

CIRCULAR TÉCNICA

194

Pelotas, RS
Outubro, 2018

Metodologia para Avaliação da Compatibilidade de Agrotóxicos com Fungos Entomopatogênicos

Vanessa Pinto Gonçalves
Ana Paula Afonso da Rosa
Viktória Moreira-Nuñez
Renata Moccellin
Cândida Renata Jacobsen de Farias
José Francisco da Silva Martins



Metodologia para Avaliação da Compatibilidade de Agrotóxicos com Fungos Entomopatogênicos¹

O manejo fitossanitário de lavouras de arroz irrigado e soja contempla a utilização de agrotóxicos. Nesse contexto, a seletividade desses produtos a agentes de controle biológico, como entomopatógenos, deve ser avaliada em qualquer circunstância, principalmente frente ao atual uso excessivo nas referidas lavouras. Essa condição de uso pode interferir na ação dos agentes de controle biológico e ocasionar perda da eficiência aos organismos-alvo (Loureiro et al., 2002; Carvalho et al., 2003; Andaló et al., 2004).

Entre os microrganismos utilizados para o controle microbiano de pragas, destacam-se os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Ascomycota: Hypocreales) e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), que são importantes reguladores de populações de coleópteros e lepidópteros (Tamai et al., 2002; Sitta et al., 2009). O amplo espectro de hospedeiros, alta variabilidade genética e a ingestão não obrigatória pelos insetos-praga conferem elevada eficiência no controle (Alves et al., 1998). A preservação dos fungos como agentes microbianos de ocorrência natural é essencial para evitar ressurgência ou surtos de pragas. Do mesmo modo, a compatibilidade com agrotóxicos é desejável, aumentando o potencial como agentes de controle, pois substâncias sintéticas podem atuar como estressantes, facilitando a infecção por fungos (Sosa-Gómez, 2006).

Alguns estudos de compatibilidade de fungos entomopatogênicos a inseticidas, fungicidas e herbicidas têm sido realizados em laboratório, visando avaliar a seletividade (Neves et al., 2001; Santos et al., 2009). No entanto, estudos sobre o desenvolvimento desses organismos, relacionados a diferentes modos de contato com agrotóxicos, precisam ser melhor explorados, buscando mais sinergismo funcional entre entomopatógenos e os produtos

¹ Vanessa Pinto Gonçalves, Engenheira-agrônoma, doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS; Ana Paula Afonso da Rosa Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; Victória Moreira-Nuñez, Engenheira-agrônoma, mestranda em Fitossanidade, UFPel, Pelotas, RS; Renata Moccellini, Engenheira-agrônoma, pós-doutoranda, UFPel, Pelotas, RS; Cândida Renata Jacobsen de Farias, Engenheira-agrônoma, doutora em Fitossanidade, UFPel, Pelotas, RS; José Francisco da Silva Martins, Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

químicos no campo. Assim, o conhecimento acerca da interação entre agrotóxicos e entomopatogênicos, que apresentam potencial para controle de um determinado inseto-praga, constitui importante ferramenta para programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de agrotóxicos, recomendados para uso na cultura do arroz irrigado e soja, no desenvolvimento de isolados de fungos das espécies *B. bassiana* e *M. anisopliae*, submetidos a diferentes metodologias de contato.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Sementes e Fungos Fitopatogênicos, do Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, e no Núcleo de Bioeficiência da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. O isolado *B. bassiana* foi obtido da coleção do Laboratório de Patologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, e o isolado de *M. anisopliae* (MaCG168) foi obtido da coleção de fungos entomopatogênicos da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO.

Os agrotóxicos (inseticidas e fungicidas) e as doses avaliadas (Tabela 1) foram selecionados conforme o registro para uso na cultura do arroz irrigado e da soja (Agrofit, 2018). Dois métodos de contato dos agrotóxicos com os fungos foram utilizados: por incorporação ao meio de cultura e por pulverização.

O experimento foi conduzido conforme o delineamento de tratamentos inteiramente casualizados, com quatro repetições, em esquema fatorial 10 x 2, consistindo o fator A nos nove agrotóxicos (Tabela 1) e a testemunha, e o fator B nos dois métodos de contato. A variável resposta analisada consistiu na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC).

Na incorporação dos agrotóxicos ao meio de cultura, doses correspondentes ao registro dos produtos comerciais foram adicionadas a 400 mL de meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA) sob temperatura de 45 °C, ainda não solidificado, conforme a metodologia modificada de Alves et al. (1998). Em 10 mL do meio vertido em placas de Petri, de imediato foi inoculado (ao centro da placa) micélio dos fungos retirado de colônias jovens, com sete dias de crescimento, sendo o material mantido em sala de incubação sob temperatura de 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12 horas.

Para pulverização, os fungos foram repicados para o meio BDA e incubados sob temperatura de 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por quatro dias. Posteriormente, as placas foram tratadas com caldas dos agrotóxicos (1 mL/aplicação), em Torre de Potter (Burkard Scientific Uxbridge UK) calibrada sob pressão de 10 lb pol⁻², resultando no volume de $0,166 \pm 2,61$ mg cm⁻² de deposição. Em sequência, as placas foram mantidas em sala de incubação em igual temperatura e fotoperíodo antes citados. A testemunha, para os dois métodos, foi estabelecida a partir do crescimento dos fungos em meio BDA sem incorporação e pulverização de agrotóxicos.

O crescimento micelial (PIC) foi avaliado diariamente, até ao décimo dia, por meio de paquímetro digital. Para tal, o diâmetro das colônias foi medido em dois sentidos transversais, determinando-se o diâmetro médio (Nascimento et al., 2013), sendo:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{Crescimento da testemunha})}{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento})} \times 100$$

Tabela 1. Ingredientes ativos de fungicidas e inseticidas registrados para as culturas do arroz irrigado e soja.

Ingrediente ativo	Grupo químico	Categoria*	Dose (ha ⁻¹) **	Volume de calda (L/ha)
Tiametoxam	Neonicotinoide	I	100-150g	100
Clorantraniliprole	Antranilamida	I	100-200L	100
Flubendiamida	Diamida	I	200-300L	200
Etofenproxi	Éter difenílico	I	150 L	150
Espinosade	Espinosina	I	100-200L	100
Triciclazol	Benzotiazol	F	200-300L	200

Continua..

Continuação Tabela 1.

Ingrediente ativo	Grupo químico	Categoria*	Dose (ha ⁻¹) **	Volume de calda (L/ha)
Trifloxistrobina + Protioconazol	Estrobirulina + triazolinthione	F	200 L	200
Trifloxistrobina + Tebuconazol	Triazol + estrobirulina	F	200 L	200
Azoxistrobina + Ciproconazol	Estrobilurina + triazol	F	100-200L	100

* F= Fungicida e I= inseticida; **Agrofit (2018).

A porcentagem de inibição do crescimento micelial, entre os dois métodos de contato dos agrotóxicos com os fungos entomopatogênicos, foi submetida à análise de variância, e a comparação de médias deu-se pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

Entre os inseticidas avaliados, flubendiamida proporcionou maior inibição no crescimento de *B. bassiana*, tanto incorporado ao meio de cultura (100%) como por pulverização ($\pm 60\%$) (Figura 1).

Na comparação entre os métodos de contato dos fungos entomopatogênicos e os inseticidas, menor porcentagem de inibição ocorreu quando os produtos foram pulverizados às colônias. No entanto, não houve diferença significativa quanto ao tratamento com clorantraniliprole e espinosade (Figura 1), evidenciando que esses produtos exercem efeito negativo aos fungos, independentemente do método de contato utilizado.

Um dos princípios ativos mais utilizados mundialmente é o inseticida tiame-toxam, em decorrência da elevada eficiência no controle de insetos-praga e versatilidade na aplicação, podendo ser via pulverização foliar, incorporação ao solo e tratamento de sementes (Scorza Júnior; Rigitano, 2009). Dentre os métodos de contato, foi constatada diferença significativa em relação à inibição do crescimento micelial de *B. bassiana* – quando aplicado o referido inseticida. Isso pode indicar menor incompatibilidade entre fungo e o inseticida, se aplicado via pulverização (Figura 1), conforme indicado pela baixa inibição do crescimento micelial ($\pm 20\%$), o que corrobora resultados de Fregonesi et al. (2016) e Botelho e Monteiro (2011). Esses autores constataram que o fungo

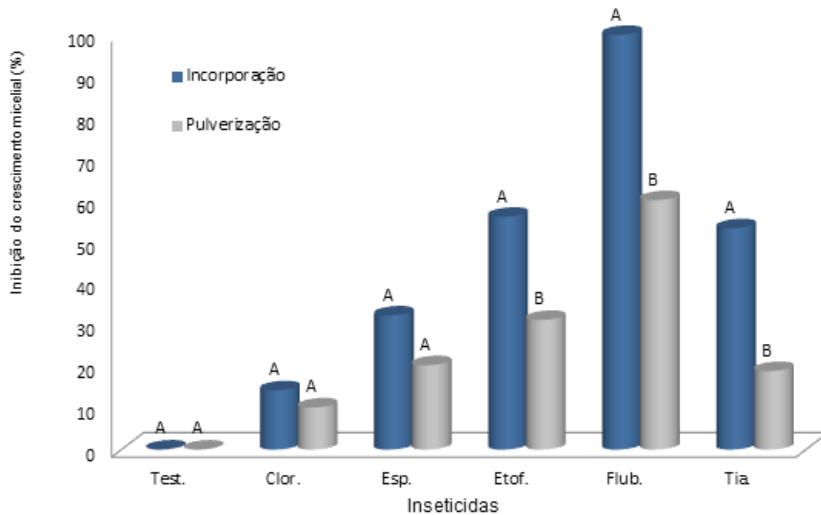


Figura 1. Inibição do crescimento micelial de *Beauveria bassiana* conforme o método de contato com inseticidas. Test. = testemunha; Clor. = clorantraniliprole; Esp. = espinosade; Etof. = etofenproxi; Flub. = flubendiamida; Tia. = tiametoxam.

Médias com letras iguais, inerentes ao mesmo inseticida, não diferem pelo teste t de Student, em nível de 5%.

B. bassiana foi pouco afetado por tiametoxam; no entanto, observaram que, com o aumento da dose, a produção de conídios foi reduzida.

O percentual de inibição do crescimento de *M. anisopliae*, ocasionado por clorantraniliprole, espinosade, etofenproxi, flubendiamida e tiametoxam, diferiu significativamente se incorporados ao meio de cultura ou pulverizados, independentemente do efeito tóxico médio de ambos os métodos, inerente a cada inseticida. Clorantraniliprole e tiametoxam exerceram maior inibição de crescimento ($\pm 20\%$ e $\pm 40\%$, respectivamente), quando pulverizados, enquanto etofenproxi e flubendiamida ($\pm 30\%$ e 100% , respectivamente), quando incorporados ao meio de cultura. Quanto a espinosade, não foram detectados efeitos diferenciados de inibição do crescimento *M. anisopliae* em decorrência dos métodos de aplicação (Figura 2).

Os percentuais de inibição obtidos estão muito além dos esperados quanto à inibição dos fungos em condições de campo, pois testes in vitro mantêm esses entomopatógenos totalmente em contato com o agrotóxico, diferente-

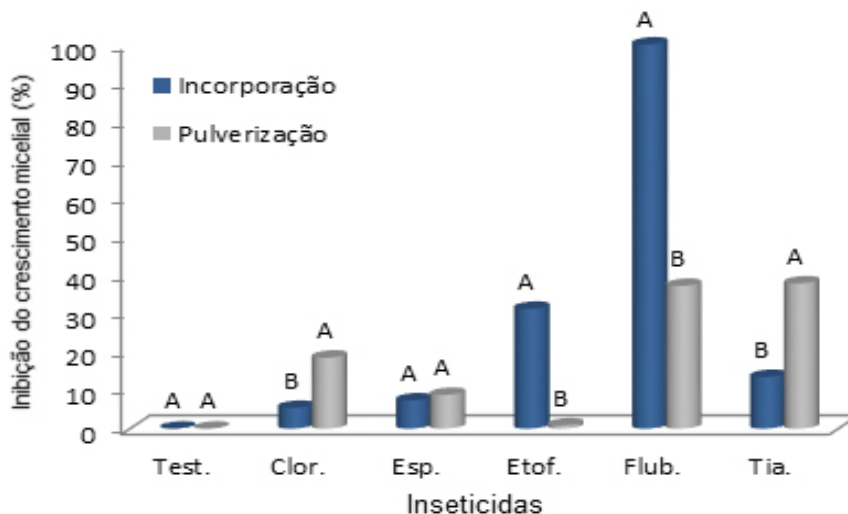


Figura 2. Inibição do crescimento micelial (%) de *Metarhizium anisopliae* conforme o método de contato com inseticidas. Test. = testemunha; Clor. = clorantraniliprole; Esp. = espinosade; Etof. = etofenproxi; Flub. = flubendiamida; Tia. = tiametoxam. Médias com letras iguais, inerentes ao mesmo inseticida, não diferem pelo teste t de Student, em nível de 5%.

mente do que ocorre em condições naturais, nas quais os produtos são expostos a fatores abióticos que reduzem a sua ação (Cavalcanti et al., 2002).

Em relação à espécie *M. anisopliae*, a menor porcentagem de inibição de crescimento ($\pm 10\%$) decorreu da aplicação de espinosade (Figura 2). Resultados similares foram obtidos pela aplicação de três concentrações desse inseticida em diferentes isolados de *M. anisopliae*, sendo verificado que nenhuma das concentrações reduziu o crescimento micelial do isolado URPE -19 (Pires et al., 2010; Eissa et al., 2014).

É importante salientar que, de modo geral, a incorporação de inseticidas ao meio de cultura promoveu maior inibição do crescimento micelial de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Isso pode decorrer do fato de que o fungo, quando inicia processo germinativo, já está em contato com o agrotóxico, condição que induz à redução do crescimento micelial e esporulação.

A ação de fungicidas evidenciou um cenário completamente distinto da ação dos inseticidas frente a *B. bassiana*. A maioria desses produtos (trifloxistrobi-

na + protoconazol; trifloxistrobina + tebuconazol; azoxistrobina + ciproconazol) exerceu elevadíssimo efeito fungitóxico, impossibilitando qualquer crescimento do fungo, independentemente do modo de contato (aplicação). Apenas triciclazol exerceu ação diferenciada em decorrência do método de aplicação, sendo \pm 30% menos tóxico, quando aplicado via pulverização (Figura 3).

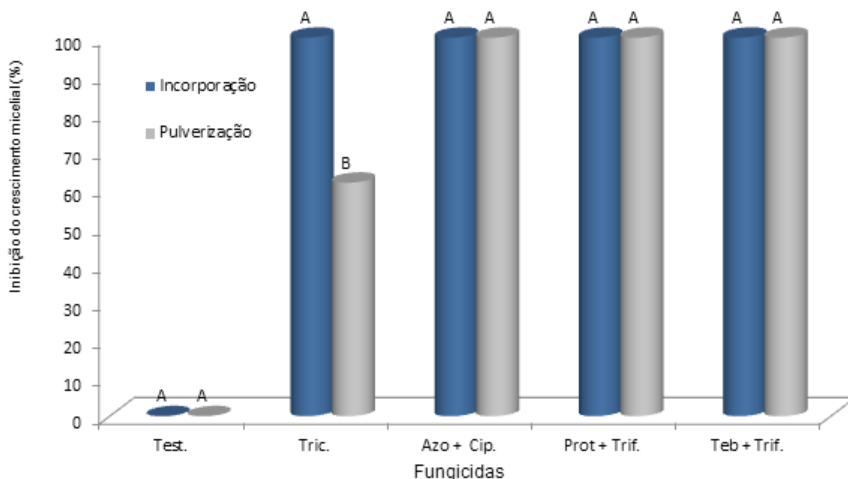


Figura 3. Inibição do crescimento micelial (%) de *Beauveria bassiana* conforme o método de contato com fungicidas.. Test. = testemunha; Tric. = triciclazol; Azo+Cip. = Azoxistrobina + Ciproconazol; Prot+Trif. = Trifloxistrobina + Protoconazol; Teb+Trif. = Tebuconazol + Trifloxistrobina.

Médias com letras iguais, inerentes ao mesmo fungicida, não diferem pelo teste t de Student, em nível de 5%.

Em se tratando de *M. anisopliae*, não ocorreu qualquer crescimento micelial quando os fungicidas foram incorporados ao meio de cultura, diferindo significativamente da metodologia de pulverização (Figura 4).

De modo geral, os resultados deste trabalho evidenciaram que fungicidas e inseticidas registrados para o controle de insetos e doenças em cultivos de arroz irrigado e soja, dependendo das circunstâncias (métodos de aplicação), podem prejudicar o desenvolvimento de entomopatógenos. Nesse contexto, há evidências de que o crescimento de *Nomuraea rileyi* seja afetado por fungicidas, herbicidas e inseticidas utilizados na cultura da soja (Sosa-Gómez, 2006).

Comparativamente a *B. bassiana*, *M. anisopliae* tendeu a ser menos afetada por fungicidas e inseticidas, principalmente, quando aplicados via pulverização, o que pode condicionar menor inibição do crescimento micelial. Isso assume maior relevância frente à possibilidade de se expor *M. anisopliae* a inseticidas, como no caso da mistura de uma suspensão de esporos do isolado CG 168 com dose subletal de tiametoxam à registrada para o controle de *Tibraca limbativentris* Stal (percevejo-do-colmo do arroz), que reduziu drasticamente a população do inseto (Quintela et al., 2013; Silva et al., 2013). Assim, a adição de doses reduzidas de inseticidas a suspensões de esporos, como do isolado CG 168, pode resultar em sinergia dos agentes químico e biológico da mistura, potencializando a ação do entomopatógeno que, isoladamente, reduz em cerca de 60% a população do referido percevejo em arrozais irrigados (Martins et al., 2004).

Por fim, considera-se que, apesar do maior potencial de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e inseticidas, é necessário ainda aperfeiçoar

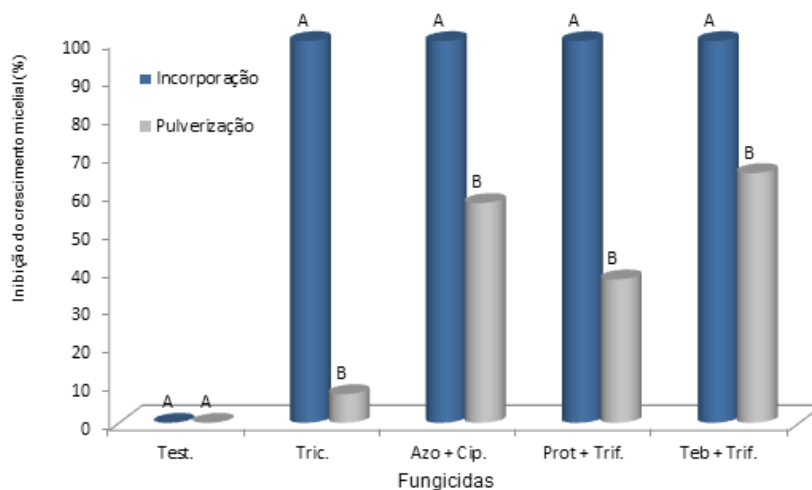


Figura 4. Inibição do crescimento micelial (%) de *Metarhizium anisopliae* conforme o método de contato com fungicidas. Test. = testemunha; Tric. = triciclazol; Azo+Cip. = Azoxistrobina + Ciproconazol; Prot+Trif. = Trifloxistrobina + Protioconazol; Teb+Trif. = Tebuconazol + Trifloxistrobina.

Médias com letras iguais, inerentes ao mesmo inseticida, não diferem pelo teste t de Student, em nível de 5%.

metodologias que possibilitem identificar, com precisão, efeitos tóxicos de fungicidas sobre esses agentes de controle biológico. Isso porque, fungicidas, devido à composição química menos compatível à fisiologia de fungos, aliada ao uso maciço em terras baixas, são mais antagônicos ao controle biológico (natural e inundativo) de insetos fitófagos, via fungos entomopatogênicos, principalmente em lavouras de arroz irrigado e soja.

Referências

- AGROFIT. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 13 abr. 2018.
- ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. São Paulo: FEALQ, 1998. Cap. 8, p. 845-869.
- ANDALÓ, V.; MOINO JÚNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Compatibility of *Beauveria bassiana* with chemical pesticides for the control of the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 4, p. 463-467, 2004.
- BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 361-369, 2011.
- CARVALHO, G. A.; FUINI, L. C.; ROCHA, L. C. D.; REIS, P. R.; MORAES, J. C.; ECOLE, C. C. Avaliação da seletividade de inseticidas utilizados na tomaticultura a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Ecosistema**, v. 28, p. 23-30, 2003.
- CAVALCANTI, R. S.; MOINO JÚNIOR, A.; SOUZA, G. C.; ARNOSTI, A. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropatrina, imidacloprid, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 17-22, 2002.
- EISSA, F. I.; ZIDAN, N. EL-H. A.; HASHEM, M. Y. & AHMED, S. S. Insecticidal efficacy of certain bio-insecticides, diatomaceous earth and modified atmospheres against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat. **Journal of Stored Products Research**, v. 57, p. 30-35, 2014.
- FREGONESI, A. F.; MOCHI, D. A.; MONTEIRO, A. C. Compatibilidade de isolados de *Beauveria bassiana* a inseticidas, herbicidas e maturadores em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 01-08, 2016.
- LOUREIRO, E. S.; MOINO JÚNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 263-269, 2002.
- MARTINS, J. F. S.; BOTTOM, M.; CARBONARI, J. J.; QUINTELA, E. D. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* no controle do Percevejo-do-Colmo *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) em lavoura de arroz irrigado. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1681-1688, 2004.

NASCIMENTO, J. M.; SERRA, A. P.; BACCHI, L. M.; GAVASSONI, W. L.; VIEIRA, M. C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n.4, p.751-756, 2013.

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

PIRES, L. M.; MARQUES, E. J.; DE OLIVEIRA, J. V.; ALVES, S. B. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua compatibilidade com alguns inseticidas usados na cultura do tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 977-984, 2010.

QUINTELA, E. D.; MASCARINA, G. M.; SILVA, R. A., BARRIGOSI, J. A. F.; MARTINS, J. F. S. Enhanced susceptibility of *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) to *Metarhizium anisopliae* with sublethal doses of chemical insecticides. **Biological Control**, v. 66, p. 56-64, 2013.

SANTOS, A. B. S.; SILVA, T. F. B.; SANTOS, A. C.; PAIVA, L. M; LIMA, E. A. L. A. Efeito fungitóxico do óleo de nim sobre *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Caatinga**, v. 22, p. 17-22, 2009.

SCORZA JR., R. P.; RIGITANO, R. L. O. **Comportamento ambiental do inseticida thiamethoxam em um latossolo vermelho distroférico de Dourados, MS**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2009. 24 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 49).

SILVA, R. A.; QUINTELA, E. D.; MASCARIN, G. M.; BARRIGOSI, A. F.; LIÃO, L. M. Compatibility of convencional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Scientia Agricola**, v. 70, p. 152-160, 2013.

SITTA, R. B.; GOUVEA, L.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Compatibilidade de inseticidas com fungos entomopatogênicos. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 4., 2009, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 68-72. (Embrapa Soja. Documentos, 312). Editado por Odilon Ferreira Saraiva, Paula Geron Saiz Melo.

Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/72358/1/ID-29937.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2018.

SOSA-GÓMEZ, D. R. **Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos**. 2006. Disponível em: <<https://www.cnpso.embrapa.br/download/artigos/seletivfung.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2018.

TAMAI, M. A; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; FAION, M.; PADULLA, L. F. L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 89-96, 2002.

Embrapa Clima Temperado
BR 392, Km 78, Caixa Postal 403
Pelotas, RS - CEP 96010-971
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

1ª edição

Obra digitalizada (2018)



Comitê Local de Publicações
Presidente

Ana Cristina Richter Krolow

Vice-Presidente

Enio Egon Sosinski

Secretária-Executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

Ana Luiza Barragana Viegas, Fernando

Jackson, Marilaine Schaun Pelufé,

Sonia Desimon

Revisão de texto

Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica

Marilaine Schaun Pelufé

Editoração eletrônica

Nathália Santos Fick (estagiária)

Foto da capa

Ana Paula Afonso da Rosa

CGPE 14733