

Primeiro registro de ocorrência natural do fungo entomopatogênico *Metarhizium brasiliense* em cigarrinha do milho no oeste da Bahia, Brasil.

Oliveira, J.C.¹, Silva, M.C. O.S.², Tamai, M.A.³, Arruda, F.V.F.⁴

¹Engenheiro agrônomo, JCO Bioprodutos – flaviaarruda@jcofertilizantes.com.br

²Engenheira agrônoma, JCO Bioprodutos mariela@jcofertilizantes.com.br

³Doutor, Docente do curso de Engenharia Agrônômica, Universidade do Estado da Bahia - UNEB, mtamai@uneb.br

⁴Doutora, JCO Bioprodutos – flaviaarruda@jcofertilizantes.com.br

Resumo: fungos entomopatogênicos parasitam e matam os insetos pragas, controlando assim a sua população de forma natural e segura. O gênero *Metarhizium* abriga as espécies entomopatogênicas mais estudadas para controle de pragas no mundo, e é comumente encontrado parasitando diferentes ordens de insetos em diferentes continentes. A espécie mais utilizada é *Metarhizium anisopliae*, que possui ação efetiva contra cigarrinhas da cana e da pastagem. Cigarrinha do milho é um inseto do tipo sugador que se tornou uma das principais pragas para essa cultura, causando sérios prejuízos aos agricultores, pois, além dos danos diretos causados, esse inseto é um vetor de viroses. Para o controle dessa praga é frequentemente aplicado produtos químicos, que além de danos ao meio ambiente, podem favorecer o surgimento da resistência da praga a esses compostos. Por outro lado, epizootias naturais envolvendo microrganismos e insetos pragas, são frequentemente observadas na natureza. A JCO Bioprodutos, empresa situada na cidade de Barreiras, Bahia, pesquisa e desenvolve produtos à base de microrganismos benéficos para disponibilização no mercado agrícola. Em uma das expedições a campo realizada pela equipe de pesquisadores da empresa, foi observada a ocorrência de cigarrinhas do milho mortas e colonizadas naturalmente por um fungo de coloração verde. Esses insetos foram coletados e levados ao laboratório da empresa, onde o fungo foi isolado e purificado, sendo posteriormente identificado como *Metarhizium brasiliense*.

Palavras-chave: agricultura, controle biológico, *Dalbulus maidis*, insetos praga

First record of the natural occurrence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brasiliense* in corn leafhopper in western Bahia, Brazil.

Abstract: Entomopathogenic fungi paralysis and kill pest insects, thus controlling their population in a natural and safe way. The genus *Metarhizium* is one of the most studied entomopathogenic species for pest control in the world, and is commonly found parasitizing different orders of insects on different continents. The most used species is *Metarhizium anisopliae*, which is effective against sugarcane and pasture leafhoppers. The corn leafhopper is a sucking insect that has become one of the main pests for corn, causing serious damage to farmers. In addition to the direct damage caused to the crop, this insect is a vector for viruses. To control this pest, chemicals are often applied. In addition to the damage to the environment, they can favor the emergence of pest resistance to these compounds. On the other hand, natural epizootics involving microorganisms and pest insects are frequently observed in nature. JCO Bioproducts is a company located in the city of Barreiras, Bahia, researches and develops products based on beneficial microorganisms for availability in the agricultural market. In one of the field expeditions carried out by the company's research team, the occurrence of dead corn leafhoppers colonized by a green colored fungus was observed. These insects were collected and taken to the company's laboratory, where the fungus was isolated and purified, and was later identified as *Metarhizium brasiliense*.

Key words: agriculture, biological control, *Dalbulus maidis*, pest insects

Introdução

A região Oeste da Bahia vem se desenvolvendo como o principal polo agrícola do estado, na produção de soja, algodão e milho. Segundo a Associação de Irrigantes da Bahia – Aiba, o milho plantado no Oeste da Bahia, representa 66% de toda produção do estado, e essa cultura é atacada por inúmeras pragas, dentre elas, a cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*), que vem se destacando como uma das principais pragas dessa cultura deixando de ser uma praga secundária. Além dos danos diretos, essa espécie é importante por transmitir, ao sugar a seiva da planta, viroses, mollicutes, espiroplasmas e fitoplasmas, agentes causais do enfezamento-pálido e o enfezamento-vermelho do milho, doenças capazes de causar danos e perdas de até 100% da produtividade (ALVES et al., 2020).

Fungos entomopatogênicos são inimigos naturais de insetos, e segundo Khan et al., (2012), mais de 700 espécies de fungos pertencentes a aproximadamente 90 gêneros, são nocivos a esse grupo de animais. As espécies do gênero *Metarhizium* são patógenos de artrópodes sendo capazes de causar danos em variados insetos (LACEY et al., 2015). Acredita-se que esse grupo de fungos atue em mais de 300 espécies de insetos pragas nas diferentes ordens e estágios de desenvolvimento, e possuem alta capacidade de multiplicação e dispersão através do vento, água, ou até mesmo entre os insetos (ALVES et al., 2008, LACEY et al., 2015).

Entre os meses de março e julho de 2020, foram realizadas pela equipe da JCO Bioprodutos, expedições a campo, visando o acompanhamento do comportamento de *D. maidis* na lavoura comumente tratada com inseticidas químicos. Durante esse período, de modo inesperado, foi observada a ocorrência de cigarrinhas mortas e colonizadas por um fungo de coloração verde. Este trabalho tem por objetivo, relatar o primeiro registro do fungo entomopatogênico *Metarhizium brasiliense* como agente de biocontrole da cigarrinha do milho no Brasil.

Matérias e métodos

A observação de ocorrência natural do fungo agindo como agente de controle biológico da cigarrinha do milho, foi feita no híbrido não Bt HS 2122, cultivado em três pivôs irrigados na Fazenda Santa Cruz situada na Região Oeste da Bahia, Brasil. Os três campos, cada um com área de 115 há. Para controle dos insetos, utilizava três produtos químicos com diferentes princípios ativos (Acefato, Acetamiprido e Tiometoxam+Lambida-Cialotrina).

Durante as visitas, foram quantificados o número de cigarrinhas colonizadas presentes em 200 plantas coletadas aleatoriamente em cada pivô. Esses insetos colonizados foram levados ao Laboratório de Fungos entomopatogênicos da JCO Bioprodutos, e o fungo foi posteriormente isolado e purificado. Para a purificação, conídios do fungo foram retirados dos insetos mortos e transferidos para placas de Petri contendo meio Batata Dextrose Agar (BDA) acrescidos do antibiótico Cloranfenicol (0,500 g/L). Essas placas foram incubadas em B.O.D. a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ até o crescimento do fungo. Após a purificação, o fungo foi submetido a análise de morfologia e comportamento de crescimento em placa, e uma amostra foi enviada para identificação molecular no Instituto biológico de Campinas.

Resultados e discussões

Em 1989, um Hemíptera colonizado por um fungo foi coletado em Campinas, no estado de São Paulo, Brasil, isolado e depositado em coleção de cultura ARSEF (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Ithaca, New York) e posteriormente identificado como *M. flavoviride* var *minus*. Driver et al., (2000) reclassificou essa espécie como *M. flavoviride* “Tipo E”. Com o surgimento de novas técnicas moleculares Kepler et al., (2014) fazendo um levantamento de diferentes isolados de *Metarhizium* e outros isolados fúngicos da coleção de cultura ARSEF observaram que esse isolado, no entanto, apresentava característica de produzir conídios de dois

tamanhos diferentes, esses autores então reclassificaram o isolado como *Metarhizium brasiliense*.

Após purificação do fungo no laboratório da JCO Bioprodutos, foi observado que o mesmo apresentava coloração esverdeada semelhante ao gênero *Metarhizium*. Na análise morfológica realizado na JCO Bioprodutos, foram observadas colônias inicialmente de coloração branca variando para creme e posteriormente verde azulado em meio BDA. Os conídios apresentaram dois tamanhos diferentes, sendo um mais alongado e outro curto, característica da espécie *M. brasiliense* descrita por Kepler et al., (2014), que também relataram a ocorrência dessa espécie em cigarrinhas (Hemiptera: Cicadellidae). A identificação molecular realizada no Instituto Biológico de Campinas, confirmou a identidade dessa espécie, contribuindo assim para a identificação por meio da taxonomia integrativa.

É importante salientar que durante as avaliações da equipe JCO Bioprodutos, foi constatada uma crescente ocorrência de cigarrinhas colonizadas nos três pivôs. Quanto ao estágio do ciclo de vida foram observados majoritariamente, indivíduos adultos colonizados (Figura 1 A), e apenas duas ninfas (Figura 1 B). O mesmo grupo de pesquisa observou também que o hábito das cigarrinhas adultas é de sobrevoar a parte superior e se posicionar dentro do cartucho, porém, quando mortas, se encontravam fixas na parte inferior das folhas (Figura 1 C), comportamento que pode ser explicado como defesa do inseto doente, após início da infecção pelo fungo.



Figura 1: A - Adulto de cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*) colonizada naturalmente pelo fungo entomopatogênico apresentando coloração verde clara. B – Nínta colonizada. C – Adulto morto e fixo na parte abaxial da folha (seta mostrando a nervura central)

O fenômeno de epizootia natural por fungos como nesse caso, é observado há muito tempo no controle biológico, e a relação mais comumente conhecida é entre o fungo *Metarhizium rileyi* (*Nomurea rylei*) e as lagartas do complexo *Spodoptera*. Segundo Andrade e Rangel, 2021, *M. rileyi* é um agente causador de epizootias em lagartas, capaz de propiciar o controle dessas pragas com sustentabilidade. Como alternativa de manejo integrado da cigarrinha do milho, tem sido utilizado o produto biológico à base do fungo *Beauveria bassiana* (OLIVEIRA e SABATO, 2017). Contudo, estudos mais recentes têm mostrado que além de *B. bassiana*, outros fungos têm registrado resultados satisfatórios no controle de *D. maidis*.

O serviço de assistência técnica personalizada que a JCO Bioprodutos oferece aos seus clientes, permitiu a observação, pela primeira vez no Brasil, da ocorrência do fungo *Metarhizium brasiliense* colonizando de forma natural cigarrinhas do milho (epizootia), deixando evidente como é importante o monitoramento de pragas em nível de campo, e como é mais importante ainda, a presença de profissionais qualificados para essa atividade. A busca por novos agentes biológicos se faz cada vez mais necessária, uma vez que, insetos pragas, são grave problema para os produtores, pois, além de causarem danos às plantas, esses organismos vêm criando resistência aos defensivos químicos. Por outro lado, a compatibilidade entre o microrganismo e produtos químicos, como observado nesse caso, é um grande diferencial, pois

torna possível o uso do biológico associado ao químico sem prejuízo, o que garante a sua utilização em estratégias de manejo integrado.

Conclusão

Os resultados das análises de comportamento em meio de cultura, da morfologia e molecular, confirma o primeiro relato do fungo entomopatogênico *Metarhizium brasiliense* como um potencial agente de controle biológico da Cigarrinha do milho.

Agradecimento

A empresa JCO Bioprodutos agradece o apoio da Fazenda Santa Cruz no desenvolvimento desse trabalho pela disponibilidade de utilização do local estudado.

Referências Bibliográficas

- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; PEREIRA, R. M.; TAMAI, M. A. O controle microbiano na América Latina. In: Alves SB, Lopes RB, eds. Controle microbiano de pragas na América Latina. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), **Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz**, Piracicaba v.14. p 21–48. 2008.
- ANDRADE, E. P.; RANGEL, D. E. N. Desenvolvimento do fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* como agente microbiano para o manejo das principais espécies de lepidópteros nas culturas de soja e algodão: uma revisão. Curitiba: **Brazilian Journal of Development**, maio. v.7, n.5, p. 49283-49288. 2021
- DRIVER, F.; Milner, R. J.; TRUEMAN, J. W. H. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. **Mycol Res** 104:134– 150, doi:10.1017/S0953756299001756. 2000.
- ALVES, A P.; PARODY, B.; BARBOSA, C. M.; OLIVEIRA, C. M.; SACHS, C.; ABATO, E. O.; GAVA, F.; DANIEL, H.; OLIVEIRA, I. R.; FORESTI, J.; COTA, L. V.; CAMPANTE, P.; GAROLLO, P. R.; PALATNIK, P.; ARAUJO, R. M. Guia de boas práticas para o manejo dos enfezamentos e da cigarrinha-do-milho, São Paulo. **Croplife Brasil**. Brasília, Distrito Federal. 33p. 2020.
- KEPLER, R. M.; HUMBER, R.A.; BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. *Mycologia*. Jul-Aug;106(4) 811-829. doi:10.3852/13-319. PMID: 24891418. 2014.
- KHAN, M. Q.; ABBASI, M.W.; ZAKI, M.J.; KHAN, S.A., Evaluation of *Bacillus thuringiensis* isolates against root-knot nematodes following seed application in okra and mungbean. **Pak. J. Bot.** 42, 2903–2910. 2010.
- LACEY, L. A.; Grzywacz, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.132. p.1-41, ISSN 0022-2011. 2015.
- OLIVEIRA, C. M. D.; SABATO, E. D. O. Doenças em milho: Insetos-vetores, mollicutes e vírus. Brasília, Distrito Federal. 278p. 2017.
- PINHEIRO, J. B.; POLONIO, J. C.; ORLANDELLI, R. C.; PAMPHILE, J. A.; GOLIAS, H. C. Atividade larvicida de fungos endofíticos: uma revisão Larvicidal activity of endophytic fungi: a review). **Brazilian Journal of Development**, 2020.
- RIBEIRO, J. M. Eficiência de controle da cigarrinha-do-milho por dois fungos entomopatogênicos, associados com o indutor de resistência K₂SiO₃, em plantas de *Zea mays* (var. *saccharata*) sob condições de campo. Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano. 31 p. Urutaí, 2019.