, 1980. Itajaí. **Anais...** Itajaí, 1980. 273p.

ENCONTRO NACIONAL DOS ENTOMOLOGISTAS DO IAA/PLANALSUCAR, 1981. João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 1981. 26p.

FEGAN, M.; MANNERS, J.M.; MACLEAN, D.J.; IRWIN, J.A.G.; SAMUELS, K.D.Z.; HOLDOM, D.G.; LI, D.P. Random amplified polymorphic DNA markers reveal a high degree of genetic diversity in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Journal of General Microbiology**, v.139, p.2074-2081, 1993.

FENG, M.; JOHNSON, J.B. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). **Environmental Entomology**, College Park, v.19, n.3, p.785-790, 1990.

FENNAH, R.G. Revisionary notes on the New World genera of Cercopid froghoppers. **Bulletin Entomological Research**, London, v.58, n.1, p.165-190, 1968.

FERNANDES, A.C. Tópicos de controle – Análise pré-colheita. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 19, n.2, p.14-15, 2000.

FERNANDES, A.C.; STUPIELLO, J.P.; UCHOA, P.E.A. Utilização do Curavial para melhoria da qualidade da cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.20, n.4, p. 43-46, 2002.

FERNANDES, A.J. **Manual da cana-de-açúcar**. 2. ed. Piracicaba: Livroceres, 1990, 195 p.

FERNANDES, P.M. Controle microbiano de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) utilizando *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. 1991. 114f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

FEWKES, D.W. The control of froghoppers in sugar-cane plantations. In: WILLIAMS, J. R. et al. **Pests of sugarcane**. Amsterdam: Elsevier Publication, 1969. p.309-324.

FIGUEIREDO, M.F.S. et al. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. E *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Contra a broca gigante da cana-de-açúcar *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.3, p.397-403, 2002.

FRANCO, E. **Estudo sobre a cigarrinha dos canaviais**. Sergipe, 1951. Mimeografado.

FRIGO, S.M.; AZEVEDO, J.L. Variabilidade para crescimento, conidiação e sobrevivência à luz ultra-violeta em *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.61, n.2, p.137-147, 1986.

FUNGARO, M.H.P.; VIEIRA, M.L.C.; PIZZIRANI-KLEINER, A.A.; AZEVEDO, J.L. Diversity among soil and insect isolates of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* detected by RAPD. **Letters in Applied Microbiology**, v.22, p.389-392, 1996.

FUNGARO, M.H.P. PCR na micologia. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.14, p.12-16, 2000.

FURLANI NETO, V.L. **Colhedora de cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) avaliação em canaviais com e sem queima prévia**. 1995. 105f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GARCIA, J.F. Técnica de criação e tabela de vida de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: cercopidae). 2003. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GILLESPIE, A.T.; CLAYDON, N. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. **Pesticid Science**, Oxford, v. 27, p.203-215, 1989.

GUAGLIUMI, P. Inimigos naturais da cigarrinha da folha, *Mahanarva posticata* Stal. **Boletim Técnico da CODECAP**, Recife, v.1, p.1-37, 1969.

GUAGLIUMI, P.; MARQUES, E.J. Tratamentos dos rebolos para evitar a difusão de praga da cana-de-açúcar no Brasil. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.57-83, 1971.

GUAGLIUMI, P. Cigarrinha da raiz. In **Pragas da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro, 1972a. p.622. (Coleção Canavieira IAA, n.10).

GUAGLIUMI, P. Resultados preliminares da luta biológica contra a "cigarrinha-da-folha" da cana-de-açúcar no estado de Pernambuco. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.78, n.4, p.49-51, 1972b.

GUAGLIUMI, P. Cigarrinha da raiz. In **Pragas da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro, 1973. p. 69-103. (Coleção Canavieira IAA).

HAJEK, A.E.; ST. LEGER, R.J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review Entomological**, Palo Alto, v.39, p.293-322, 1994.

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**, San Diego, v.74, p.261-266, 1999.

HERRERA, F.J. **Evaluación de hongos entomopatogênicos para el control microbiano de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae)**. 1995. 69f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro Agronômico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba.

IAA/PLANALSUCAR. Relatório anual: programa nacional de melhoramento da cana-de-açúcar. São Paulo, 1975. 68p.

IAA/PLANALSUCAR. Relatório anual: programa nacional de melhoramento da cana-de-açúcar. São Paulo, 1977. 88p.

IAA/PLANALSUCAR. Relatório anual: programa nacional de melhoramento da cana-de-açúcar. São Paulo, 1982. p.11-116.

INSTITUTO ECONOMIA AGRÍCOLA, 2004. Disponível em (<http://www.iea.br/estatistica>). Acesso em: 1 abr. 2004.

INGLIS, G.D. et al. Influence of oscillating temperatures on the competitive infection and colonization of the migratory grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride*. **Biological Control**, Orlando, v.14, p.111-120, 1999.

KERSHAW, M.J. et al. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for tree species of insect. **Journal Invertebrate Pathology**, San Diego, v.74., p.213-223, 1999.

KLEESPIES, R.G.; ZIMMERMANN, G. Effect of additives on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v.4, p.309-319, 1994.

LANDELL, M.G.A. et al. Validação de métodos de amostragens para estimativa de produção de cana-de-açúcar, em áreas de colheita mecanizada. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.18, n.2, p.48-51, 1999.

LEITE, L.G.; SMITH, L.; MORAES, G.J.; ROBERTS, D.W. In vitro production of hyphal bodies of the mite pathogenic fungus *Neozygites floridana*. **Mycologia**, v. 92, p. 201-207, 2000.

LECUONA, R.E.; TIGANO, M.S.; DIAZ, B.M. Characterization and pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) in Argentina. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Piracicaba, v.25, n.2, p.299-307, 1996.

LEITE, L. G. et al. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: O Estado de São Paulo, 2003. 92p.

LOPES, R.B. **Seleção de Fungos Entomopatogênicos e Controle de *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae)**. 1999. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LOPES, R.B.; TAMAI, M.A; ALVES S.B. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* no controle de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus. **CD - ROM...** Manaus: 2002.

MACEDO, D.; ALVES, S.B.; SIGNORETTI, A.G.C. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* para cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar (*Mahanarva fimbriolata*) utilizando nova metodologia. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro. **Livro de Resumos...** São Pedro: 2003a. p.86.

MACEDO, N.; CAMPOS, M.B.S.; ARAÚJO, J.R. Controle químico de cigarrinha-da-raiz em cana-de-açúcar e impacto sobre a população de artrópodes. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**. v.21, n.4, p.30-33, 2003b.

MARQUES, E.J. Controle microbiano de cigarrinhas (Hemiptera: Cercopidae) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.: eficiência e limitações. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., 1992, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: 1992. p.312.

MARTIGNONI, M.E. Mass production of insect pathogens. In: De BACH, P. (Ed.). **Biological control of insect pests and weeds**. New York: Reinhold Publishing Corporation, 1964. p. 570-609.

MENDES, A.C. et al. Behavior of the adults of the root froghopper, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hom., Cercopidae), according to climatic parameters. In: Proc. ISSCT, 16.,1977, São Paulo. **Anais...** São Paulo: 1977. p.617-631.

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

MENDONÇA, A.F.; BARBOSA, G.V.S.; MARQUES, E.J. As cigarrinhas da cana-de-açúcar no Brasil. In: MENDONÇA, A. F.(Ed.). **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Inseto & Cia., 1996. p.171-192.

MENDONÇA, A.F.; COSTA, L.C.G. Rendimento da linhagem PL 191 de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em diferentes substratos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., 1987, Campinas, **Anais...** Campinas: 1987. p.248.

MENDONÇA, A.F. et al. Controle biológico da cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Hem.: Cercopidae) em áreas de corte mecanizado de cana crua. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Livro de Resumos...** Poços de Caldas: 2001. p.131.

MOINO JR., A. **Utilização de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de pragas de grãos armazenados**. 1993. 100f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MOINO JR., A.; ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v.122, p.301-305, 1998.

MOREIRA, C. A cigarrinha vermelha da cana-de-açúcar (*Tomaspsis liturata* Lep. & Serv.). **Boletim Instituto Biologia e Defensivo Agrícola**, Rio de Janeiro, v.4, p.1-23, 1925.

MOREIRA, C. Os insetos daninhos. V: A cigarrinha dos canaviais. **Chácara e Quintais**, São Paulo, v.21, n.6, p.480, 1920.

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

OLIVEIRA, M.A.S.; SOBRAL, E.S.G. **Teste de patogenicidade de cepas de *Metarhizium anisopliae* em pastagens de *Brachiaria humidicola***. Porto Velho: EMBRAPA-EUEPAT, 1982. 3 p.

OLIVEIRA, M.W.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P. Degradação da palhada de cana-de-açúcar. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, n.4, p.803-809, 1999.

PACOLA-MEIRELLES, L.D.; AZEVEDO, J.L. Variabilidade natural do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.33, p.657-672, 1990.

PEIXOTO, A.A. Cultivo de cana-de-açúcar e conservação dos solos nos Estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro. **Álcool & Açúcar**, São Paulo, n.30, p.42-52, 1986.

PEREIRA, K.F.A. Quatrocentos e setenta anos de açúcar no Brasil. **Brasil Açucareiro**, Rio Janeiro, v.80, n.2, p.113-121, 1972.

PESTANA, A.C. **Dois cercopídeos parasitas da cana-de-açúcar**. Rio de Janeiro: Estação Geral Experimental Campos, 1923. 17 p.

RAMOS, E.Q. **Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* Biótipo B**. 2001. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

REIS, P.R. Recomendações para o controle das cigarrinhas-das-pastagens. **Boletim Técnico da EPAMIG**, Belo Horizonte, v.1, p.1-15, 1983.

RIPOLLI, T.C.; VILLA NOVA, N.A. Colheita mecanizada da cana-de-açúcar: novos desafios. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.11, n.1, p.28-31, 1992.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA, 2003. Disponível em (<http://www.seagri.br>). Acesso em: 27 mar. 2004.

SÓSA-GOMEZ, D.R.; ALVES, S.B.; MILANI, M.T. Characterization and phenetic analysis of geographical isolate of *Beauveria* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.3, p.401-409, 1994.

SOUSA, I.C. Gerenciamento e Custos – Os seus indicadores estão adequados? **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 20, n.1, 2001.

SOUZA, H.D. O controle cultural da cigarrinha e a sua importância na execução de um plano integrado de combate a esta praga da cana de açúcar. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.76, n.4, 36-42, 1970.

SPAROVEK, G. et al. Aptidão das terras de Piracicaba para o corte mecanizado de cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.15, n.5, p.14-17, 1997.

STUPIELLO, J.P. Conversando com a cana: horas de queima. Ora!. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n.5, p.13, 1999.

SZMRECSÁNYI, T. Tecnologia e degradação ambiental: O caso da agroindústria canavieira no Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.24, n.10, p.73-78, 1994.

TAKADA, H.M. **Patogenicidade e seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae)**. 2002. 75f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

TAMAI, M.A. **Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch.** 1997. 86f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

TAMAI, M.A. **Controle de *Tetranychus urticae* Koch fungos entomopatogênicos.** 2002. 120f. Tese (Doutorado em) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

TIGANO-MILANI, M.S.; HONEYCUTT, R.J.; LACEY, L.A.; ASSIS, R.; McCLELLAND, M.; SOBRAL, B.W.S. Genetic variability of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates revealed by molecular markers. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.65, p.274-282, 1995.

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

UNIÃO DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA DE SÃO PAULO - UNICA, 2004. Disponível em (<http://www.unica.com.br/estatística>). Acesso em: 27 mar. 2004.

VARGAS, C.R. História da cana-de-açúcar (II). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.80, n.4, p.82-87, 1972.

VEIGA, F.M. A cigarrinha dos canaviais. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.54, n.6, p.9-16, 1964.

VEIGA FILHO, A. Fatores explicativos da mecanização do corte na lavoura canavieira paulista. **Informações econômicas**, v.28, n.11, p. 7-33, 1998.

VENTURA, J.A. **O fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e sua utilização no controle biológico das cigarrinhas-das-pastagens.** Cariacica: EMCAPA, 1977. p.1-12.

VESTERGAARD, S. et al. Pathogenicity of the Hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western thrips, *Frankliniella occidentalis*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v.5, p.185-192, 1995.

VESTERGAARD, S. et al. Light and electron microscopy studies on the infection of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Journal Invertebrate Pathology**, San Diego, v.73, p.25-33, 1999.

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