

Avaliação *in vitro* de fungos filamentosos no controle biológico de *Mahavarna fimbriolata*

Bruno de Sousa Pereira¹, Flávia Oliveira Abrão Pessoa^{*2}, Jéssica Patrícia de Oliveira¹, Emiliiane dos Santos Belo³, Moisés Sena Pessoa⁴

Resumo

Metharizium anisopliae vem sendo bastante utilizado no controle de *Mahavarna fimbriolata*, entretanto, nem sempre este fungo é o mais adequado para aplicação devido a influência de diversos fatores ambientais. Nesse sentido buscou-se avaliar a colonização de fungos filamentosos no biocontrole de cigarrinha-da-raiz. Amostragens de solo e de *Brachiaria brizantha* foram realizadas para isolamento, quantificação e identificação das espécies fúngicas. Quatorze fungos foram isolados e aspergidos em cigarrinhas, avaliando-se no cadáver, 24 e 48 h após a aspersão, a taxa de colonização. Concomitantemente avaliou-se a produção de micotoxinas. Foram quantificados em média $2,0 \times 10^{-3}$ UFC.g⁻¹ e identificados cinco gêneros fúngicos, sendo que *Aspergillus* é o fungo mais prevalente tanto no solo, quanto em forrageiras em regiões de clima tropical. A forrageira apresentou maior quantidade de colônias fúngicas.g⁻¹ em relação ao solo. Alta diversidade fúngica é observada nos ecossistemas estudados. Apenas o *Metharizium anisopliae* apresentou 100 % de colonização. O gênero *Aspergillus* (IF-12) isolado do solo apresentou taxa de colonização de 77 %, já isolados oriundos do rúmen apresentaram taxa de colonização de 66 % (IF-01), 17 % (IF-03) e 0 % (IF-02) respectivamente, os demais isolados apresentaram taxa de colonização inferior a 35%. A produção de micotoxina foi observada apenas em dois dos isolados avaliados, *Aspergillus* spp. (IF-14) e *Trichophyton* spp. (IF-05). O gênero *Aspergillus* apresenta potencial para uso em biocontrole da cigarrinha, no entanto são necessários maiores estudos buscando avaliar outras concentrações dos fungos testados, formas de manipulação para aperfeiçoamento e aplicação no controle de percevejos, como a cigarrinha-da-raiz.

Palavras-chave: Controle biológico. Entomopatógenos. Microbiologia.

In vitro evaluation of filamentous fungi in the biological control of *Mahavarna fimbriolata*

Abstract

Metharizium anisopliae has been widely used for controlling *Mahavarna fimbriolata*, however, not always this fungus is the most suitable for application due to the influence of various environmental factors. In this sense we sought to evaluate the colonization of filamentous fungi in biocontrol of leafhopper

¹Acadêmico de Agronomia, bolsista de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano–Campus Ceres, GO.

²Orientadora – Docente do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, GO.

* Autora para correspondência: flavia.abrao@ifgoiano.edu.br

³Técnica de laboratório IF Goiano – Campus Ceres, GO.

⁴Doutorando em Zootecnia - Universidade Federal de Goiás.

Recebido para publicação em 01 de agosto de 2016

ACEITO para publicação em 18 de agosto de 2016

the root. Soil samples and *B. brizantha* were made for isolation, quantification and identification of fungal species. Fourteen fungi were isolated and sprinkled in leafhoppers, evaluating the corpse, 24 and 48 h after spraying, the rate of colonization. Concomitantly also evaluated in the production of mycotoxins. They were quantified on average 2.0×10^{-3} CFU.g⁻¹ and identified five genera of fungi, being that *Aspergillus* is the most prevalent fungus in the soil, as in forage in tropical regions. The forage had higher amounts of fungal colonies.g⁻¹ relative to the ground. High fungal diversity is observed in the studied ecosystems. Only *Metarhizium anisopliae* showed 100% colonization. The genus *Aspergillus* (IF-12) isolated from soil showed 77% colonization rate, already isolates from the rumen showed colonization rate of 66 % (IF-01), 17 % (IF-03) and 0 % (IF-02) respectively, the other isolates showed colonization rate of less than 35 %. The mycotoxin production was observed in only two of the tested isolates, *Aspergillus* spp. (IF-14) and *Trichophyton* spp. (IF-05). The genus *Aspergillus* has potential for use in biocontrol of leafhoppers, however more studies are necessary to assess seeking other fungal concentrations tested forms of manipulation for improvement and application in control of bedbugs, as the *Mahavarna fimbriolata*.

Keywords: Biological control. Entomopathogens. Microbiology.

Introdução

A *Mahavarna fimbriolata* (Hemíptera: Cercopidae) popularmente conhecida como “cigarrinha-da-raiz” no Brasil, é considerada uma das principais pragas da cana-de-açúcar (BARBOSA, 2011). As ninfas dessa espécie ocasionam uma desordem fisiológica em decorrência de suas picadas que prejudicam o transporte de água e nutrientes para os pontos de crescimento aéreo quando se alimentam nas raízes da planta e, os adultos injetam toxinas no terço superior da cana-de-açúcar em crescimento, ocasionando manchas nas folhas das mesmas (GARCIA et al., 2006; BARBOSA, 2011).

Adultos e ninfas de cigarrinha-das-pastagens se alimentam no xilema das plantas hospedeiras causando danos que diminuem a sua produção, provocando amarelecimento das folhas com posterior secagem e morte das folhas (LOHMANN et al., 2010; TEIXEIRA; SÁ, 2010).

Metharizium anisopliae é um patógeno de insetos, relevante economicamente e, que vem sendo amplamente estudado no controle biológico de percevejos como a *Mahavarna fimbriolata* e *Deois flavopicta* (PEREIRA et al., 2008). Contudo, nem sempre este microrganismo é o mais indicado para a produção e aplicação na região em estudo (LOUREIRO et al., 2012; MACEDO, 2005), pois a temperatura, a umidade e o tipo de solo, podem afetar a persistência do conídio, mortalidade do hospedeiro e a esporulação do fungo sobre o inseto infectado (LANZA, 2009). Além disso, sua utilização é limitada devido a sua viabilidade não ser alta quando relacionada com inseticidas químicos (LEÃO, 2011).

O uso de *Metarhizium anisopliae* no controle de *M. fimbriolata*, além de ser eficiente, é interessante por ser economicamente e ecologicamente viável (KASSAB et al., 2012b). Como a maioria das variedades de cana-de açúcar de interesse comercial são suscetíveis aos danos causados por ninfas e adultos dessa praga (KASSAB et al., 2012a), pesquisas nesta linha são de suma relevância para o manejo de pragas da cultura.

Para o controle das cigarrinhas normalmente são empregados inseticidas químicos, porém este método não é eficiente devido à localização das ninfas desses insetos no solo (LEITE et al., 2002). Com isso, a busca por bioinseticidas eficazes no controle de pragas danosas à agropecuária se torna crescente. Práticas de inserção e manutenção de populações de inimigos naturais de culturas agrícolas tem sido utilizado amplamente nos últimos anos, principalmente por apresentar resultados satisfatórios no controle de pragas sem degradar o ambiente (CORREIA, 2013).

A ocorrência dessas pragas tornou-se relevantes nos locais de elevadas temperaturas, devido as condições de alta umidade proporcionadas pela grande porção cobertura vegetal junto ao solo, o que favorece o desenvolvimento das ninfas da praga (DINARDO-MIRANDA et al., 2002). A microbacia de Ceres-Go caracteriza-se por apresentar temperatura média anual de 25°C, precipitação média anual de 1.300 mm, o clima de acordo com a classificação de Köeppen, é do tipo Aw, ou seja, clima tropical com estação úmida e seca bem definidas (MARQUES, 2013).

Pouco se sabe sobre a atividade e eficácia de fungos no controle de cigarrinhas que infestam regiões como as encontradas no Norte do estado de Goiás. Dessa forma, objetiva-se com o presente estudo avaliar a diversidade fúngica de dois diferentes microambientes da fazenda experimental do IF Goiano (Ceres-GO), testar *Metarhizium anisopliae* e isolados fúngicos naturalmente isolados dos sítios de estudo e verificar existência de produção de micotoxinas, a fim de selecionar cepas promissoras para serem usadas no controle biológico de pragas, como a cigarrinha-da-raiz.

Material e métodos

Amostras aleatórias representativas de solo e de *Brachiaria brizantha* foram obtidas nas dependências do setor de Bovinocultura do Instituto Federal Goiano, Campus Ceres. A região amostrada possui um Latossolo Vermelho Distófico típico, cultivado com *Brachiaria brizantha*. A forrageira estudada não estava sob pastejo de animais.

As amostras coletadas nos diferentes pontos foram homogeneizadas para a retirada de uma subamostra de 1 g de material. As subamostras foram acrescidas de água destilada esterilizada na proporção de 1: 10 (10 mL) e diluídas em cem vezes. Após sucessivas diluições seriadas, foi retirada uma alíquota de 0,1 mL da última diluição (10^{-5}) e inoculada em placa de Petri com meio de cultura de Ágar Batata Dextrose e, espalhada com o auxílio de uma alça de Drigalsky. Posteriormente as placas foram incubadas em estufa a 37°C para crescimento e esporulação do fungo por 15 dias. As colônias desenvolvidas foram quantificadas e repicadas para tubos contendo meio inclinado e, após desenvolvimento, mantidas em geladeira para posterior manipulação e identificação. Foram obtidas doze repetições por tratamento (solo e forrageira).

Um representante de cada morfotipo distinto seguiu para etapa de identificação. A identificação dos fungos obtidos baseou-se nas características macroscópicas da colônia, como cor, forma e aspecto, bem como nas estruturas microscópicas e reprodutivas, através da técnica de microcultivo (KERN; BLEVINS, 1999). Todos os fungos obtidos e utilizados neste ensaio foram preservados e armazenados em coleção, por meio da técnica de Castellani (CASTELLANI, 1967).

Uma cepa de *Metarhizium anisopliae* (fungo referência no controle biológico de pragas) foi adquirida por meio de compra de bioinseticida comercial. Esta foi multiplicada em meio de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA) no laboratório de Microbiologia do Instituto Federal Goiano, Campus Ceres. Também foram avaliadas cepas de *Aspergillus* spp. (n=3) oriundas de rúmen de bovinos de corte criados em sistema extensivo de pastejo, cedidos pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Soluções dos isolados fúngicos obtidos foram padronizadas em função da escala de Mac Farland 3 (concentração: 10^8 conídios.mL⁻¹). Para isso, os conídios foram raspados das superfícies das placas contendo o fungo e, ressuspendidos em água destilada estéril adicionado a surfactante Tween 20 (LORENZETTI et al., 2012). Cada cepa fúngica avaliada constituiu um tratamento, sendo quatro fungos oriundos de solo, sete de forrageira, três de rúmen, o fungo comercial *M. anisopliae* (controle positivo) e um tratamento testemunha (controle negativo). O tratamento controle negativo foi representado por aspersão de água destilada estéril nas unidades experimentais. Totalizando 16 tratamentos avaliados.

Amostras de cigarrinhas-da-raiz foram obtidas aleatoriamente na fazenda experimental do Instituto Federal Goiano Campus Ceres e levadas ao laboratório de Microbiologia do referido Instituto. As cigarrinhas foram armazenadas sobre folhas de pastagem (*Brachiaria brizantha*) de aproximadamente 8 cm de comprimento no interior de caixas plásticas do tipo Gerbox (11 x 11 x 3,5 cm). Individualmente, foram banhadas com 10 µL do inóculo padronizado dos respectivos fungos. Cada fungo foi aspergido em cinco cigarrinhas. Após aspersão, as placas ficaram em condição ambiente e, às 24 e 48 h após a aspersão, realizou-se a leitura para determinação da capacidade de colonização e antagonismo dos inóculos. O índice de mortalidade foi determinado considerando o número de insetos mortos quantificados observando-se concomitantemente o crescimento micelial e conidogênese na parte externa do cadáver. Já a taxa de colonização foi medida de forma qualitativa por observação visual por meio de escores (0, 1, 2, 3) metodologia adaptada de Loureiro et al. (2005). Após obtenção dos dados, determinou-se a taxa de colonização de cada tratamento proposto.

Cada isolado obtido foi avaliado quanto a produção de micotoxinas. Adotando-se o método de identificação de cepas produtoras e não produtoras de micotoxinas conforme descrito por Saito e Machida (1999). Cada isolado fúngico, em triplicata, foi inoculado no centro da placa de Petri com meio de cultura ágar dextrose batata (BDA). Após um período de incubação de cinco dias em estufa a 37°C adicionou-se nas tampas das placas, dois mL de solução de hidróxido de amônio (NH_4OH) 25%. Posteriormente as placas foram vedadas e incubadas invertidas em estufa a 37°C por mais 24 horas. Após esse período, as placas foram retiradas da estufa e, observada a coloração da base das colônias crescidas em comparação a uma placa controle (sem adição de NH_4OH).

O delineamento experimental adotado foi inteiramente ao acaso (DIC). Aplicando-se análise exploratória para todas as variáveis analisadas, de forma a verificar homocedasticidade e normalidade por meio dos testes de Lilliefors e Bartlett. Variáveis que seguiram os pressupostos paramétricos após transformação logarítmica ($\text{LOG}_{10} X+10$) foram avaliadas por meio do teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Variáveis não paramétricas foram comparadas pelo teste

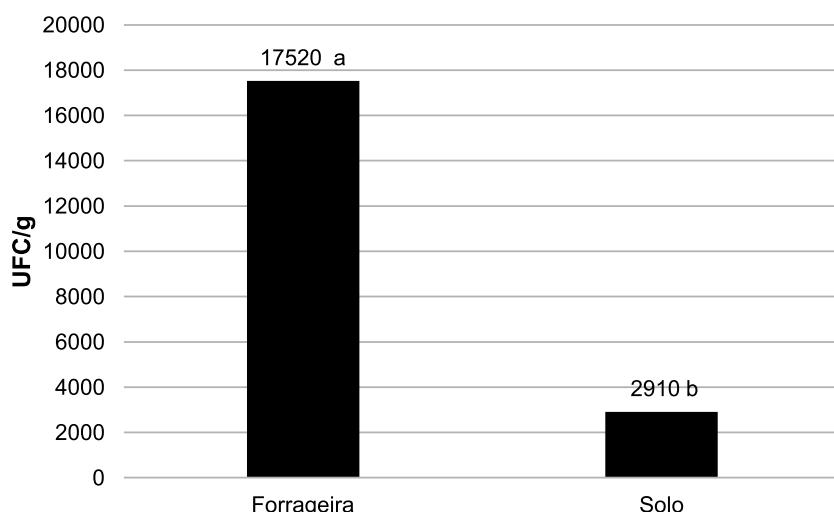
de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$). Todas as análises foram realizadas no pacote estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).

Resultados e discussão

A forrageira estudada apresentou maior quantidade de Unidade Formadora de colônias por Grama (UFC . g⁻¹) em relação ao solo, diferindo-se estatisticamente ($p<0,05$) (GRÁFICO 1). Entre os fatores que podem contribuir para a baixa microbiota fúngica nas amostras de solo, de acordo com Klich (2002), estão a variedade florística reduzida, fatores abióticos e manejo inadequado das áreas exploradas. A maior diversidade de gêneros em forrageira pode estar relacionada com o teor de umidade da mesma conforme citado por Reis *et al.* (1997).

Lacey (1975) observou grande abundância de fungos em material derivados do solo e do ar que estava morto ou senescente, desenvolvendo especificamente em gramíneas nativas na forma saprófita. Considerando que existem gêneros saprófitas presente neste ambiente, Nepomuceno *et al.* (2008) afirmam que a presença de fungos em forrageiras pode estar relacionada ao parasitismo, refletindo em fitopatologias ou saprofítismo.

Gráfico 1 - Quantidade de UFC.g⁻¹ de fungos filamentosos nos diferentes locais de amostragem



Nota: Médias seguidas de letras minúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney a 1 % de probabilidade.
Fonte: Elaborado pelos autores, 2016.

O manejo correto do solo e das culturas pode influenciar as dinâmicas das populações de organismos de solo, e a rotação de culturas, cultivos em cobertura, uso de estercos são práticas que favorecem uma população biologicamente diversificada no solo (GLIESSMANN, 2000).

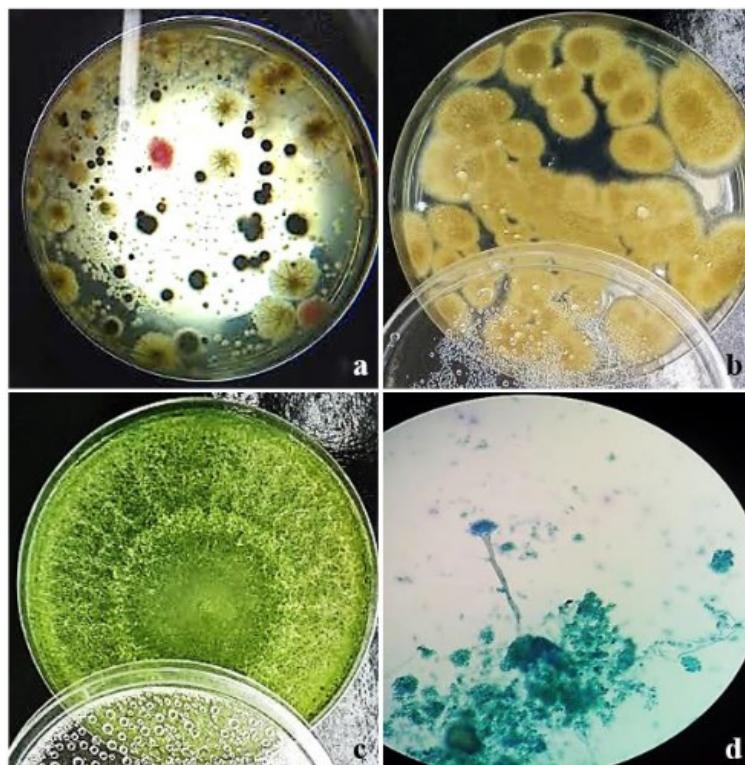
Espécies entomopatogênicas, patogênicas, saprófita e queratinofílicos se fazem presentes nos ecossistemas estudados, evidenciando assim que apesar do ambiente pobre em que foram obtidos, existe uma grande diversidade de microrganismos fúngicos, apresentan-

do inclusive espécie com potencial para uso em programas de controle biológico, como o *Trichoderma* ssp..

Durante o experimento foram quantificados em média $2,0 \times 10^3$ UFC . g⁻¹ e identificados (FIGURA 1) fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*,

Trichophyton e *Scedosporium* (TABELA 1), sendo que o *Aspergillus* apresentou maior prevalência, corroborando com os resultados obtidos por Borges et al. (2011). De acordo com Stamford et al. (2005), todos os gêneros identificados são habitantes comuns do solo de florestas, campos, solos arenosos ou áreas cultivadas.

Figura 1 - Fungos pesquisados no controle biológico de *Mahavarna fimbriolata*



Nota: a) Morfotipologia da diversidade de colônias fúngicas obtidas; b) Cultivo de *Aspergillus terreus* (placa 90 x 15 cm) oriundo de rúmen; c) Cultivo de *Trichoderma* sp. isolado de *Brachiaria* spp.; d) Microscopia óptica (objetiva de 40 x) da estrutura de reprodução de *Aspergillus* sp..

Fonte: Arquivo dos autores.

Tabela 1 - Distribuição dos gêneros de fungos, identificados por técnica de microcultivo, isolados de *Brachiaria brizantha* e latossolo

Gêneros	<i>B. brizantha</i>	Latossolo
<i>Aspergillus</i>	5	4
<i>Gliocladium</i>	1	0
<i>Paecilomyces</i>	1	0
<i>Trichoderma</i>	1	0
<i>Trichophyton</i>	1	0
<i>Scedosporium</i>	0	1
Total	9	5

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

Avaliação in vitro de fungos filamentosos no controle biológico de Mahavarna fimbriolata

Dos fungos obtidos no ensaio acima, onze foram selecionados para ensaio biológico. Destes isolados (TABELA 1), o *Aspergillus* spp. foi o gênero predominante em ambos sítios, haja visto que este representa um grupo de fun-

gos disseminado nos mais diversos ambientes, ocorrendo frequentemente em áreas cultivadas e em solos de florestas tropicais geralmente, dominante em número de UFC e de espécies nesses ambientes (SILVÉRIO, 2007).

Tabela 2 - Identificação e sítio de origem dos isolados utilizados no bioensaio de colonização em *Mahavarna fimbriolata*.

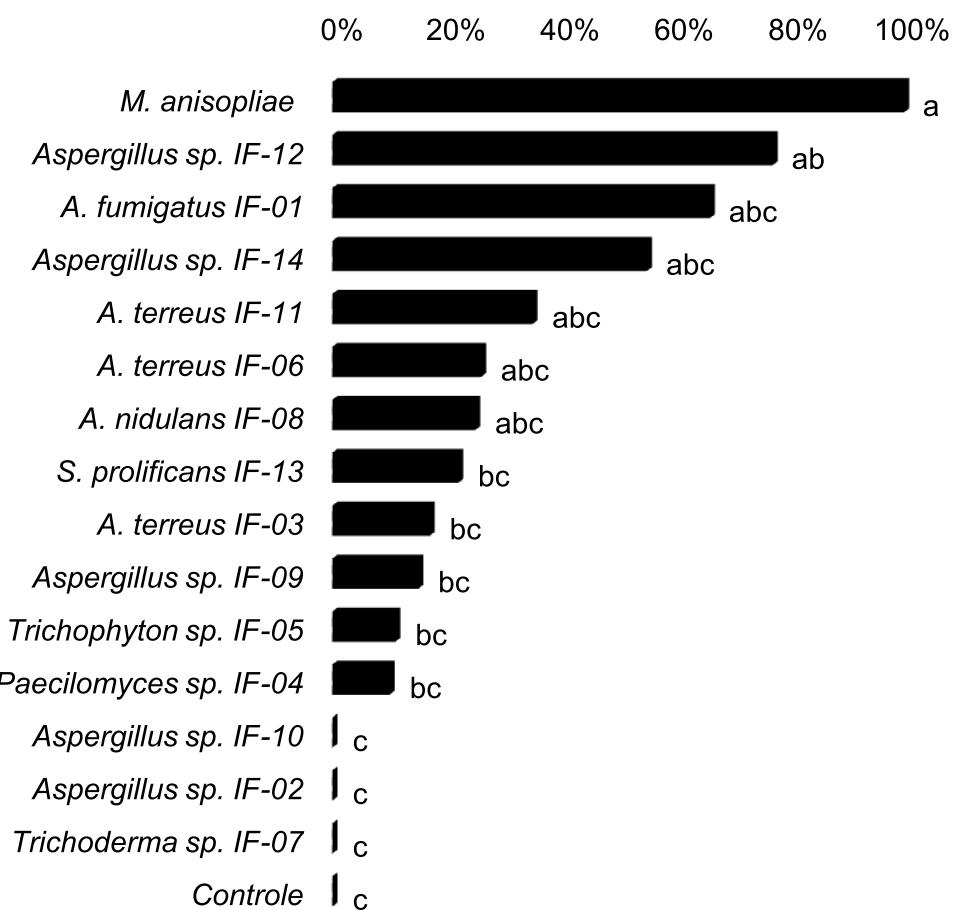
Isolado	Código	Ambiente
<i>Aspergillus fumigatus</i>	IF-01	Rúmen
<i>Aspergillus</i> sp.	IF-02	Rúmen
<i>Aspergillus terreus</i>	IF-03	Rúmen
<i>Paecilomyces</i> sp.	IF-04	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Trichophyton</i> sp.	IF-05	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Aspergillus terreus</i>	IF-06	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Trichoderma</i> sp.	IF-07	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Aspergillus nidulans</i>	IF-08	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Aspergillus</i> sp.	IF-09	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Aspergillus</i> sp.	IF-10	<i>Brachiaria brizantha</i>
<i>Aspergillus terreus</i>	IF-11	Latossolo
<i>Aspergillus</i> sp.	IF-12	Latossolo
<i>Scedosporium prolificans</i>	IF-13	Latossolo
<i>Aspergillus</i> sp.	IF-14	Latossolo

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

Apenas o *Metarhizium anisopliae* apresentou 100 % de colonização (GRÁFICO 2). O gênero *Aspergillus* (IF-12) isolado do solo apresentou taxa de colonização de 77 %, já isolados oriundos do rúmen apresentaram taxa de colonização de 66 % (IF-01), 17 % (IF-03) e 0 % (IF-02) respectivamente, os demais isolados apresentaram taxa de colonização inferior a 35%. O aparecimento de insetos mortos ocorreu principalmente após as 24 h de avaliação (FI-

GURA 2). O gênero *Aspergillus* ainda é pouco estudado no biocontrole de cigarrinhas-da-raiz, contudo Seye (2009) relata que este gênero tem potencial para uso no controle biológico de *Aedes aegypti*.

A produção de micotoxina foi observada apenas em dois dos isolados avaliados (FIGURA 3), sendo *Aspergillus* spp. (IF-14) e *Trichophyton* spp. (IF-05).

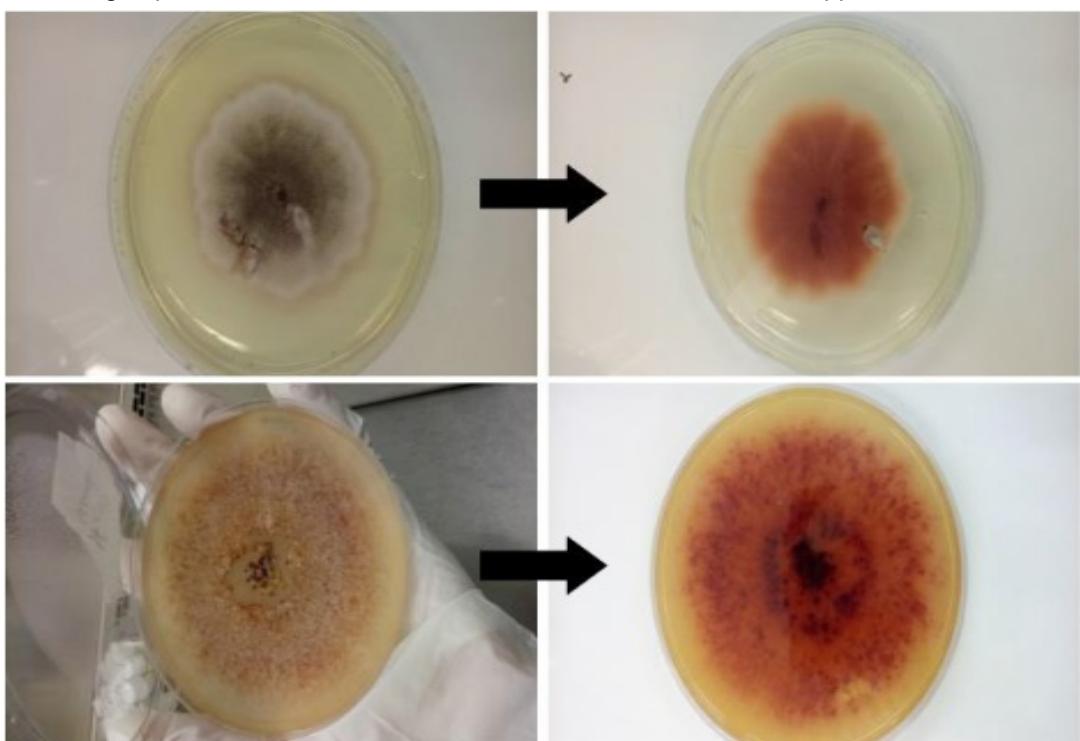
Gráfico 2 - Taxa de colonização sobre *Mahavarna fimbriolata* pelos isolados estudados.

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.
 Fonte: Elaborado pelos autores, 2016.

Figura 2 - Colonização de *Metarhizium anisopliae* (a), *Aspergillus* spp. IF-12 (b) e *Aspergillus fumigatus* IF-01 (c) em cigarrinhas-da-raiz, 24 h após aspersão dos inóculos fungicos

Fonte: Arquivo dos autores, 2016.

Figura 3 - Fungos produtores de micotoxina isolados de solo e *Brachiaria* spp.



Nota: A alteração de cor na base da colônia indica a produção de micotoxinas, conforme método descrito por Saito; Machida (1999).

Fonte: Arquivo dos autores.

De acordo com Iamanaka *et al.* (2010), os gêneros dos fungos mais comumente associados com toxinas que ocorrem naturalmente são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, sendo que *Aspergillus* e *Fusarium* destacam-se por contaminarem produtos agrícolas e/ou alimentos e por produzirem metabólitos secundários tóxicos, denominados micotoxinas, podendo provocar intoxicações em seres humanos e animais (LAZZARI, 1997).

Em nosso estudo verificamos que existem fungos, presentes no ambiente, promissores para o biocontrole de cigarrinha-da-raiz, contudo outros estudos devem ser feitos visando elucidar o mecanismo de ação das diferentes cepas, bem como da melhor concentração de esporos.

Conclusão

Aspergillus é o fungo mais prevalente tanto no solo, quanto em forrageiras em regiões de clima tropical. Alta diversidade fúngica é observada nos ecossistemas estudados.

Metarhizium anisopliae e *Aspergillus* spp. são antagonistas a praga de estudo, sendo assim agentes promissores no biocontrole de cigarrinhas de pastagem ou de cana-de-açúcar.

A ocorrência de fungos produtores de micotoxinas é baixa em microambientes de solo e pasto formado com *Brachiaria brizantha*.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal Goiano pelo apoio. A PROPPI e a Coordenação de Iniciação Científica do Campus Ceres pela bolsa concedida.

Referências

- BARBOSA, R. H. et al. Associação de *Metarhizium anisopliae* (Hyp: Clavicipitaceae) e thiamethoxam para o controle da cigarrinha-das-raízes em cana-de-açúcar. *Ensaio e Ciência*, Dourados - MS, v. 15, n. 5, p. 41-51, 2011.
- BORGES, L. R. et al. Diversidade de fungos filamentosos em solo de monocultivo de erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Revista Acadêmica, Ciências Agrárias e Ambientais*, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 185-194, 2011.
- CASTELLANI, A. A. A maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researched a maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researches. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, Mclean, v. 70, p. 181-184, 1967.
- CORREIA, E. T. **Diversidade e distribuição sazonal de Carabidae (Insecta, Coleoptera) em diferentes culturas.** 2013. 63 f. (Dissertação Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2013.
- DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Efeito de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e de nematóides fitoparasitos na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-açúcar. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 31, n. 4, p. 609-614, 2002.
- GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P. Biology and fertility life table of *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera:Cercopidae) in sugarcane. *Scientia Agricola*, Piracicaba - SP, v. 63, n. 4, p. 317-320, 2006.
- GLIESSMANN, S. R. **Agroecologia:** processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: Editora Universidade, 2000.
- IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em Alimentos. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, Recife, v. 7, p.138-161, 2010.
- KASSAB, S. O. et al. Alteração no método de amostragem de *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hem: Cercopidae) e avaliação da eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hyp: Clavicipitaceae). *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v. 79, n. 4, p. 621-625, 2012a.
- KASSAB, S. O. et al. *Metarhizium anisopliae* no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (STÅL, 1854) (HEMIPTERA: CERCOPIDAE). *Global Science and Technology*. Rio Verde - GO, v. 5, n. 03, p. 98-106, 2012b.
- KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. **Micologia médica:** texto e atlas. 2. ed. São Paulo: Editorial Premier, 1999.
- KLICH, M. A. **Biogeography of Aspergillus species in soil and litter.** Mycologia, v. 94, n. 1, p. 21-27, 2002
- LACEY, J. Potential hazards to animal and man from microorganisms in fodders and grain. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 65, n. 2, p. 171-184, 1975.
- LANZA, L. M.; MONTEIRO, A. M.; MALHEIROS, E. B. Sensibility of *Metarhizium anisopliae* to temperature and moisture in three soil types. *Ciência Rural*, v. 39, n. 1, p. 6-12, 2009.
- LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações.** 2. ed. Curitiba: Ed. do Autor, 1997.
- LEÃO, M. P. C. Expressão diferencial de genes envolvidos na virulência durante a germinação, conidiogênese e patogênese em *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. 2011. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas. Recife – PE, 2011.
- LEITE, L. G. et al. Occurrence of entomophthorales on spittlebugs pests of pasture in eastern São Paulo state. Brazil. *Arquivos Instituto Biológico*, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 63-68, 2002.
- LOHMANN, T. R.; PIETROWSKI, BRESSAN, D. F. Flutuação populacional de cigarrinhas-das-pastagens na Região Oeste do Paraná. **Semina:** Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, suplemento 1, p. 1291-1298, 2010.
- LORENZETTI, E. R. et al. Ferrugem das Folhas do capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] com produtos naturais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Botucatu, v. 14, n. 4, p. 571-578, 2012.
- LOUREIRO, E. S. et al. Eficiência de isolados de *Metarhizium anisopliae* (metsch.) Sorok. No controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (stål, 1854) (Hemíptera: Cercopidae), em condições de campo. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v. 79, n. 1, p. 47-53, 2012.
- LOUREIRO, E. S. et al. Seleção de Isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Contra a Cigarrinha-da-Raiz da Cana-de-Açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em Laboratório. *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 5, p. 791-798, 2005.
- MACEDO, D. **Seleção e caracterização de Metarhizium anisopliae visando ao controle de Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar.** 2005. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba-SP, 2005.
- MARQUES, V. S. **Erosão hídrica em microbacia utilizando geotecnologias.** 2013. 177 f. (Tese doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo. Seropédica-RJ, 2013.
- NEPOMUCENO, D. D. et al. Associação de fungos a cinco espécies de leguminosas forrageiras. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA e ENCONTRO LATINOAMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, São José dos Campos, SP. **Anais...** São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2008. p. 1-3.
- PEREIRA, M. F. A.; BENEDETTI, R. A. L.; ALMEIDA, J. E. M. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin no controle de *Deois flavopicta* (Stål, 1854), em pastagem de capim (*Brachiaria decumbens*). *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 75, n. 4, p. 465-469, 2008.
- REIS, R. A. et al. Effects of the ammoniation on the occurrence of fungi, chemical composition, and in vitro digestibility of grama seda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) hays. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 26, n. 3, p. 454-460, 1997.

Avaliação in vitro de fungos filamentosos no controle biológico de Mahavarna fimbriolata

- SAITO, M.; MACHIDA, S. A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. **Mycoscience**, v. 40, p. 205-208, 1999.
- SEYE, E. et al. Pathogenicity of the Fungus, *Aspergillus clavatus*, Isolated from the Locust, *Oedaleus senegalensis*, Against Larvae of the Mosquitoes *Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. **Journal Insect Science**, p. 9-53, 2009.
- SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistat Statistical Attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture, 7, Reno-NVUSA: Anais... American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- SILVÉRIO, M. L. **Fungos filamentosos isolados da rizosfera de plantas nativas da caatinga e de cultivos de goiabeiras (*Psidium guajava* L.) sadias e infestadas por nematóides**. 2007. 47 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.
- STAMFORD, N. P. et al. Microbiota dos solos tropicais. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Ed.). **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, p. 61-92, 2005.
- TEIXEIRA, V. M.; SÁ, L. A. N. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) SOROKIN no controle de cigarrinhas-das-pastagens (Hemiptera: Cercopidae) em *Brachiaria bryzantha* em Rondônia – Brasil. **Revista Verde**, v. 5, n. 3, p. 263 - 273, 2010.