

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADES DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. PARA O CONTROLE
DE *Fidicinoides pronoe* (HEMIPTERA: CICADIDAE) E SUA COMPATIBILIDADE
COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NA CULTURA DO CAFÉ**

ÉERICA REGINA RODRIGUES CINTRA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Proteção de Plantas.

**BOTUCATU – SP
Junho – 2004**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADES DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. PARA O CONTROLE
DE *Fidicinoides pronoe* (CICADIDAE) E SUA COMPATIBILIDADE COM
PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS UTILIZADOS NA CULTURA DO CAFÉ**

ÉERICA REGINA RODRIGUES CINTRA

Orientador: Prof. Dr. Antonio Batista Filho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Proteção de Plantas.

**BOTUCATU – SP
Junho – 2004**

Aos meus Pais,

Regina Flora Rodrigues Cintra e Sebastião Moraes Cintra,

Pelo amor, apoio, carinho e compreensão

durante todos os momentos da minha vida,

a quem devo minha educação e formação.

DEDICO

À minha irmã

Raissa Helena Rodrigues Cintra pelo amor e apoio

nos difíceis momentos enfrentados pelo caminho

OFEREÇO

Agradecimentos

Ao Pesquisador Dr. Antonio Batista Filho pela orientação, confiança, incentivo, colaboração e acima de tudo pela amizade indispensável para ótima convivência durante este período.

Ao Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida, Pesquisador Científico do Instituto Biológico pelos ensinamentos e pela valiosa colaboração na realização deste trabalho.

Ao Dr. Valmir Antonio Costa, Pesquisador Científico do Instituto Biológico pela amizade, incentivo e valiosa ajuda durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Às amigas Inajá Marchizeli Wenzel e Maria Stella dos Santos Marcelino pela grande colaboração na montagem e avaliação dos ensaios, idéias, principalmente pelos valiosos conselhos e amizade.

Ao Pesquisador Científico do Instituto Biológico Dr. Luis Garrigós Leite pela correção do Summary.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico, Luciano, Aline, Tatiana, Mariana pela colaboração e amizade.

Ao Dr. Joaquim Adelino Azevedo Filho do Pólo Regional dos Agronegócios - Leste/Apta pelo fornecimento dos insetos.

À Dr. Nilza M. Martinelli do Departamento de Acarologia da Unesp/ Jaboticabal pela identificação do inseto.

Ao colega Marco Tamai, pela correção e idéias.

Ao Consórcio Brasileiro de Café - Embrapa/Café, pelo financiamento do projeto e pela concessão de bolsa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

Às Bibliotecárias da UNESP pela correção das referências bibliográficas.

A todos que ajudaram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | iv |
| SUMMARY | i |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 Aspectos biológicos, descrição e distribuição das principais espécies de cigarras na cultura do café no Brasil..... | 3 |
| 2.2 Danos..... | 5 |
| 2.3 Controle | 6 |
| 2.3.1 Controle químico..... | 6 |
| 2.3.2 Controle mecânico..... | 7 |
| 2.3.3 Controle cultural..... | 8 |
| 2.3.4 Controle biológico..... | 8 |
| 2.4 Uso de <i>Metarhizium anisopliae</i> no controle de pragas..... | 9 |
| 2.5 Compatibilidade de produtos fitossanitários de origem química com fungos entomopatogênicos | 13 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 16 |
| 3.1 Determinação da concentração de <i>Metarhizium anisopliae</i> para os testes de seleção de isolados | 16 |
| 3.2 Seleção de isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 17 |
| 3.3 Compatibilidade de <i>Metarhizium anisopliae</i> com inseticidas químicos | 18 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 22 |
| 4.1 Determinação da concentração de <i>Metarhizium anisopliae</i> para os testes de seleção de isolados | 22 |
| 4.2 Seleção de isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 23 |
| 4.3 Compatibilidade de <i>Metarhizium anisopliae</i> com produtos fitossanitários de origem química | 27 |
| 5 CONCLUSÕES..... | 35 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 36 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Identificação, hospedeiro e procedência de 9 isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> utilizados nos bioensaios com <i>Fidicinoides pronoe</i> | 18 |
| Tabela 2. Produtos fitossanitários utilizados nos teste de compatibilidade..... | 19 |
| Tabela 3. Valores de T para classificação do efeito de produtos químicos sobre fungos. | 21 |
| Tabela 4. Porcentagem de mortalidade confirmada de cigarras aos 5 e 10 dias após a aplicação de diferentes isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 24 |
| Tabela 5. Porcentagem de mortalidade confirmada de <i>Fidicinoides pronoe</i> aos 5 e 10 dias após a aplicação de diferentes isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 25 |
| Tabela 6. Crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de <i>Metarhizium anisopliae</i> , em meio de cultura com produtos fitossanitários nas concentrações máxima e mínima recomendadas. | 28 |
| Tabela 7. Classificação de defensivos químicos quanto à compatibilidade “in vitro” sobre o fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> , baseado no valor corrigido das porcentagens de crescimento vegetativo e esporulação (T). | 30 |

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Mortalidade (%) de <i>Fidicinoides pronoe</i> após aplicação de diferentes concentrações de <i>Metarhizium anisopliae</i> , calculado pela análise de Probit..... | 23 |
|--|----|

RESUMO

Neste trabalho estudou-se a patogenicidade de alguns isolados de *Metarhizium anisopliae* à cigarra do cafeeiro *Fidicinoidea pronoe*. Além disso, utilizou-se o isolado IBCB 348 para determinação da CL_{90} e avaliação da compatibilidade do fungo com produtos fitossanitários empregados na cultura do café. Todos os isolados de *M. anisopliae* testados em cigarras do café foram patogênicos, causando mortalidades confirmadas de 50 %, com exceção dos isolados IBCB 410 e IBCB 348, que atingiram mortalidade de 60 %. Observou-se que a mortalidade foi maior nos 5 primeiros dias, havendo diminuição da mesma a partir do 6º dia. No teste de compatibilidade com produtos fitossanitários verificou-se que o fungicida oxiclreto de cobre, nas duas doses avaliadas (5.000g/ha e 2.000g/ha), resultou em maior produção de conídios e redução do crescimento vegetativo. O thiabendazole (35g/ha concentração mínima) e o hidróxido de cobre (5.000g/ha concentração máxima) não diferiram da testemunha quanto à produção de conídios. Já os produtos thiabendazole (1.500g/ha concentração máxima), benomyl (1.000g/ha), tebuconazole (100mL/ha), cyproconazole (200mL/ha) e mancozeb (5.000g/ha e 3.500g/ha) foram estatisticamente iguais entre si, mas apresentaram menor produção de conídios do que a testemunha. Através da fórmula de T, que avalia a compatibilidade dos produtos e sua toxicidade, o oxiclreto de cobre (2.000g/ha) e o thiabendazole (35g/ha) foram considerados compatíveis com *M. anisopliae*. Os demais fungicidas avaliados foram classificados como muito tóxicos e não apresentaram produção de conídios e crescimento vegetativo, com exceção de thiabendazole (1.500g/ha), que apresentou

crescimento vegetativo. Quanto aos herbicidas avaliados, todos os produtos foram classificados como muito tóxicos nas concentrações testadas, afetando o crescimento vegetativo e a produção de conídios. No grupo de inseticidas avaliados observou-se que o thiamethoxam, nas duas concentrações 1.000g/ha e 300g/ha, não diferiu da testemunha em relação à produção de conídios, sendo considerado compatível com *M. anisopliae*. Os demais inseticidas resultaram em menor produção de conídios do fungo, sendo considerados muito tóxicos, com exceção de fipronil 800 WG na concentração máxima (500g/ha) (tóxico) e fipronil 800 WG na concentração mínima (250g/ha) (moderadamente tóxico).

EVALUATION OF *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. FOR THE CONTROL OF *Fidicinoides pronoe* (CICADIDAE) AND ITS COMPATIBILITY WITH PESTICIDES PRODUCTS USED IN COFFEE CROP. Botucatu, 2004. 51p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ÉRICA REGINA RODRIGUES CINTRA

Adviser: ANTONIO BATISTA FILHO

SUMMARY

This paper deals with the pathogenicity of some isolates of *Metarhizium anisopliae* to the coffee cicada, *Fidicinoides pronoe*. Also, the isolate IBCB 348 were used to determine the LC₉₀ and to evaluate the compatibility of this fungus with the pesticides used on the coffee crop. All *M. anisopliae* isolates were pathogenic to the coffee cicada, causing at least 50 % of confirmed mortality. The virulence of the fungus was higher in the first five days, decreasing after the sixth day. The fungicide copper oxicloreto, in both concentrations, resulted in higher production of conidia and reduction of vegetative growth. Thiabendazole (minimum concentration) and copper hydroxide (maximum concentration) led to conidia production similar to the control. Thiabendazole (maximum concentration), benomyl, tebuconazole, cyproconazole and mancozeb (both concentrations) showed lower production of conidia than the control. By using the T formula, which evaluate the compatibility of the pesticides and their toxicity, copper oxicloreto and thiabendazole were considered compatibles with *M. anisopliae*. The remaining fungicides were classified as very toxic and showed neither production of conidia nor vegetative growth, excepting thiabendazole (maximum concentration), which resulted in vegetative growth. All herbicides were very toxic to the fungus. Among the insecticides, thiamethoxam were considered compatible to *M. anisopliae*; the other products resulted in lower production of conidia and were considered from moderately to very toxic.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil tem participação majoritária na produção mundial de café correspondendo entre 30 a 40 %. É também o segundo maior consumidor mundial. Seu consumo equivale a aproximadamente 50 % do total consumido em todos os outros países produtores (Agrianual, 2004).

O Estado de Minas Gerais é o maior produtor nacional de café (52,1 % do total produzido), sendo que em 2002 a sua produção média foi de 24,6 milhões de sacas beneficiadas. A renda bruta obtida com a venda de café representa mais de 70 % de todo o montante gerado pelas propriedades agrícolas do Estado. Somente as atividades de condução da cultura, colheita e outras, proporcionam trabalho para cerca de 154 mil famílias, compensando-as em termos de salários anuais, com um montante de aproximadamente R\$ 440 milhões (FAEMG, 2002).

Entre os problemas fitossanitários da cultura no país, as cigarras são consideradas pragas-chave no Brasil, principalmente nos Estados de São Paulo e Minas Gerais.

Os prejuízos causados nos cafezais também são enormes, chegando a ocorrer perda de lavouras, fazendo com que sejam necessárias enormes quantidades de inseticidas no solo, aumentando assim o custo de produção e a contaminação do ambiente (Fornazier et al., 2000).

O controle microbiano da cigarra do cafeeiro surge como uma alternativa junto aos métodos de manejo integrado, inclusive com a utilização de defensivos químicos. Nesse campo do conhecimento, poucos trabalhos foram desenvolvidos e, portanto, não se tem relatos do uso de agentes microbianos para o controle desta praga, havendo a necessidade de pesquisas sobre a diversidade de microrganismos entomopatogênicos, ciclo e epizootia, estratégias de aplicação, compatibilidade com outros defensivos químicos e métodos de aplicação.

Os objetivos deste trabalho foram estudar a patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* em diferentes concentrações e selecionar, em condições de laboratório, o isolado mais virulento à cigarra do cafeeiro, *Fidicinoides pronoe*, bem como avaliar sua compatibilidade com os principais produtos fitossanitários na cultura do café.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos biológicos, descrição e distribuição das principais espécies de cigarras na cultura do café no Brasil

As cigarras (Hemiptera: Cicadidae) apresentam desenvolvimento hemimetabólico, passando pelas fases de ovo, ninfa móvel, ninfa imóvel e adulta. Os adultos (fêmeas) realizam as posturas na casca dos galhos e ramos secos das plantas hospedeiras, através de uma incisão feita com seu ovipositor na medula da árvore. A fêmea desloca levemente a casca do ramo sem removê-la. Assim que o ovipositor é retirado, a casca volta a cobrir o orifício de oviposição, o que torna muito difícil localizá-lo (D’Utra, 1905). Em poucos dias eclodem as ninfas, as quais descem ao solo por meio de um filamento produzido com suas excreções e o penetram, indo alojar-se junto às raízes da planta (Reis et al., 1984).

Nas raízes, as ninfas móveis iniciam a sucção de seiva, ocasionando sintomas de deficiência aguda de nutrientes na planta e queda precoce de produtividade no cafeeiro (Fornazier et al., 2000). Durante a alimentação, parte da seiva é expelida pela ninfa, servindo para umedecer e, conseqüentemente, amolecer o solo próximo ao inseto, facilitando dessa maneira a abertura, com as pernas anteriores, de uma cavidade no sentido perpendicular ao ponto em que a ninfa se encontra. Assim, forma-se uma câmara cujo tamanho vai sendo aumentado para acomodar o corpo do inseto em desenvolvimento até que este adquira o

desenvolvimento máximo, o qual é caracterizado pela presença das tecas alares (Souza et al., 1983).

As ninfas localizam-se, geralmente, nas raízes mais grossas e também na raiz principal da planta, onde são encontradas até a profundidade de 1 metro. O normal é encontrar a maior concentração de ninfas até 35 cm de profundidade, numa circunferência de 25 cm de raio a partir da raiz principal (Souza et al., 1983). Terminada a fase de ninfa móvel, o inseto abandona o solo por meio de uma galeria cilíndrica, individual, geralmente sob a parte aérea da planta. Em seguida, a ninfa sobe ao tronco do cafeeiro ou em qualquer outro suporte onde, depois de fixada, passa para a fase de ninfa imóvel, a qual dura aproximadamente duas horas, geralmente a partir do anoitecer. Em seguida, rompe o tegumento no dorso emergindo o adulto e deixando no tronco a exúvia (Souza et al., 1983).

Hempel (1913) foi o primeiro a estudar o ataque de cigarras às raízes do cafeeiro. O autor identificou, como causadoras de danos em plantações de vários municípios do Estado de São Paulo, três espécies: *Carineta fasciculata* (Germar, 1830), *Fidicina pullata* (Berg., 1879) e *Fidicina drewseni* (Stal, 1854). O reconhecimento das principais espécies de cigarras-praga do cafeeiro no Brasil, segundo o autor, pode ser realizado segundo os seguintes caracteres:

a. *Quesada gigas* (Olivier, 1970), tamanho: 3,7 x 1,5 cm, cabeça de colorido escuro, opaco, olhos projetados lateralmente;

b. *C. fasciculata*, tamanho: 2,4 x 1,0 cm, de colorido fundamental marrom, cabeça relativamente grande com olhos laterais projetados;

c. *F. drewseni*, tamanho: 2,0 x 0,9 cm, de colorido verde-oliva, cabeça alargada e olhos laterais salientes (Vellozo et al., 1965).

Q. gigas e *Fidicina* sp. apresentam gerações superpostas, com duração da fase de ninfa móvel no solo de aproximadamente dois anos. A espécie *Q. gigas* é a que causa maior dano devido ao tamanho de suas ninfas móveis; sendo as maiores, sugam muito mais, sendo que quase a totalidade das ninfas móveis por cova infestada é desta espécie. Uma composição percentual das espécies por cova de cafeeiro infestada geralmente mostra 87 % de *Q. gigas* e 13 % de *Fidicina* sp. (Souza et al., 1983).

Embora *Fidicina mannifera* (Fabricius, 1803) tenha sido anteriormente considerada como a espécie mais comum em surtos nesta cultura não observaram a presença

desta espécie em cafeeiros, concluindo que a única espécie associada ao cafeeiro era *Fidicina pronoe* (Walker, 1850).

Os primeiros registros de ocorrência de cigarras em cafezais no Estado de São Paulo foram feitos no período de 1900 a 1904, em Caconde e depois em Campinas (D'Utra, 1908).

Em 1985, as regiões mais atingidas pelas cigarras foram os municípios de Altinópolis, Batatais, Franca, Patrocínio Paulista, Itirapuã, no Estado de São Paulo, e São Sebastião do Paraíso, São Tomás de Aquino e Alfenas em Minas Gerais.

F. pullata foi encontrada em maior quantidade em Caconde - SP e *C. fasciculata* foi encontrada em Campinas – SP e Itatinga - SP.

A entomofauna cafeeira do Estado de Minas Gerais foi observada por Reis & Souza (1978), fornecendo a informação de incidência de *Q. gigas* em cafeeiros de São Gotardo.

2.2 Danos

Pelos seus ataques generalizados, as cigarras podem causar prejuízos totais às lavouras infestadas. Para se ter uma idéia da alta nocividade desses insetos, basta considerar que nos cafezais infestados as plantas sofrem, continuamente, verdadeiro bombeamento de seiva das raízes, pela ação sugadora de centenas de ninfas.

Os sintomas característicos do ataque das ninfas nas raízes se manifestam na parte aérea das plantas, pelo definhamento, clorose nas folhas das extremidades dos ramos e queda precoce de folhas, resultando em ramos desnudos, com a permanência de folhas só nos seus ápices. No período chuvoso, as lavouras atacadas, recebendo os tratamentos culturais normais, exibem um desenvolvimento vegetativo normal, não apresentando definhamento tão visível. Contudo, no período seco os sintomas tornam-se característicos, e o definhamento é o indicador para as lavouras atacadas, que se tornam improdutivas, com floradas insignificantes (Souza et al., 1984).

Na região de São Sebastião do Paraíso/MG existem lavouras altamente tecnificadas e que há dois anos atrás vinham apresentando baixíssimas produções devido ao ataque das cigarras. Nestas lavouras, totalmente antieconômicas, se não for feito o controle

químico não resta outra alternativa aos cafeicultores senão erradicá-las. Nesses casos, são baixíssimas as produções, o custo é elevado, as lavouras inviáveis economicamente e há grandes prejuízos econômicos e sociais pela dispensa da mão-de-obra, devido à necessidade de erradicação de cafezais improdutivos (Souza et al., 1983).

2.3 Controle

2.3.1 Controle químico

Segundo Heinrich & Pupin Netto (1965), uma das primeiras recomendações para o controle químico da cigarra foi preconizada através do uso do bissulfeto de carbono e tetracloreto de carbono, alertando-se, porém, sobre as dificuldades e custo das aplicações. Posteriormente, estudos mostraram alta porcentagem de redução de ninfas móveis das cigarras pelos inseticidas sistêmicos granulados Forate a 5 % e dissulfoton a 2,5 %.

Um estudo feito para avaliar a influência de épocas de aplicação e dosagens de dois inseticidas sistêmicos, Thimet e Disyston, mostrou que a quantidade de Thimet utilizado para o controle da cigarra do café pode ser reduzida à metade (5 % do princípio ativo) sem prejuízos para os efeitos de combate à praga; entretanto o inseticida Disyston a 2,5 % provou ser superior em seus efeitos às duas dosagens usadas de Thimet, representando economia de produto, menor custo e menor contaminação ambiental (Heinrich & Pupin Netto, 1965).

O controle de cigarras do café vem sendo feito através do uso de inseticidas granulados sistêmicos no solo, aplicados de forma mais concentrada e longe do tronco (Martinelli et al., 1998). Esses mesmos produtos, devido à longa ação residual, controlam com eficiência o ataque do bicho mineiro, cochonilhas das raízes, ácaros e outras pragas de solo (Reis et al., 1984).

Inseticidas sistêmicos na formulação granulada, quando aplicados no solo, são absorvidos pelas plantas via xilema, sendo levados para a parte aérea das plantas pela seiva. Assim a distribuição do inseticida deve ser feita de forma homogênea para uma melhor absorção do produto (Souza et al. 1983). Segundo Gallo et al., 2002, os inseticidas granulados podem ser aplicados, com sucesso, ao redor das plantas já formadas ou em formação, a alguns

centímetros de profundidade, visando o controle de insetos sugadores das raízes como as cigarras.

Scarpellini et al. (1994), utilizaram diferentes inseticidas granulados sistêmicos para controle de ninfas de cigarra do cafeeiro, obtendo um resultado de 68,0 % de mortalidade da praga no primeiro ano e 72,5 % de mortalidade no segundo ano. Todos os produtos proporcionaram um acréscimo na produção, sendo que o melhor produto foi o furatiocarb.

A melhor época para a aplicação de inseticidas para controle das ninfas compreende o período chuvoso, quando se obtém maior eficiência do inseticida sistêmico, devido a uma maior circulação de seiva. O período entre a aplicação e a época de colheita é importante para evitar perigo de resíduos nos frutos (Heinrich & Pupin Neto, 1964).

A aplicação pode ser feita através de matracas, mas, devido à aplicação ser localizada, com poucos pontos por cova, tem-se uma menor eficiência e uniformidade de controle (Souza et al., 1983).

Os inseticidas, apesar de eficientes, contribuem para aumentar o custo de produção da cultura e exigem especial atenção em relação à época e condições de aplicação. Além disso, excessivas aplicações de inseticidas poluem o meio ambiente, constituindo-se numa ameaça à saúde humana (Reis et al., 1984).

2.3.2 Controle mecânico

O controle mecânico consiste na catação de ninfas imóveis e adultos das cigarras. A catação é necessariamente feita no período da manhã, enquanto que os adultos são capturados com redes entomológicas. Foi observado que, à tardinha, certas espécies de cigarras reúnem-se em grande número nos arbustos e árvores situados no meio dos cafezais ou próximos a eles (Fonseca & Araújo, 1939). Este método é impraticável, devido à curtíssima duração da fase de ninfa imóvel, à rapidez do deslocamento e vôo dos adultos, à extensão das lavouras atacadas e ao alto custo da mão-de-obra, além das possíveis reinfestações decorrentes da dispersão dos insetos (Souza et al., 1983).

2.3.3 Controle cultural

O controle cultural consiste na eliminação do cafezal infestado e plantio de novos cafeeiros somente após dois ou três anos. Os cafezais em formação não são atacados pelas cigarras (Souza et al., 1983).

2.3.4 Controle biológico

Heinrich (1967) verificou que os inimigos naturais mais comuns das cigarras são tatus, que predam as ninfas, e o gavião *Milvago chimachima* (Vieillot), que preda adultos e é considerado o inimigo natural mais importante dessa fase do inseto.

Soper et al. (1976) referem-se ao fungo entomopatogênico *Massospora cicadina* Peck como um dos mais importantes agentes de controle biológico de cigarras do cafeeiro. Esses autores verificaram que o ciclo desse fungo em cigarras tem início com a infecção, pelo contato com esporos de repouso encontrados no solo, de ninfas móveis no último estágio, pouco antes de estas saírem do solo e se transformarem em ninfas imóveis. Ao emergir e transformar em adulto, o inseto desenvolve uma massa conidial em poucos dias e contamina outros adultos. As cigarras infestadas acima do solo por conídios desenvolvem esporos de repouso, que são levados para o solo quando o inseto morre. O tempo necessário para o desenvolvimento do fungo no inseto é de 6 a 15 dias.

Segundo White & Lloyd (1983), o fungo *M. cicadina* não invade o tórax ou cabeça, mas somente o abdome, nos escleritos terminais, que caem e expõem uma massa de conídios infectivos. O inseto porém continua vivo e transmite a doença ao voar entre outros indivíduos durante o vôo nupcial. As massas de conídios possuem coloração clara, estrutura coesa e apenas alguns milhares de conídios se separam de cada vez. Já os esporos de repouso são mais escuros e formam uma massa.

De acordo com Alves (1998), o fungo *Massospora* sp. é um dos principais agentes de controle microbiano de cigarras. Esse fungo possui conídios alongados e multinucleados (um a seis núcleos) e esporos de resistência característicos (zigosporos), com superfície reticulada, formados a partir de corpos hifais no abdome do hospedeiro. Nas cigarras, causa a chamada “gangrena seca”. Os clamidósporos podem sobreviver por até 17

anos. No Brasil, as principais espécies já relatadas são *Massospora spinosa* Arnaudow, *Massospora dorisiana*, *Massospora carineta* e *Massospora diminuta*.

Duke et al. (2002) realizaram um estudo de infectividade de esporos de *M. cicadina*, concluindo que o fungo é patogênico para as espécies estudadas, *Magicicada septendecim* (Linnaeus, 1758) e *M. tredecassini* (Alexander and Moore, 1962). Os esporos de repouso são capazes de infectar após um ano de dormência. Estes estudos também comprovaram uma maior infecção em machos da espécie *M. septendecim*, onde foram produzidos $1,4 \times 10^6$ esporos de repouso/inseto, do que para fêmeas.

Reis et al. (1984), observaram ninfas móveis de cigarras no solo, mortas e mumificadas, com o corpo recoberto por um fungo de coloração esverdeada, principalmente na cabeça e apêndices. Esse fungo foi identificado como *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Após seu isolamento, o fungo foi multiplicado em laboratório, sendo a suspensão de conídios pulverizada em ninfas vivas, grandes, da espécie *Q. gigas*, criadas em mudas de cafeeiros. Trinta dias após a pulverização estas se apresentavam mortas, totalmente envolvidas pelo micélio e conídios do fungo.

Costa et al. (1993) pulverizaram 2,5 mL de uma suspensão de conídios de *M. anisopliae* na concentração de 1×10^7 conídios/mL (90 % viabilidade) em ninfas de cigarra e obtiveram uma mortalidade de 21,1 %; quando acrescida de óleo mineral (5 %), a mortalidade chegou a 80,7 %.

2.4 Uso de *Metarhizium anisopliae* no controle de pragas

Diversos isolados de *M. anisopliae* vêm sendo estudados para o controle de insetos de várias ordens que atacam culturas de importância econômica. *M. anisopliae* variedade *anisopliae* é o mais estudado devido à sua considerável produção de destruxinas. 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., 1998).

Apesar dos primeiros estudos com fungos entomopatogênicos terem sido iniciados em 1932, somente a partir de 1964 com a ocorrência epizoótica de *M. anisopliae* sobre as cigarrinhas da cana-de-açúcar (Hemiptera: Cercopidae) é que esses

patógenos receberam mais atenção dos pesquisadores. Mais de 50 % dos trabalhos de patologia de insetos e controle microbiano publicados no Brasil são sobre fungos entomopatogênicos, sendo 90 % desses desenvolvidos nas últimas duas décadas (Tamai, comunicação pessoal).

Os primeiros trabalhos de controle de *Mahanarva posticata* (Hemiptera: Cercopidae) com o fungo *M. anisopliae* foram realizados em 1969, sendo que a partir de 1975 teve início a instalação de laboratórios setoriais para a produção do fungo nas usinas de Pernambuco, região Nordeste do Brasil (Marques et al., 1981). Em Pernambuco, as áreas foram tratadas com pulverizadores motorizados terrestres e pulverização aérea, onde foi observado que na aplicação aérea a mortalidade de ninfas e adultos foi superior a 80 %, enquanto que nas aplicações terrestres foram registradas médias de mortalidade de ninfas de 30 a 40 % e para adultos de 20 a 30 % (Guagliumi, 1971; Guagliumi et al., 1974).

A utilização de *M. anisopliae* para o controle das cigarrinhas da cana-de-açúcar no Nordeste vem trazendo resultados positivos. Sendo a cana uma cultura semiperene e implantada em grandes áreas, a aplicação contínua de inseticidas químicos, como vinha sendo feita, poderia levar a um desequilíbrio biológico irreparável nesse agroecossistema.

No Estado de Alagoas, foram pulverizados com *M. anisopliae* cerca de 670.000 hectares infestados pela *M. posticata*. Além da redução de aproximadamente 72 % nos índices de infestação da praga, proporcionada pela aplicação do fungo, outra grande vantagem do programa de controle microbiano foi a conseqüente diminuição de emprego de inseticidas químicos (Marques, 1992).

Existem atualmente dezenas de laboratórios de produção de *M. anisopliae* dentro das usinas e um número crescente de empresas que se estabeleceram no mercado nos últimos anos, além do fornecimento em menor escala por centros de pesquisa e universidades.

Além de todos os benefícios relacionados à redução de inseticidas químicos na cultura da cana-de-açúcar, outro aspecto positivo do aumento do uso do fungo *M. anisopliae* nos últimos anos é seu efeito sobre *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). A broca é suscetível ao fungo *M. anisopliae* que coloniza naturalmente cerca de 10 % das larvas nas condições do Nordeste. O fungo é patogênico para

todos os estágios de desenvolvimento da broca, sendo altamente eficiente para ovos de um a dois dias de idade e larvas recém-eclodidas (Alves, 1986; Mendonça et al. 1996).

No período de 1990 a 1996, vários trabalhos foram realizados e comprovou-se a grande eficácia do fungo *M. anisopliae* no controle de cupins do gênero *Cornitermes* (Isoptera: Termitidae) (Almeida, 1994, Alves et al., 1995, Fernandes, 1991, Neves, 1999).

Atualmente no Brasil o fungo *M. anisopliae* vem sendo utilizado no controle de inúmeras pragas da agricultura. Além da cigarrinha da cana-de-açúcar *M. posticata*, citam-se as cigarrinhas das pastagens pertencentes aos gêneros *Deois* e *Zulia* (Hemiptera: Cercopidae), espécies de formigas do gênero *Atta* (Hymenoptera: Formicidae) e cupins (Isoptera), entre outros (Alves 1998).

Roberts e Campbell (1977) afirmaram que *M. anisopliae* é mais frequentemente isolado de insetos com hábitos terrestres, sendo esta espécie de entomopatógeno muito promissora para o controle biológico, pois o solo é fisicamente apropriado para o desenvolvimento do fungo devido a altas temperaturas, umidade e proteção da luz solar direta.

Sosa-Gómez & Moscardi (1998) testaram, sobre percevejos da soja (Hemiptera: Pentatomidae), isolados de *M. anisopliae* e *Beauveria. bassiana* em condições de campo e observaram que *B. bassiana* foi menos eficiente contra os percevejos do que *M. anisopliae*.

Hanel (1982) testou 22 raças de cinco espécies de fungos [*Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn), *Entomophthora virulenta* Hall & Dunn, *Entomophthora destruens* Weiser & Batko, *M. anisopliae* e *Absidia coerulea* Bainier]. Os critérios de seleção foram infectividade nos operários, ninfas e soldados de *Nasutitermes exitiosus* (Hill., 1925) (Isoptera: Termitidae), crescimento e esporulação dos fungos em duas faixas de temperatura (25-27 °C e 30-31 °C) e a durabilidade relativa dos estágios infectivos. Somente *M. anisopliae* permitiu resultado satisfatório.

Fernandes (1991) estudou a patogenicidade de 4 isolados de *M. anisopliae*, 5 isolados de *B. bassiana* e um isolado de *Aspergillus* sp. sobre cupins de montículo *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae), inoculando-os através de fragmentos de ninhos contaminados pela imersão em uma suspensão de $1,2 \times 10^8$

conídios/mL. Observou que o fungo *M. anisopliae* foi o mais virulento, seguido dos isolados de *B. bassiana*, havendo diferenças de virulência entre os isolados da mesma espécie, o que indica a existência de variação genética entre isolados da mesma espécie de fungo, provenientes de locais diferentes e infestando insetos diferentes.

Atualmente, *B. bassiana* e *M. anisopliae* são também utilizados em algumas áreas do Centro-Oeste para o controle de *Leptopharsa heveae* Drake & Poor, 1935 (Hemiptera: Tingidae), com desempenho semelhante a do fungo *Sporothrix insectorum* (Hoog & Evans) (Tanzini, 2002).

Estudos em campo revelam o grande potencial do fungo *M. anisopliae* para controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), do tripses *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) (Thysanoptera: Thripidae) e da mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) em condições de cultivo protegido (Lopes et al., 2000; Ramos et al., 2001; Alves et al., 1998).

Na Costa Rica o fungo *M. anisopliae* é a espécie mais utilizada, figurando como uma das estratégias de controle, não química, mas difundida em diversas culturas agrícolas no país. É usado principalmente para o controle das cigarrinhas *Aeneolamia postica* Walker, 1858, *A. albofasciata* (Lallemand,), *Prosapia bicincta* (Say, 1830) e *Prosapia simulans* (Walker, 1866), pragas de grande importância em cana-de-açúcar.

M. anisopliae é também utilizado, em menor escala, para o controle de adultos e ninfas de gafanhotos, *Schistocerca piceifrons* Walker, 1870, *Schistocerca centralis*, *Schistocerca palens* (Orthoptera: Acrididae) e *Saccharosydne saccharivora* (Westwood, 1833) (Hemiptera: Delphacidae). Em outras culturas tais como café, olerícolas e ornamentais em estufa, para o controle de *Collaria* sp. (Hemiptera: Miridae), *Tagosodes* sp (Hemiptera: Delphacidae), *Hypothenemus hampei* (Fabr., 1801) (Coleoptera: Scolytidae), *Phyllophaga* sp., *Strategus* sp., *Eutheola* sp. (Coleoptera: Scarabaeidae), cupins e lagartas (Sáenz et al., 2002).

Em Cuba, a produção de *M. anisopliae* chegou a 140 toneladas no período de 1993 a 1995, sendo este utilizado para o controle de pragas de grandes culturas, tais como arroz, banana, cana-de-açúcar, citros, forrageiras e pastagem (Pérez & Vasquez, 2001).

2.5 Compatibilidade de produtos fitossanitários de origem química com fungos entomopatogênicos

Com a integração dos métodos de controle de pragas, intensificam-se os estudos que visam avaliar os efeitos da associação de entomopatógenos com defensivos químicos. Essa prática reveste-se como alternativa para, de uma forma racional, diminuir o impacto que o abusivo uso de inseticidas possa causar no meio ambiente. Como primeiro passo para se avaliar a possibilidade de utilização de agentes microbianos em misturas com defensivos químicos, tornam-se necessárias pesquisas sobre a compatibilidade entre eles (Batista Filho et al., 1987).

A conservação e a utilização de agentes de controle biológico dentro dos agroecossistemas é uma das principais estratégias adotadas no manejo integrado de pragas. Em ambos os casos deve-se conhecer a ação dos produtos fitossanitários de origem química sobre o inimigo natural e a partir daí determinar sua seletividade/compatibilidade (Batista Filho et al., 2003).

A ação dos produtos fitossanitários sobre entomopatógenos pode variar desde a inibição do crescimento vegetativo e da conidiogênese até a ocorrência de mutações genéticas alterando sua virulência (Alves et al., 1998).

Diversos trabalhos têm contribuído para auxiliar na escolha do defensivo químico que menos afete o desenvolvimento dos entomopatógenos, permitindo a manutenção de fontes de inóculo, indispensáveis para o desencadeamento de epizootias (Ramaraje et al., 1967; Moino Jr & Alves 1998).

Nesse aspecto, em nossas condições, o fungo *M. anisopliae* tem sido muito estudado, principalmente em função de sua utilização em larga escala para o controle das cigarrinhas da cana-de-açúcar e das pastagens. Pesquisadores preocupados com a possível interferência de tratamentos culturais (capina química, controle químico de doenças e pragas etc.) testaram alguns produtos utilizados nessas culturas com o referido microrganismo.

Segundo Camargo (1983), o desenvolvimento do fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, “in vitro”, é inibido por diferentes concentrações de inseticidas piretróides. A maior ação inibidora é mostrada pelo Decis CE 2,5, sendo menos afetado pelo Ripcord CE 40 e, moderadamente, por Belmark CE 30 e Talcord CE 40.

Alves (1986) apresenta várias tabelas de compatibilidade, envolvendo diferentes fungos entomopatogênicos e inseticidas químicos. Para *M. anisopliae*, os produtos mais compatíveis foram Dimetoato SC, Phosdrin CE, Folimat CE, Ambush CE, sendo que Unden CE, Thiobel PS e Mipcin P causaram drástica inibição do patógeno. No caso de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., os mais compatíveis foram Dimetoato SC, Phosdrin CE, Folimat CE e Ambush CE, sendo que os mais prejudiciais foram Diazinon CE, Fosvan CE, Thiodan CE, Lannate PM e Super Rhodiatox CE. Para o fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, a maioria dos inseticidas testados mostraram-se compatíveis, entre os quais Orthene PM, Dimilin CE e Vydate PM.

O efeito de imidacloprid e fipronil sobre *B. bassiana* e *M. anisopliae* foram estudados por Moino Jr & Alves (1998), os quais concluíram que fipronil influencia tanto o crescimento vegetativo quanto a esporulação de *B. bassiana*, enquanto que *M. anisopliae* apresentou uma diminuição no crescimento vegetativo, mas não teve diferença com relação à esporulação. No caso dos produtos imidacloprid e fipronil, mesmo havendo diferenças médias de até cerca de 30 % no crescimento vegetativo e conidiogênese de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, pode-se considerar as duas formulações como compatíveis com esses entomopatógenos, quando utilizados nas concentrações médias recomendadas ou em concentrações subletais. Por outro lado, Batista Filho et al. (2001) observaram que imidacloprid e fipronil variaram de moderadamente tóxico a incompatível, tanto em concentrações máximas como mínimas, para *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Esses inseticidas, independentes da concentração, foram classificados como compatíveis para o fungo entomopatogênico *S. insectorum*.

Trabalho recente de compatibilidade de uma formulação de endosulfan demonstrou incompatibilidade com *B. bassiana* na cultura do café, assim como fungicidas cúpricos utilizados para o controle de ferrugem do cafeeiro em testes “in vitro” e em campo. Porém, a utilização de inseticidas/fungicidas sistêmicos como a mistura triadimenol + dissulfoton, aplicados diretamente no solo, não afetou o controle biológico com esse fungo (Alves et al., 1998).

Batista Filho et al. (2001) estudaram a compatibilidade de diversas formulações comerciais de inseticidas sobre microrganismos entomopatogênicos, em condições de laboratório e campo, verificando que o thiametoxam foi compatível com *B.*

bassiana, *M. anisopliae*, *Verticilium lecanii* (Zimm.) e *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Porém, o endosulfan foi incompatível para todos os microrganismos estudados, assim como monocrotophós, deltametrina, fipronil e carbosulfan, nas condições de laboratório, ressaltando a importância de estudos dessa natureza para a conservação de microrganismos entomopatogênicos.

Os produtos fitossanitários de origem química também podem agir de maneira positiva em combinações com entomopatógenos. Em doses subletais eles interagem causando ou ativando doenças infecciosas pelo “stress”, tornando os insetos mais suscetíveis a ação das toxinas microbianas (Chen et al.,1974). Um efeito similar foi observado por Mc Gaughey (1975).

A interação entre *B. bassiana* e óleo mineral foi avaliada por Batista Filho et al. (1995) com o objetivo de controlar a broca da banana, *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). Os autores observaram um efeito aditivo da combinação, que causou 98 % de mortalidade de adultos, comparada a 70 % causada pelo fungo isoladamente e 33 % apenas pelo óleo mineral. Alves (1998) apresenta uma tabela mostrando que muitas combinações de inseticidas com entomopatógenos apresentaram efeito aditivo.

Deve-se ressaltar que os testes realizados com produtos fitossanitários (químicos) e entomopatógenos normalmente são conduzidos em laboratório, onde as condições são extremas, ao contrário das condições de campo, onde o tempo de exposição do agente microbiano é bem menor. (Batista Filho et al.,1987).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Determinação da concentração de *Metarhizium anisopliae* para os testes de seleção de isolados

O isolado de *M. anisopliae* utilizado foi o IBCB 348, proveniente da coleção de entomopatógenos “Oldemar Cardin Abreu”, do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico. Encontram-se armazenados em “freezer” a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, na forma de conídios puros, acondicionados em “ependorfs”.

Inicialmente o fungo foi repicado em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar) previamente autoclavado à $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. As placas foram então mantidas, durante 7 dias, em câmara para germinação tipo B.O.D “Biological Oxygen Demand” com temperatura e fotofase controlados ($26\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 12 horas, respectivamente). Após a esporulação foi realizada a raspagem das placas para extração dos conídios e preparo das suspensões.

Ninfas de *Fidicinoides pronoe* foram coletadas em uma plantação comercial de café severamente infestada pela praga, localizada na cidade de Monte Alegre do Sul, Estado de São Paulo. As cigarras coletadas foram transportadas para o laboratório em caixas de isopor contendo solo retirado da própria cultura. No laboratório, as ninfas foram transferidas para placas de Petri (20 cm de diâmetro) em número de 1 ninfa/placa, sendo que cada placa representava uma repetição.

Os tratamentos consistiram de 5 concentrações de *M anisopliae* (1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 e 1×10^9 conídios viáveis/mL), além da testemunha, que recebeu apenas água destilada estéril. Cada placa foi pulverizada com 1,0 mL da suspensão de seus respectivos tratamentos utilizando uma torre de Potter. Após a pulverização, os insetos foram individualizados em tubetes contendo muda de café para alimentação das ninfas e mantidas em ambiente controlado (60 % UR, 25 °C e fotofase de 12 horas). Para cada tratamento foram utilizadas 13 repetições.

As avaliações foram realizadas diariamente, através da retirada da muda de café, anotando-se o número de insetos mortos e vivos. Os indivíduos mortos foram desinfestados em álcool 70 % e lavados posteriormente em água destilada estéril. Em seguida, os cadáveres foram transferidos para o interior de placas de Petri fechadas, contendo papel úmido, para favorecer a ocorrência da conidiogênese do fungo sobre os cadáveres e assim comprovar a morte pelo entomopatógeno.

Para a determinação da concentração CL_{90} foi realizada a análise de Probit, empregando-se valores obtidos 3 dias após a pulverização do fungo.

3.2 Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae*

Foram utilizados 9 isolados no ensaio (Tabela 1).

Para multiplicação dos isolados foram empregadas as mesmas técnicas descritas no item anterior. A concentração utilizada foi aquela determinada no item 3.1.

Grupos de 13 ninfas, coletadas em campo, foram colocadas em placas de Petri (20 cm de diâmetro) e com o auxílio de uma torre de Potter foi pulverizado 1 mL da suspensão fúngica de cada isolado por placa. Para cada tratamento, representado pelo isolado, foram utilizadas 13 repetições, sendo considerada cada ninfa uma repetição. Após a pulverização, os insetos foram individualizados em tubetes contendo muda de café para a alimentação das ninfas e transferidos para ambiente com temperatura, umidade relativa e fotoperíodo controlados (26 °C, 60 % UR e 12 horas).

A avaliação foi realizada diariamente, retirando-se as ninfas mortas, as quais foram lavadas com água corrente e colocadas em câmara úmida para comprovação da morte pelo fungo.

Tabela 1. Identificação, hospedeiro e procedência de 9 isolados de *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Fidicinoides pronoe*.

| Isolado | Hospedeiro | Procedência |
|----------|--|-----------------|
| IBCB 410 | Amostra de solo | Iporanga -SP |
| IBCB 425 | Amostra de solo | Iporanga -SP |
| IBCB 482 | Amostra de solo | Campinas -SP |
| IBCB 348 | <i>Mahanarva fimbriolata</i> | Sertãozinho -SP |
| E 9 | <i>Mahanarva posticata</i> | Embrapa |
| 1037 | percevejo | Paraná |
| IBCB 10 | Cercopidae (Hemiptera) | Araçatuba -SP |
| IBCB 411 | Amostra de solo | Iporanga -SP |
| SPL 358 | <i>Anthonomus grandis</i> (Coleoptera) | Piracicaba -SP |

IBCB - Instituto Biológico

E 9 – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

1037 – Escola Superior Agrícola “Luiz de Queiroz”

SPL – Planalsucar

3.3 Compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* com inseticidas químicos

Foi avaliado o efeito, “in vitro”, de produtos fitossanitários, fungicidas, inseticidas e herbicidas, utilizados na cultura do café sobre *M. anisopliae* (IBCB 348), verificando-se o crescimento vegetativo, a conidiogênese e a viabilidade do fungo na presença ou não dos produtos analisados.

A adição dos produtos fitossanitários (Tabela 2) em 100 mL de meio de cultura (BDA) autoclavado a 120 °C foi feita nas concentrações máxima e mínima recomendadas pelo fabricante (proporcionalmente ao volume do meio) com o meio ainda líquido, a uma temperatura próxima de 45 °C. Em seguida, o meio foi vertido em placas de

Petri (9 cm de diâmetro), devidamente esterilizadas, sendo a inoculação do fungo realizada após sua solidificação.

Tabela 2. Produtos fitossanitários utilizados nos teste de compatibilidade

| Produtos | Classe | Conc. Máx | Conc. Mín |
|--|--------|-------------|-------------|
| Cyproconazole + Thiamethoxam - (Verdadero) | I | 20.000 g/ha | 15.000 g/ha |
| Fipronil 800 WG (Regent) | I | 500 g/ha | 250 g/ha |
| Fipronil 20 G - (Regent) | I | 20.000 g/ha | 1.5000 g/ha |
| Thiamethoxam - (Actara) | I | 1.000 g/ha | 300 g/ha |
| Terbufós - (Counter) | I | 15.000 g/ha | 10.000 g/ha |
| Aldicarb - (Temik) | I | 13.000 g/ha | 10.000 g/ha |
| Diuron - (Karmex) | H | 4.000 g/ha | 2.000 g/ha |
| Dimetilamina - (DMA) | H | 3,5 L/ha | 2 L/ ha |
| Azoxistrobina 500 W G - (Amistar) | F | Dose única | 500 g/ha |
| Thiabendazole - (Tecto) | F | 1.500 g/ha | 35 g/ha |
| Hidróxido de cobre - (Garant) | F | 5.000 g/ha | 3.000 g/ha |
| Benomyl - (Benlate) | F | Dose única | 1.000 g/ha |
| Oxicloreto de cobre - (Recop) | F | 5.000 g/ha | 2.000 g/ha |
| Tebuconazole - (Folicur) | F | Dose única | 0,1 L/ ha |
| Cyproconazole - (Alto 100) | F | Dose única | 0,2 L/ ha |
| Mancozeb - (Mancozeb) | F | 5.000 g/ha | 3.500 g/ha |

I- inseticida, H – herbicida, F - fungicida

O fungo foi inoculado nas placas contendo os produtos fitossanitários e com um tratamento sem adição dos produtos (testemunha), totalizando 28 tratamentos. Foram preparadas 3 placas por tratamento, sendo a inoculação realizada por meio de uma alça de platina, em três pontos equidistantes por placa, totalizando 9 colônias de fungo.

As etapas de adição dos produtos fitossanitários até a inoculação do fungo foram realizadas em câmara de fluxo laminar.

Após a inoculação do fungo, as placas foram mantidas em câmaras do tipo BOD para promover o desenvolvimento do patógeno sob condições controladas (25° C e fotofase de 12 horas) por 12 dias. Após esse período, foi realizada a medição do diâmetro das colônias (crescimento vegetativo) em dois sentidos ortogonais, obtendo-se a média de crescimento. Em seguida, com o auxílio de um bisturi, essas colônias foram recortadas das placas e transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada esterilizada acrescida de Tween 80. A suspensão foi agitada em um agitador elétrico de tubos para promover a desagregação dos conídios. Por fim, foram feitas as diluições necessárias para a contagem do número de conídios em microscópio ótico com o auxílio de uma câmara de Neubauer (400 x de aumento).

Parte desse material também foi examinada quanto à viabilidade dos conídios, através da inoculação das suspensões fúngicas em placas de Petri contendo B.D.A. e incubação por 15 horas a 25 °C e 12 horas de fotofase.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. As médias do tamanho da colônia, o número e a viabilidade dos conídios dos tratamentos foram submetidos à análise de variância com teste F e teste de Tukey a 5 % para comparação entre médias. Além disso, os dados foram padronizados pela classificação desenvolvida por Alves et al. (1998), baseado nos valores médios em porcentagem de esporulação e crescimento vegetativo das colônias dos fungos, aplicando-se a fórmula:

$$T = \frac{20[CV] + 80[ESP]}{100}$$

Onde:

- T é o valor corrigido do crescimento vegetativo e reprodutivo para classificação do produto;

- CV é a porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha;
- ESP é a porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

Os valores de T para classificação do efeito de produtos químicos sobre fungos encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de T para classificação do efeito de produtos químicos sobre fungos.

| Valor de T | Classificação do Produto |
|------------|--------------------------|
| 0 a 30 | Incompatível |
| 31 a 45 | Tóxico |
| 46 a 60 | Moderadamente Tóxico |
| > 60 | Compatível |

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação da concentração de *Metarhizium anisopliae* para os testes de seleção de isolados

Através da análise de Probit ficou determinado que, para causar a morte de 90% da população de cigarras, a concentração utilizada seria de $3,3 \times 10^8$ conídios/mL. Este valor foi ajustado para 5×10^8 conídios/mL, matando 92,3 % no 3º dia após a aplicação do fungo. A mortalidade para os outros tratamentos foi de 23,1, 38,5 e 61,5 %, respectivamente para as concentrações 1×10^7 , 5×10^7 e 1×10^8 conídios/mL. Apenas o tratamento 1×10^9 conídios/mL apresentou mortalidade de 100 % após o 3º dia de aplicação (Figura 1).

Takada (2002), ao testar algumas concentrações de *M. anisopliae* para o gorgulho do arroz, *Oryzophagus oryzae* (Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae), obteve uma DL_{90} utilizando a concentração $1,39 \times 10^9$ conídios/mL; no entanto, esta mortalidade só foi observada no 10º dia após a aplicação.

Por outro lado, Loureiro (2004) obteve mortalidade de 50 % utilizando 1 mL de uma suspensão do fungo *M. anisopliae* contendo $1,2 \times 10^7$ conídios/mL para *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). Neste trabalho foi constatada mortalidade para as cigarras a partir do 2º dia após a aplicação, com aumento da eficiência até o 7º dia, quando a mortalidade se estabilizou.

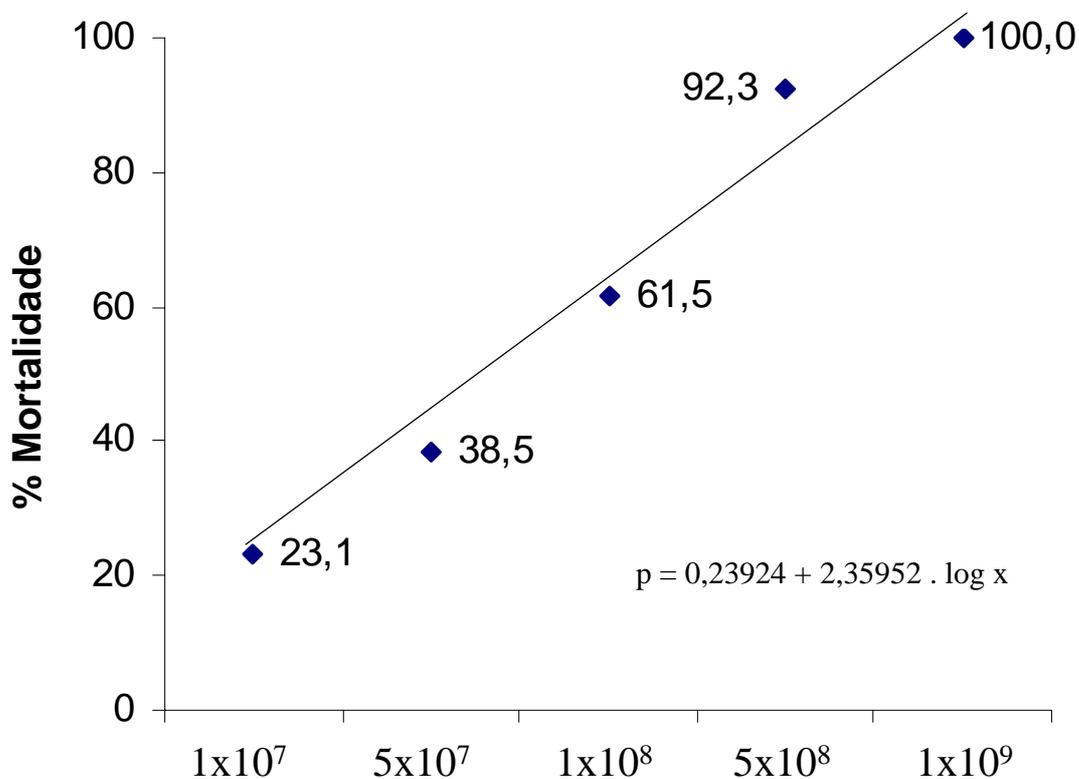


Figura 1. Mortalidade (%) de *Fidicinoides pronoe* após aplicação de diferentes concentrações de *Metarhizium anisopliae*, calculado pela análise de Probit.

4.2 Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae*

Todos os isolados de *M. anisopliae* testados em cigarras do café foram patogênicos. Entretanto, no primeiro experimento a mortalidade confirmada causada pelo patógeno foi de 50 %, exceto para os isolados IBCB 348 e IBCB 410, os quais foram responsáveis por 60 % da mortalidade (Tabela 4). Loureiro (2004), em experimentos realizados com cigarrinha da cana-de-açúcar, *M. fimbriolata*, observou uma mortalidade entre 100 e 70 % após 6 dias da pulverização para os isolados IBCB 348 e IBCB 410, respectivamente.

Macedo et al. 2003 obtiveram resultados satisfatórios com o isolado IBCB 348 após 5 dias da aplicação, quando estudaram a eficiência de 22 isolados de *M. anisopliae* para cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar.

Tamai (2002) também observou uma mortalidade acima de 90 % ao ácaro *T. urticae*, após 5 dias da pulverização, em condições de laboratório, quando utilizou o isolado IBCB 348.

O exame da tabela permite ainda observar que os isolados IBCB 348 e IBCB 410 provocaram elevada mortalidade em menor tempo (5 dias) quando comparado aos demais isolados, evidenciando sua ação mais rápida.

Takada (2002), ao estudar o efeito do isolado E 9 de *M. anisopliae* sobre *B. tabaci*, observou que a mortalidade do inseto foi maior entre o 3º e 5º dia, enquanto para *C. cumulans* o pico de mortalidade ocorreu no 3º dia. No presente trabalho a mortalidade de *Fidicina* sp. ocorreu entre o 5º e 10º dia, evidenciando uma aparente resistência do inseto mesmo quando comprovada a eficiência do fungo.

O isolado IBCB 348 foi utilizado como padrão nos experimentos de seleção por causar alta mortalidade em experimentos com cigarrinha da cana-de-açúcar, *M. fimbriolata*, como observado por Loureiro, 2004, que obteve até 100 % de mortalidade com este isolado. Cada isolado foi comparado com os resultados obtidos pelo padrão.

Tabela 4. Porcentagem de mortalidade confirmada de cigarras aos 5 e 10 dias após a aplicação de diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae*.

| Isolado | Dias após a aplicação | | Total |
|------------|-----------------------|---------|-------|
| | 5 Dias | 10 Dias | |
| IBCB 348 | 60% | 0% | 60% |
| IBCB 425 | 40% | 10% | 50% |
| IBCB 482 | 30% | 20% | 50% |
| IBCB 410 | 60% | 0% | 60% |
| Testemunha | 0 | 0 | 0 |

No segundo experimento, o isolado IBCB 348 causou mortalidade de 60 %, estando este valor próximo aos outros isolados testados (Tabela 5).

Tabela 5. Porcentagem de mortalidade confirmada de *Fidicinoides pronoe* aos 5 e 10 dias após a aplicação de diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae*.

| Isolados | Dias após a aplicação | | Total |
|------------|-----------------------|---------|-------|
| | 5 Dias | 10 Dias | |
| E 9 | 50% | 10% | 60% |
| 1037 | 60% | 10% | 70% |
| SPL 358 | 60% | 0% | 60% |
| IBCB 10 | 40% | 10% | 50% |
| IBCB 348 | 50% | 10% | 60% |
| IBCB 411 | 60% | 0% | 60% |
| Testemunha | 0% | 0% | 0% |

A mortalidade causada pelo isolado IBCB 425 foi a mesma encontrada por Loureiro (2004), que teve resultados acima de 70% para controle de *M. fimbriolata*.

Em ambos os experimentos a mortalidade foi maior nos 5 primeiros dias. A partir do 6^o dia a taxa de mortalidade caiu, chegando a zero para alguns isolados como IBCB 348, IBCB 411 e SPL 358 (Tabelas 4 e 5).

Neves (1998) testou diferentes isolados de *M. anisopliae* para *C. cumulans*, entre eles 1037 e E 9. As mortalidades obtidas foram 55,7 e 84,4 % respectivamente, ao contrário dos resultados encontrados no presente trabalho, segundo os quais ocorreu uma maior mortalidade (70 %) para o isolado 1037 quando aplicado em cigarras do cafeeiro. Entretanto, os testes com *M. fimbriolata*, apesar de apresentarem uma mortalidade total alta, apresentavam mortalidade confirmada muito baixa (Loureiro,2004).

Para outras espécies de insetos, de uma maneira geral, os isolados E 9 e o ESALQ 1037 foram altamente virulentos a ninfas de mosca branca (Ramos, 2001) e para o ácaro rajado *T. urticae* (Tamai, 2002).

Lopes et al. (2002) também observaram bons resultados com o isolado ESALQ 1037, causando 80 % de mortalidade às ninfas de *M. fimbriolata* após 15 dias de aplicação.

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.

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 disseminação do inseticida entre os indivíduos sadios (Almeida & Alves, 1996, Gallo et al. 2002).

A variação de virulência apresentada pelos isolados de *M. anisopliae* sobre a cigarra *Fidicinoides pronoe* constitui um indicativo da ocorrência natural de variabilidade genética intraespecífica. O uso de análises bioquímicas e marcadores moleculares no estudo dos fatores que afetam a variabilidade genética de fungos entomopatogênicos, tanto inter quanto intraespecífica, principalmente em relação à produção e atividade extracelular de enzimas hidrolíticas, foram discutidas por Bidochka & Khachatourians (1990), Boucias et al. (1982, 1988), St. Leger et al. (1987) e St. Leger et al. (1991, 1992). Estes autores demonstraram que a expressão de variabilidade na virulência dos fungos entomopatogênicos está diretamente relacionada com a composição química da cutícula e os processos bioquímicos necessários para a formação do tubo germinativo e consequentemente colonização do hospedeiro.

4.3 Compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* com produtos fitossanitários de origem química

A maioria dos produtos fungicidas avaliados prejudicou, de alguma forma, o desenvolvimento do fungo, seja no período de crescimento vegetativo ou na época da esporulação, sendo portanto classificados como tóxico ou incompatível (Tabelas 6 e 7).

Alves (1978) verificou o efeito fungitóxico de oxiclreto de cobre para *M. anisopliae* e concluiu que este favorece o desenvolvimento do fungo em relação ao diâmetro das colônias quando comparado à testemunha.

O fungicida oxiclreto de cobre, nas duas doses utilizadas, foi diferente estatisticamente da testemunha, obtendo maior número de conídios. Em relação ao crescimento vegetativo, esse mesmo fungicida diferiu estatisticamente da testemunha, tendo um crescimento radial inferior. Moino Jr. et al. (1989) avaliaram a ação de produtos fitossanitários utilizados na cultura do citros sobre os fungos entomopatogênicos *V. lecanii*, *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo que, em alguns tratamentos, houve diminuição do diâmetro médio das colônias, sem alteração no número de conídios produzidos, fato que pode ser explicado pela presença de substâncias que estimularam a esporulação dos entomopatógenos.

O oxiclreto de cobre mostrou-se altamente compatível estimulando a esporulação do fungo (Tabela 6).

Thiabendazole, na dosagem mínima, e hidróxido de cobre, na dosagem máxima, não diferiram da testemunha em relação à esporulação; no entanto, thiabendazole (dose máxima), benomyl, tebuconazole, cyproconazole e mancozeb (em ambas as doses) não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram da testemunha, apresentando uma redução quando considerada a produção de conídios. Thiabendazole, na dosagem menor, apresentou alta viabilidade, não diferenciando da testemunha (Tabela 6).

O fungicida hidróxido de cobre, na menor dosagem, reduziu a esporulação e o crescimento em *M. anisopliae*; no entanto não prejudicou a viabilidade (Tabela 6).

Tabela 6. Crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de *Metarhizium anisopliae*, em meio de cultura com produtos fitossanitários nas concentrações máxima e mínima recomendadas.

| Tratamentos | Dose | Classe | Esporulação (x 10 ⁶) | Crescimento Vegetativo (cm ²) | Viabilidade |
|--------------------------------|-------------|-----------|----------------------------------|---|-------------|
| Testemunha | | | 5,26 ± 0,96 cd | 39,3 ± 2,14 a | 91,16 a |
| Thiabendazole (tecto) | 1,5 kg/ha | fungicida | 0,01 ± 0,01 g | 2,46 ± 0,74 i | 0 |
| Thiabendazole (tecto) | 0,035 kg/ha | fungicida | 4,10 ± 0,49 de | 9,68 ± 1,30 h | 96,5 a |
| Benomyl (benlate) | 1 kg/ha | fungicida | 0,0 g | 0,0 k | 0 |
| Tebuconazole (folicur) | 0,1 mL/ha | fungicida | 0,0 g | 0,0 k | 0 |
| Cyproconazole (alto 100) | 0,2mL/ha | fungicida | 0,0 g | 0,0 k | 0 |
| Oxicloreto de cobre (recop) | 5 kg/ha | fungicida | 15,2 ± 4,54 a | 25,3 ± 2,09 cde | 68 a |
| Oxicloreto de cobre (recop) | 2 kg/ha | fungicida | 10,5 ± 1,64 ab | 25,5 ± 1,30 cde | 86,83 a |
| Hidróxido de cobre (garant) | 5 kg/ha | fungicida | 3,38 ± 0,75 def | 26,1 ± 0,49 bcd | 96,16 a |
| Hidróxido de cobre (garant) | 3 kg/ha | fungicida | 1,76 ± 0,32 efg | 31,5 ± 1,68 b | 93,16 a |
| Mancozeb (mancozeb) | 5 kg/ha | fungicida | 0,0 g | 0,0 k | 0 |
| Mancozeb (mancozeb) | 3,5 kg/ha | fungicida | 0,0 g | 0,0 k | 0 |
| Azoxistrobinab 500WG (amistar) | 0,5 kg/ha | fungicida | 0,00 ± 0,00 g | 16,8 ± 1,21 g | 0 |
| Diuron (karmex) | 4 kg/ha | herbicida | 0,00 ± 0,00 g | 0,45 ± 0,01 jk | 0 |
| Diuron (karmex) | 2 kg/ha | herbicida | 0,00 ± 0,00 g | 1,62 ± 1,04 ij | 0 |

| Tratamentos | Dose | Classe | Esporulação (x 10 ⁶) | | Crescimento Vegetativo (cm ²) | | Viabilidade |
|------------------------------|-------------|------------------|----------------------------------|-----|---|-----|-------------|
| Dimitilamina (DMA) | 3,5 mL/ha | herbicida | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Dimitilamina (DMA) | 2,0 mL/ha | herbicida | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Fipronil 800WG (regent) | 0,5 kg/ha | inseticida | 0,04 ± 0,01 | g | 18,8 ± 0,50 | fgh | 96,5 a |
| Fipronil 800WG (regent) | 0,250 kg/ha | inseticida | 0,12 ± 0,03 | g | 22,2 ± 1,03 | def | 74,5 a |
| Aldicarb (temik) | 13 kg/ha | inseticida | 1,40 ± 0,28 | fg | 23,1 ± 1,27 | cde | 7,33 b |
| Aldicarb (temik) | 10 kg/ha | inseticida | 2,13 ± 0,36 | efg | 27,5 ± 0,72 | bc | 0 |
| Thiamethoxam (actara) | 1 kg/ha | inseticida | 4,74 ± 1,01 | cd | 18,1 ± 0,72 | gh | 76,16 a |
| Thiamethoxam (actara) | 0,3 kg/ha | inseticida | 7,82 ± 1,64 | bc | 21,2 ± 1,23 | efg | 93,5 a |
| Thiamethoxam + Cyproconazole | 20 kg/ha | Insetic./fungic. | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Thiamethoxam + Cyproconazole | 15 kg/ha | Insetic./fungic. | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Fipronil 20G (regent) | 20 kg/ha | inseticida | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Fipronil 20G (regent) | 1,5 kg/ha | inseticida | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Tebufós 150G (counter) | 15 kg/ha | inseticida | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| Terbufós 150G (counter) | 10 kg/ha | inseticida | 0,0 | g | 0,0 | k | 0 |
| CV (%) | | | 12 % | | 14 | | |

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 %. Dados transformados na análise por log x + 10.

Tabela 7. Classificação de defensivos químicos quanto à compatibilidade “in vitro” sobre o fungo *Metarhizium anisopliae*, baseado no valor corrigido das porcentagens de crescimento vegetativo e esporulação (T).

| Tratamentos | Valor de T | Classificação do produto |
|----------------------------|------------|--------------------------|
| Thiabendazole (max.) | 3,1 | I |
| Thiabendazole (min.) | 66,8 | C |
| Benomyl | 0,0 | I |
| Tebuconazole | 0,0 | I |
| Cyproconazole | 0,0 | I |
| Oxicloreto de cobre (max.) | 81,3 | C |
| Oxicloreto de cobre (min.) | 129,7 | C |
| Hidróxido de cobre (max.) | 42,2 | T |
| Hidróxido de cobre (min.) | 41,9 | T |
| Mancozeb (max.) | 0,0 | I |
| Mancozeb (min.) | 0,0 | I |
| Diuron (máx.) | 1,0 | I |
| Diuron (min.) | 2,0 | I |
| Dimitilamina (max.) | 0,0 | I |
| Dimitilamina (min.) | 0,0 | I |
| Fipronil 800WG (máx.) | 33,0 | T |
| Fipronil 800WG (min.) | 46,4 | MT |
| Aldicarb (Max.) | 10,2 | I |
| Aldicarb (min.) | 12,8 | I |
| Thiamethoxam (min.) | 244,0 | C |
| Thiamethoxam (max.) | 173,9 | C |

| Tratamentos | Valor de T | Classificação do produto |
|-------------------------------------|------------|--------------------------|
| Amista 500WG | 8,6 | I |
| Thiamethoxam + Cyproconazole (máx.) | 0,0 | I |
| Thiamethoxam + Cyproconazole (min.) | 0,0 | I |
| Fipronil 20G (máx.) | 0,0 | I |
| Fipronil 20G (min.) | 0,0 | I |
| Tebufós 150G (max.) | 0,0 | I |
| Terbufós 150G (min.) | 0,0 | I |

C - Compatível, **MT** - Moderadamente tóxico, **T** - Tóxico, **I** - Incompatível

Fipronil 800 WG, nas duas doses testadas, afetou tanto o crescimento quanto a esporulação do fungo; por outro lado, a viabilidade não foi afetada. No entanto, fipronil 20G afetou todas as fases do fungo testados no experimento (Tabela 6 e 7). Segundo Loureiro (2001), a inibição do crescimento vegetativo não é necessariamente um indicador da redução na esporulação ou da viabilidade conidial e vice-versa.

Hall e Dunn (1959) avaliaram o fungicida mancozeb, utilizado em cultivos de crisântemo, concluindo que este é tóxico para os fungos Hyphomycetes. Esses autores testaram este fungicida para 5 espécies de fungos da ordem Entomophthorales, onde apenas em uma espécie não houve inibição do crescimento pelo fungicida.

Quando se aplicou a fórmula de T, observou-se que o fungicida oxiclreto de cobre, que foi superior à testemunha, também mostrou-se compatível com *M. anisopliae*, da mesma forma que thiabendazole na menor dose (Tabela 7).

Pela tabela 6 observa-se, também, que os fungicidas classificados como muito tóxicos não permitiram produção de conídios e crescimento vegetativo, com exceção de thiabendazole na dose máxima, que apresentou crescimento vegetativo.

A superioridade de oxiclreto de cobre, nas duas doses, em relação à esporulação da testemunha pode ser explicada pela hipótese de que o microrganismo ao metabolizar os princípios tóxicos do ingrediente ativo, num mecanismo de resistência fisiológica, provoque a liberação no substrato (meio) de moléculas que possam utilizar como nutrientes secundários, promovendo seu crescimento vegetativo e conidiogênese (Moino Jr. e Alves, 1998). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Alves, 1978, onde oxiclreto de cobre teve ação benéfica ao desenvolvimento do fungo. Outra possibilidade é que o fungo utilize todo o seu esforço reprodutivo em presença de um princípio tóxico que altere seu ambiente, prejudicando o seu desenvolvimento, resultando assim, em maiores níveis de crescimento vegetativo e conidiogênese (Moino Jr. e Alves, 1998).

Todos os herbicidas nas doses testadas atuaram sobre o desenvolvimento do fungo diferenciando significativamente da testemunha. Estes ainda foram classificados como muito tóxicos, afetando o crescimento vegetativo e a esporulação (Tabela 6 e 7). Resultados diferentes foram obtidos por Li & Holdom (1994). Estes autores observaram que o herbicida 2,4 D-amine não afetou 5 isolados de *M. anisopliae*. No

entanto, diuron, em ambas as doses, reduziu significativamente o crescimento e esporulação destes isolados, como foi observado no presente trabalho.

Verificou-se que resultados semelhantes ao obtido no presente trabalho com relação a 2,4 D amina, foram também observados por Carneiro (1981) e Alves et al. (1978) que obtiveram um efeito letal deste herbicida sobre *M. anisopliae*. Alves et al. (1998), ao realizar trabalhos de compatibilidade, observaram que 2,4 D-amina foi muito tóxico ao fungo *B. bassiana*.

O inseticida thiamethoxam, nas duas dosagens, não foi diferente da testemunha quando se comparou a esporulação, enquanto que os demais inseticidas foram estatisticamente diferentes, apresentando esporulação menor (Tabela 6). Thiamethoxam foi então considerado compatível com *M. anisopliae*. Resultados semelhantes foram encontrados por Batista Filho et al. (2001) e Almeida et al. (2003). Esses autores observaram que thiametoxam foi compatível com diversas espécies de microrganismos entomopatogênicos, entre os quais o fungo *M. anisopliae*.

Paião (2000), verificando a compatibilidade de carrapaticidas com isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, concluiu que a viabilidade foi o parâmetro menos prejudicado pelos químicos.

Neves et al. (2000) estudou “in vitro” 3 dosagens do thiametoxam sobre o fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, avaliando o efeito sobre germinação dos conídios, crescimento vegetativo e conidiogênese. As concentrações e formulações testadas foram compatíveis com o entomopatógeno.

Os demais inseticidas foram considerados muito tóxicos, com exceção de fipronil 800 WG na dose máxima (incompatível) e fipronil 800 WG na dose mínima (moderadamente tóxico), afetando assim o crescimento vegetativo e a esporulação de *M. anisopliae*. O mesmo resultado foi observado por Batista Filho et al., 2001. Fipronil tem se mostrado compatível com outras espécies de microrganismos entomopatogênicos (Alves, 1998).

Neves et al. (2001) também verificaram que thiamethoxam foi compatível, mesmo havendo diminuição da esporulação na menor dose utilizada por eles. Na maior dose o efeito não foi observado.

Um modelo de classificação de produtos químicos quanto à toxicidade sobre fungos entomopatogênicos foi desenvolvido por Alves et al. (1998). Esse sistema baseia-se em valores médios de porcentagem de conidiogênese e crescimento vegetativo das colônias dos fungos, para testes “*in vitro*” realizados em meio de cultura sólido. O índice considera a produção de conídios o fator mais importante, quando comparado com o crescimento vegetativo, já que os propágulos do fungo é que vão atuar no desenvolvimento da doença. Assim, se uma colônia cresce pouco, mas produz muitos conídios, a taxa de disseminação da doença tende a ser maior que a de uma colônia bem desenvolvida, mas com menor conidiogênese (Moino Jr. e Alves, 1998).

Os estudos “*in vitro*” têm a vantagem de expor ao máximo o microrganismo à ação do produto químico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição. Portanto constatada a inocuidade de um produto em laboratório, não há dúvidas sobre sua seletividade em campo. Por outro lado, a alta toxicidade de um produto “*in vitro*” nem sempre indica a sua elevada toxicidade em campo, mas sim a possibilidade da ocorrência de danos dessa natureza (Alves et al., 1998).

5 CONCLUSÕES

A concentração de 5×10^8 conídios/mL do fungo *M. anisopliae* promove maior mortalidade para *Fidicinoides pronoe*.

O isolado ESALQ 1037 é o mais virulento para ninfas de *Fidicinoides pronoe*.

Thiametoxam e oxicloreto de cobre, em ambas as concentrações, e thiabendazole, na menor concentração, são compatíveis com *Metarhizium anisopliae*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL Anuário da Agricultura Brasileira. **Café**, 2004. São Paulo: Ed. FNP Consultoria & Agroinformativos

ALMEIDA, J.E.M. **Avaliação de fungos entomopatogênicos visando ao controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) (Isoptera, Rhinotermitidae)**. Dissertação apresentada à Escola Superior “Luiz de Queiroz”, na Universidade de São Paulo, para obtenção do título de mestre em ciências Biológicas, Área de concentração – Entomologia. Piracicaba, fevereiro 1994, 105p.

ALMEIDA, J.E.M. et al. Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.79-84, 2003.

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**, Londrina, v.25, n.3, p.507-512, 1996.

ALVES, S.B. **Efeito tóxico de defensivos “in vitro” sobre patógenos de insetos**. Piracicaba, setembro, 1978. Tese apresentada à Escola Superior “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Entomologia, 66p.

ALVES, S.B. **Fungos Entomopatogênicos**. In: Alves, S.B. (ed.). Controle microbiano de insetos. São Paulo: Manole Ltda., 1986, p.73-126.

ALVES, S.B. **Fungos Entomopatogênicos**. In: Alves, S.B. (ed.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998, p.289-381.

ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M.; MOINO Jr., A.; STIMAC, J.L.; PEREIRA, R.M. Uso de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) em pastagens. **Ecosistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.20, p.50-57, 1995.

ALVES, S.B.; MOINO Jr., A.; ALMEIDA, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.217-238.

BATISTA FILHO, A. et al. Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.70, p.61-67, 2003.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.3, p.437-447, 2001.

BATISTA FILHO, A.; CAMARGO, L.M.P.C.; MYZAKI, I.; CRUZ, B.P.B.; OLIVEIRA, D.A. Controle do “moleque” da bananeira (*Cosmopolites sordidus* Germar, 1824) pelo uso de fungos entomógenos, no laboratório. **O Biológico**, São Paulo, v.53, p.1-6, 1987.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E.; OLIVEIRA, J.A. Utilização de *Beauveria bassiana* (Balls.) Vuill. no manejo de *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824, em Miracatu, SP. **O Biológico**, São Paulo, v.57, p.17-19, 1995.

BATISTA FILHO, A.; OLIVEIRA, L.J.; ALVES, S.B. Compatibilidade de inseticidas químicos com entomopatogênicos. **O Biológico**, São Paulo, v.53, n.7-12, p.69-70, 1987.

BIDOCHKA, M.J.; KHACHATOURIANS, G.G. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.56, p.362-370, 1990.

BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J.C. Ultrastructural studies on the fungus, *Nomuraea rileyi*, infecting the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.39, p.338-345, 1982.

BOUCIAS, D.G.; PENDLAND, J.C.; LATGE, J.P. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, 1988, v.54, p.1795-1805.

CAMARGO, L.M.C.A. Efeito de alguns piretróides sobre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **O Biológico**, São Paulo, v.49, p.65-68, 1983.

CARNEIRO, J.S. **Toxicidade de Defensivos Agrícolas Sobre os Fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.** Dissertação apresentada à Escola Superior “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, para obtenção do título de mestre em Entomologia. Piracicaba, fevereiro, 1981, 78p.

CHEN, K.S.; FUNKE, B.R.; SCHULZ, J.T.; CARLSON, R.B.; PROSHOLD, F.I. Effects of certain organophosphate and carbamate insecticides on *Bacillus thuringiensis*. **Journal Economic Entomology**. 1974, v.67, p.471-473.

COSTA, V.A.; et. al. Avaliação da suscetibilidade de ninfa de cigarra do cafeeiro (Hemiptera: Cicadidae) ao fungo *Metarhizium anisopliae*. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 6., 1993, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: 1993. p.61.

D’UTRA, G. Pragas dos cafeeiros. **Boletim de Agricultura**, Secretaria de Agricultura Comércio e Obras Públicas do Estado de São Paulo, setembro 1905, n.9, p.400-404.

D’UTRA, G. Pragas dos cafeeiros. **Boletim de Agricultura**, Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, agosto 1908, v.9, n.8, p.616-625.

DUKE, L. et al. Infectivity of resting spores of *Massospora cicadina* (Entomophthorales: Entomophthoraceae), an entomopathogenic fungus of periodical cicadas (*Magicicada* spp.) (Homoptera: Cicadidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.80, p.1-6, 2002.

FAEMG. Diagnóstico da cafeicultura em Minas Gerais. Belo Horizonte: **FAEMG**, 1996. 52p.

FERNANDES, P.M.; ALVES, S.B. Controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.; e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em condições de campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.20, p.45-49, 1991.

FONSECA, J.P. da; ARAÚJO, R.L. Informações sobre a praga das cigarras em São Paulo e sobre as possibilidades de seu controle. **O Biológico**, São Paulo, v.5, n.12, p.285-291, 1939.

FORNAZIER, M.J.; ROCHA, A.C. Controle da cigarra do cafeeiro em regiões declivosas no Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos Expandidos...** Poços de Caldas: 2000. v.2.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GUAGLIUMI, P. et al. Contribuição ao estudo da cultura e aplicação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no controle da cigarrinha da folha *Mahanarva posticata* (Stal.) no Nordeste do Brasil. **Boletim Técnico Codecap.**, n.3, Recife, 1974, 54p.

GUAGLIUMI, P. Lucha integrada contra las “cigarrinhas” (Homoptera: Cercopidae) en el Nordeste de Brasil. **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v.14, p.361-368, 1971.

HALL, H.M.; DUNN, P.H. The effect of certain insecticides and fungicides on pathogenic fungi to the spotted alfalfa aphid. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.52, n.1, p.28-29, 1959.

HANEL, H. Selection of a fungus species, suitable for the biological control of the termite *Nasutitermes exitiosus* (Hill.) **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, Wageningen, v.94 p.237-245, 1982.

HEINRICH, W. O.; PUPIN NETO, J. Influência de épocas e dosagens de dois inseticidas sistêmicos no combate às ninfas da cigarra do cafeeiro *Quesada gigas* (Oliver) (Hom. – Cicadidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.32, n.4, p.127-131, 1965.

HEINRICH, W.O. **Cicada, a coffee pest in Brazil, Reprinted from World Crops**, September 1967.

HEINRICH, W.O.; PUPIN NETO, J. Experiências de campo para verificar a eficácia de alguns inseticidas sistêmicos e de solo no combate às ninfas de cigarras (Hom. Cicadidae) em raízes de cafeeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.31, n.2, p.5-11, 1964.

HEMPEL, A. **As cigarras do cafeeiro**. São Paulo: Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio. 1913. 13p.

LI, D.P.; HOLDOM, D.G. Effects of pesticides on growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.63, n.2, p.209-211, 1994.

LOPES, R.B.; ALVES, S.B.; TAMAI, M.A. Fungo *Metarhizium anisopliae* e o controle de *Frankliniella occidentalis* em alface hidropônico. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.239-243, 2000.

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.

LOUREIRO, E.S. **Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com outros produtos fitossanitários e sua interação com *Myzus persicae* (Sulzer, 1776), *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera, Aphididae) e *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Hemiptera, Anthocoridae).** Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, para obtenção do título de mestre em entomologia, Lavras, Minas Gerais, 2001, 121p.

LOUREIRO, E.S. **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).** Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas UNESP- Botucatu, para obtenção do título de doutor em agronomia, área de concentração em proteção de plantas. Botucatu, fevereiro, 2004, 91p.

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: 2003. p.86.

MARQUES, E.J. 1992. Controle microbiano de cigarrinhas (Hemiptera: Cercopidae) com *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. eficiência e limitações. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., Águas de Lindóia, 1992. **Resumos...** Jaguariúna: 1992. p.73-78.

MARQUES, E.J.; VILLAS BOAS, A.M.; PEREIRA, C.E.F. Orientações técnicas para a produção de fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em laboratórios setoriais. **Boletim Técnico Planalsucar**, n.3, p.5-23, 1981.

MARTINELLI, N.M. **Espécies de cigarras (Homoptera-Cicadidae) associadas ao cafeeiro.** Piracicaba. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração: Entomologia, Junho, 1985, 66p.

MARTINELLI, N.M.; MATUO, T.; YAMADA, M.R.; MALHEIROS, E.B. Modo de aplicação e eficiência de inseticidas granulados sistêmicos para o controle de cigarras (Hemiptera: Cicadidae) do cafeeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, março, 1998, v.27, n.1, p.133-140.

MARTINELLI, N.M.; ZUCCHI, R.A. Cigarras associadas ao cafeeiro II. Gênero *Fidicina* Amyot & Serville, 1843 (Homoptera, Cicadidae, Cicadinae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.18, n.1, 1989.

McGAUGHEY, W.M.H. Compatibility of *Bacillus thuringiensis* and granulosis virus treatments of stored grain with four grain fumigants. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.26, p.247-250, 1975.

MENDONÇA, A.F.; BARBOSA, G.V.S.; MARQUES, E.J. As cigarrinhas da cana-de-açúcar (Hemiptera: Cercopidae) no Brasil. In: MENDONÇA, A.F. (ed). **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Insetos & Cia. 1996, p.169-192.

MOINO Jr., A.; ALVES, S.B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, n.4, p.611-619, 1998.

MOINO Jr., A.; SAAD, M.C.; ALVES, S.B. Ação tóxica de defensivos utilizados na cultura dos citros sobre fungos entomopatogênicos. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA ESALQ, 4., 1989, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: 1989. p.53.

NEVES, P.M.O.J. **Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com fungos entomopatogênicos e o inseticida imidacloprid**. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração Entomologia Piracicaba, janeiro, 1998, 111p.

NEVES, P.M.O.J.; ALVES, S.B. Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e imidacloprid. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.2, p.305-311, 1999.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO Jr., A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.2, p.263-268, 2001.

PAIÃO, J.C.V. **Compatibilidade dos fungos *Beauveria Bassiana* e *Metarhizium anisopliae* com carrapaticidas químicos utilizados no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae)**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP, Campus de Jaboticabal, para obtenção do título de mestre em microbiologia - área de concentração microbiologia. Jaboticabal, 2000, 55p.

PÉREZ, N.; VASQUEZ, L.L. Manejo Ecológico de Plagas. p.191-226. In: FUNES, F. et al. (eds.). **Transformando el campo cubano**. Avances de la agricultura sostenible. La Habana, Cuba. 2001, 286p.

RAMARAJE, N.V.U.; GOVINDU, H.C.; SHASTRY, K.S.S. The effect of certain insecticides on the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, n.9, p.398-403, 1967.

RAMOS, E.Q.; ALVES, S.B. Seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo "B". In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7., 2001, Poços de Caldas. **Resumos...** Lavras: 2001, p.404.

REIS, P.R.; SOUZA, J.C. Entomofauna cafeeira do Estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 1978, Ribeirão Preto, **Resumos...** Rio de Janeiro: 1978, p.349-351.

REIS, P.R.; SOUZA, J.C.; MELLES, C.C.A. Pragas das raízes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.109, p.6-11, 1984.

- ROBERTS, D.W.; CAMPBELL, A.S. Stability of entomopathogenic fungi. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, Lanham, v.10, p.19-75, 1977.
- SÁENZ, C. E.; SALAZAR, J.D.; RODRÍGUEZ, A.; ALFARO, D.; OVIEDO, R. Resultados de vinte anos de atividades da Direção de Investigação e Extensão de Cana-de-Açúcar (DIECA) no manejo integrado de pragas em Costa Rica. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 8., Recife, 2002. **Resumos...** Recife: p.58-66.
- SCARPELLINI, J.R.; TAKEMATSU, A.P.; JOCYS, T.; SANTOS, J.C.C.; DIAS NETO, F.L.S. Utilização de inseticidas granulados sistêmicos no controle de ninfas de cigarras do cafeeiro (e seus efeitos na produtividade). **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.19, p.54-60, 1994.
- SOPER, R. S. et al. The genus *Massospora* entomopathogenic for cicadas. Part II. Biology of *Massospora laevispora* and its host *Okanagana rimosa* with notes on *Massospora cicadina* on the periodical cicada. **Mycologia**, Lawrence, n.13, p.72-82, 1976.
- SOSA-GÓMEZ, D.R.; MOSCARDI, F. Laboratory and field studies on the infection of stink bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.71, n.2, p.115-120, 1998.
- SOSA-GÓMEZ, D.R.; MOSCARDI, F. Laboratory and field studies on the infection of stink bugs, *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.71, n.2. p.115-120, 1998.
- SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; MELLES, C.C.A. Cigarras-do-cafeeiro, histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle. **Boletim Técnico da EPAMIG**, Belo Horizonte: EPAMIG, v.5, 28p., 1983.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; MELLES, C.C.A. Prejuízos causados pela cigarra do cafeeiro *Quesada gigas* (Oliver, 1854) em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DO CAFEIEIRO, 11., 1984, Londrina. **Resumos...** Londrina: 1984, p.152-153.

St. LEGER, R.J.; COETTEL, M.; ROBERTS, D.W.; STAPLE, R.C. Prepenetration events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae* **Journal of Invertebrate Pathology**, Orlando, v.58, n.2, p.168-179, 1991.

St. LEGER, R.J.; CHARNLEY, A.K.; COOPER, R.M. Characterization of cuticle degrading proteases produced by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, Amsterdam, v.253, p.221-232, 1987.

St. LEGER, R.J.; FRANK, D.C.; ROBERTS, D.W.; STAPLE, R.C. Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle degrading – protease gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **European Journal of Biochemistry**, Oxford, v.204, p.991-1001, 1992.

TAKADA, H.M. **Patogenicidade e seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Mestsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae)**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp – Campus Botucatu, para obtenção do título de Mestre em agronomia – área de concentração em Proteção de Plantas. Abril, 2002, 75p.

TAMAI, M.A. **Controle de *Tetranychus urticae* Koch. com fungos entomopatogênicos**. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” / Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração Entomologia, Piracicaba, janeiro, 2002, 144p.

TANZINI, M.R., **Controle de percevejo-de-renda-da-seringueira (*Leptopharsa heveae*) com fungos entomopatogênicos**. Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração Entomologia, Piracicaba, fevereiro, 2002, 140p.

VELLOZO, L.G.C.; VERNALHA, M.M.; SOARES, S.G.S.; GABARDO, J.C.; ROCHA, M.A.L.; NOWACKI, M.J.; FONTOURA, O.S. **Pragas e doenças do cafeeiro no Estado do Paraná**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1965, p.75-79 (Série Didática n.1).

WHITE, J.; LLOYD, M. A pathogenic fungus, *Massospora cicadina* Peck (Entomophthorales), in emerging nymphs of periodical cicadas (Homoptera: Cicadidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v.12, p.1245-1252, 1983.

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