

Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos*

Compatibility between entomopathogenic fungi and agrochemicals

Renato Cassol de Oliveira¹; Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves²;
Élio Cesar Guzzo³; Viviane Sandra Alves³

Resumo

A compatibilidade das formulações Citrex SC (clorfenapyr), Kendo SC (fenpyroximate), Parsec CE (amitraz), Rufast 50SC (acrinathrin), Sanmite CE (pyridaben), Vertimec 18 CE (abamectin), Savey PM (hexythiazox) e Partner SC (fenbutatin), foi avaliada em duas concentrações – concentração média: CM (1x) e a metade da CM (0,5x) sobre a germinação, crescimento vegetativo e conidiogênese dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces fumosoroseus*. As formulações Rufast 50SC (acrinathrin), Vertimec 18CE (abamectin) e Savey PM (hexythiazox) foram seletivas aos fungos, com maior potencial para serem utilizados em programas de manejo integrado de pragas, de forma associada com o patógeno ou com o objetivo de preservar o potencial de inóculo destes fungos presentes nos agroecossistemas.

Palavras-chave: Grupos químicos, seletividade, fungitóxico.

Abstract

Citrex SC (clorfenapyr), Kendo SC (fenpyroximate), Parsec CE (amitraz), Rufast 50SC (acrinathrin), Sanmite CE (pyridaben), Vertimec 18 CE (abamectin), Savey PM (hexythiazox) e Partner SC (fenbutatin) formulation compatibility was estimated in two concentration – medium concentration: MC (1x) and a half MC (0,5x) on germination, vegetative grow and conidiogenes of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus*. Rufast 50SC (acrinathrin), Vertimec 18CE (abamectin) e Savey PM (hexythiazox) formulation were selective to the fungi, with potential to be used in integrate pest management (IPM), associated with the pathogen or with objective of preserving the potential of inoculum potential of this fungi present in the agroecosystems.

Key word: Chemical groups, selectivity, fungi toxic.

Introdução

Existem evidências de que produtos químicos utilizados na proteção das culturas podem ter efeitos antagônicos, nulos ou sinérgicos sobre a atividade inseticida/acaricida dos entomopatógenos presentes no agroecossistema (BENZ, 1987). Assim, conhecer a compatibilidade destes produtos sobre as

diversas fases de desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos é essencial em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), onde os entomopatógenos são importantes agentes naturais de controle de pragas. A preservação da viabilidade dos conídios é de extrema importância, pois estas estruturas são as responsáveis pela ocorrência da

¹ Depto. de Ciências Biológicas – UNIPAR, C.P. 4515, CEP: 85801-470, Cascavel, PR. E-mail: renato_cassol@hotmail.com.

² Depto. de Agronomia, CCA/ UEL. Londrina, PR. C.P. 6001. CEP: 86051-990. E-mail: pmojneve@uel.br.

³ Graduandos do Curso de Ciências Biológicas – UNIOESTE. Cascavel, PR.

* Trabalho desenvolvido no Laboratório de Entomologia do Depto. de Agronomia CCA – UEL.

doença nas populações de insetos (DUARTE; MENENDEZ; TRIGUEIRO, 1992; TODOROVA et al., 1998). É também importante a sua preservação, quando o fungo (conídios) é aplicado a campo, de modo inundativo associado ou não a produtos fitossanitários (ANDERSON; ROBERTS, 1983; NEVES et al., 2001).

Assim, avaliou-se a compatibilidade (seletividade), *in vitro*, de algumas formulações sobre a germinação, crescimento vegetativo e conidiogênese dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces fumosoroseus*.

Material e Métodos

Fungos Entomopatogênicos. Utilizou-se o fungo *B. bassiana* (isolado 447) e *M. anisopliae* (isolado E9) Esalq – USP e *P. fumosoroseus* (isolado CG120) EMBRAPA – CENARGEN, Brasília, mantidos no Banco de Patógenos do Laboratório de Controle Microbiano do Departamento de Agronomia da UEL. Os isolados armazenados a -4°C, foram multiplicados em meio de cultura B.D.A. ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; 12 h fotofase). Os conídios produzidos foram utilizados nos testes de germinação, crescimento vegetativo e conidiogênese.

Produtos fitossanitários. Informações sobre o ingrediente ativo, nome comercial, formulação, grupo químico, bem como as concentrações (ppm), são apresentadas na Tabela 1. As formulações foram avaliadas em duas concentrações: concentração média (CM=1x) e metade da CM (0,5x). Para determinação da CM calculou-se a média aritmética utilizando-se as várias concentrações recomendadas pelos fabricantes para aplicação a campo, em 100 litros de água/ha, nas diferentes culturas.

Tabela 1 – Agroquímicos utilizadas no teste de compatibilidade com fungos entomopatogênicos.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Formulação	Grupo Químico	ppm
Citrex	Clorfenapyr	SC	Pyrrrol	470
Kendo	Fenpyroximate	SC	Pyrazol	1000
Parsec	Amitraz	CE	Formamidinas	1750
Rufast 50	Acrinathrin	SC	Ester Nor-pirétrico	100
Sanmite	Pyridaben	CE	Piridazinonas	625
Vertimec	Abamectin	CE	Avermectinas	650
Savey	Hexythiazox	PM	Carboxamida	30
Partner	Fenbutatin	SC	Organo estânico	600

*SC (suspensão concentrada), CE (concentrado emulsionável), PM (pó molhável), WG (wetttable granulated).

**Concentração Média para aplicação em 100 L/ha.

Para os testes de germinação, as formulações, nas concentrações preestabelecidas, foram misturadas em água destilada estéril contendo Tween 20 (0,02%) e 1 mL da suspensão de conídios, padronizada em 1×10^6 conídios/mL. Decorridos 60 minutos, alíquotas de 0,5 mL foram espalhadas, com o auxílio da alça de Drigalsky, em placas de Petri contendo uma fina camada de meio de cultura ágar-água. No tratamento controle utilizou-se suspensão do fungo em água destilada estéril + Tween 20 (0,02%). Para cada tratamento (concentrações preestabelecidas de cada formulação) foram feitas quatro repetições (placas). Após 20 horas avaliou-se a viabilidade, dividindo-se as placas em 4 quadrantes quantificando-se os geminados e os não germinados, aproximadamente 100 conídios/quadrante, sob de microscópio óptico. Os valores obtidos foram utilizados para estabelecimento da porcentagem de germinação.

Nos testes de crescimento vegetativo e conidiogênese, o meio B.D.A. foi autoclavado a 120°C por 20 min., resfriado a $40 \pm 5^\circ\text{C}$ acrescentando-se posteriormente as formulações, nas concentrações preestabelecidas, juntamente com o antibiótico estreptomina (0,5g/L). Em placas de Petri (9 cm Ø), foram vertidos ± 20 mL da mistura. No tratamento controle utilizou-se B.D.A. + antibiótico. Para cada tratamento (fungo/concentração) foram feitas 6 repetições (placas), nas quais inocularam-se os conídios em três pontos equidistantes. Após 8 dias, o diâmetro das colônias foi determinado com auxílio de paquímetro, fazendo-se 3 medidas por colônia,

utilizando-se estes valores para o cálculo da área de cada colônia.

Posteriormente, retirou-se, com auxílio de um vazador, um disco de 15 mm Ø, do centro de cada colônia, num total de 10 colônias/tratamento, para avaliação da produção de conídios. Os discos foram suspensos, separadamente, em 10 mL de água estéril + Tween20 (0,02%) em tubos de vidro de fundo chato (8,40 cm altura por 2,30 cm Ø), agitados até o completo desprendimento dos conídios, com subseqüentes diluições e posterior quantificação em câmara de Neubauer.

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o PROC ANOVA e o programa estatístico SAS (Statistical Analytical Systems) (SAS Institute, 1998). Todas as placas, dos dois experimentos, foram mantidas em B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h.

Resultados e Discussão

Germinação

Para *B. bassiana*, as formulações Rufast e Vertimec (0,5x e 1x) Savey e Parsec (0,5x), causaram reduções pouco expressivas na germinação, não diferindo estatisticamente em relação à testemunha. Já os tratamentos com as formulações Kendo, Sanmite, Citrex (0,5x e 1x) e Savey, Parsec (1x) causaram reduções entre 17 e 40%. A formulação Partner, nas duas concentrações, afetou drasticamente a germinação de *B. bassiana*, com redução de até 85% (Tabela 2).

Para *M. anisopliae*, apenas o tratamento com Vertimec (0,5x) não diferiu estatisticamente da testemunha. Por outro lado, as formulações Partner (0,5x e 1x) causaram reduções na germinação >85%, diferindo significativamente da testemunha. As demais formulações testadas também diferiram da testemunha com reduções que variaram de 15 e 45% (Tabela 3).

Tabela 2 – Percentagem de germinação de conídios (média±DP), crescimento vegetativo (média±DP) e conidiogênese (média±DP) de *Beauveria bassiana* (isolado 447) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase 12h.

Tratamentos	Doses	Germinação (%)		Crescimento vegetativo (mm)		Conidiogênese (conídios/mL ⁴)	
		Médias±DP ¹	% Redução	Médias±DP ²	% Redução	Médias±DP ³	% Redução
Testemunha	0	91.59±0.00A	0.00	34.44±0.00A	0.00	96.37±0.00C	0.00
Citrex SC	0.5x	59.13±5.98E	35.44	na		na	
Citrex SC	1x	68.71±10.37DEC	24.98	na		na	
Kendo SC	0.5x	75.97±9.78BDC	17.05	na		na	
Kendo SC	1x	67.04±6.29DEC	26.80	na		na	
Parsec CE	0.5x	80.30±6.31BAC	12.33	13.05±0.53C	62.11	9.82±5.86F	89.81
Parsec CE	1x	63.77±6.63DE	30.37	15.22±0.30C	55.81	28.10±11.39EF	70.84
Partner SC	0.5x	13.73±3.12F	85.01	na		na	
Partner SC	1x	14.40±5.57F	84.28	na		na	
Rufast 50 SC	0.5x	79.19±5.85BAC	13.54	30.99±5.76AB	10.02	124.62±17.80B	+ 29.31
Rufast 50 SC	1x	76.90±3.28BDAC	16.04	34.16±1.32A	0.81	155.62±21.36A	+ 61.48
Sanmite CE	0.5x	66.12±5.81DEC	27.81	10.77±5.58C	68.73	13.21±14.97F	86.29
Sanmite CE	1x	55.86±5.62E	39.01	15.05±2.81C	56.30	32.73±30.19EF	66.04
Savey PM	0.5x	85.03±2.06BA	7.16	34.20±0.83A	0.70	60.42±31.67D	37.30
Savey PM	1x	74.63±5.87BDC	18.52	33.11±1.36A	3.86	105.14±71.77BC	+ 9.10
Vertimec CE	0.5x	80.53±3.70BAC	12.08	26.68±0.32B	22.53	42.66±3.93DE	55.73
Vertimec CE	1x	84.24±3.68BA	8.02	29.46±0.64AB	14.46	88.01±11.29C	8.67

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$),

¹ n=4; ² n=10; ³ n=8; ⁴ x 10⁵ conídios/mL; na – não avaliado; + superior ao tratamento controle

Tabela 3 – Percentagem de germinação de conídios (média±DP), crescimento vegetativo (média±DP) e conidiogênese (média±DP) de *Metarhizium anisopliae* (isolado E9) a 25 ± 1°C e fotofase 12h.

Tratamento	Doses	Germinação (%)		Crescimento vegetativo (mm)		Conidiogênese (conídios/mL ⁴)	
		Médias±DP ¹	% Redução	Médias±DP ²	% Redução	Médias±DP ³	% Redução
Testemunha	0	90.99±A	0.00	26.59±0.00AB	0.00	130.00±0.00A	0.00
Citrex SC	0.5x	62.15±7.99EFD	31.70	na		na	
Citrex SC	1x	50.65±4.95F	44.33	na		na	
Kendo SC	0.5x	69.43±6.20CD	23.69	na		na	
Kendo SC	1x	54.82±4.73EF	39.75	na		na	
Parsec CE	0.5x	70.75±5.95CD	22.24	10.05±1.09C	62.20	7.96±2.79B	93.88
Parsec CE	1x	65.21±5.43ECD	28.33	8.16±2.06C	69.31	15.97±1.88B	87.72
Partner SC	0.5x	12.43±3.61G	86.34	na		na	
Partner SC	1x	6.39±1.70G	92.98	na		na	
Rufast 50 SC	0.5x	73.69±2.21BCD	19.01	29.77±0.25A	+11.96	113.25±8.50A	12.88
Rufast 50 SC	1x	67.22±4.74ECD	26.12	28.14±0.95A	+ 5.83	152.62±7.50A	+17.40
Sanmite CE	0.5x	70.76±4.14CD	22.23	9.24±1.04C	65.25	5.02±1.92B	96.14
Sanmite CE	1x	68.32±4.74CD	24.91	7.16±4.17C	73.07	6.63±1.65B	94.90
Savey PM	0.5x	76.39±2.78BC	16.05	29.33±0.45 ^A	+10.30	121.25±5.17A	6.73
Savey PM	1x	74.59±8.16BCD	18.02	29.27±0.99 ^A	+10.08	138.37±4.20A	+ 6.44
Vertimec CE	0.5x	83.85±4.57BA	7.85	21.85±3.20B	17.83	116.25±8.50A	10.58
Vertimec CE	1x	67.66±3.61CD	25.64	22.16±3.88B	16.66	143.25±9.80A	+10.19

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05),

¹ n=4; ² n=10; ³ n=8; ⁴ x10⁵ conídios/mL; na – não avaliado; + superior ao tratamento controle

Para *P. fumosoroseus*, as formulações Citrex, Vertimec e Sanmite (0,5x e 1x) causaram reduções menores que 19%, não diferindo estatisticamente da testemunha. Rufast, Parsec e Kendo, nas duas concentrações, reduziram a germinação entre 20 e 60%, em relação à testemunha, diferindo estatisticamente desta. Já as formulações partner (0,5x e 1x) afetaram drasticamente a germinação, com redução >70% (Tabela 4).

Ghimi e Kimati (2000), relatam que para fungos fitopatogênicos, as formulações do grupo dos organofosforados agem inibindo a enzima que converte fosfatidiletanolamina para fosfatidilcolina, inibindo também a síntese de quitina e interferindo na produção da parede celular. Provavelmente, este seja o mesmo mecanismo que provocou um efeito drástico na germinação dos conídios para os três fungos, quando em contato com a formulação Partner (organoestânico).

Já a formulação Vertimec não apresentou atividade antifúngica significativa, tal como discutido por Halley et al. (1993) que avaliaram o efeito das avermetinas.

Crescimento vegetativo e conidiogênese

Nesta etapa, somente foram testadas as formulações que causaram reduções na germinação inferiores a 40%, em relação aos três fungos entomopatogênicos.

Assim, para o crescimento vegetativo de *B. bassiana*, Savey, Rufast (0,5x e 1x) e Vertimec (0,5x) causaram reduções menores do que 15%, não diferindo da testemunha. Vertimec (1x) reduziu em 22,5% o crescimento vegetativo e as formulações Parsec e Sanmite (0,5x e 1x), diferiram significativamente da testemunha, com reduções do crescimento vegetativo maiores que 55% (Tabela 2).

O crescimento vegetativo de *M. anisopliae* nos tratamentos contendo as formulações Vertimec, Savey e Rufast (0,5x e 1x), não diferiram estatisticamente da testemunha. Todavia, novamente as formulações Parsec e Sanmite (0,5x e 1x), diferiram significativamente da testemunha, com percentagem de redução do crescimento vegetativa superiores a 62% (Tabela 3).

Para *P. fumosoroseus* as formulações Rufast (0,5x e 1x) e Savey (1x) não provocaram níveis de inibição estatisticamente diferentes da testemunha. Já Savey (0,5x) e Vertimec (0,5x e 1x) promoveram inibições

estatisticamente diferentes da testemunha. As formulações Parsec e Sanmite (0,5x e 1x), também causaram reduções do crescimento vegetativo superiores a 42%, em relação à testemunha (Tabela 4).

Tabela 4 – Percentagem de germinação de conídios (média±DP), crescimento vegetativo (média±DP) e conidiogênese (média±DP) de *Paecilomyces fumosoroseus* (isolado CB120) a 25 ± 1°C e fotofase 12h.

Tratamentos	Doses	Germinação (%)		Crescimento vegetativo (mm)		Conidiogênese (conídios/mL ⁴)	
		Médias±DP ¹	% Redução	Médias±DP ²	% Redução	Médias±DP ³	% Redução
Testemunha	0	86.96±0.00A	0.00	31.99±0.00A	0.00	137.49±0.00BA	0.00
Citrex SC	0.5x	73.20±6.13ABC	15.82	na		na	
Citrex SC	1x	70.88±11.58ABCD	18.49	na		na	
Kendo SC	0.5x	53.98±10.1EF	37.93	na		na	
Kendo SC	1x	34.90±3.71GH	59.87	na		na	
Parsec CE	0.5x	55.88±6.28DEF	35.74	17±00.63D	46.86	17.70±14.53D	87.13
Parsec CE	1x	49.35±6.43FG	43.25	18.33±0.51D	42.70	40.42±33.00DC	70.60
Partner SC	0.5x	25.24±9.8HI	70.98	na		na	
Partner SC	1x	16.52±1.18 I	81.00	na		na	
Rufast 50 SC	0.5x	60.72±4.86CDEF	30.17	30.66±1.17AB	4.16	125.12±64.78BA	9.00
Rufast 50 SC	1x	53.82±4.2EF	38.11	31.61±1.59A	1.19	150.75±16.00A	+ 9.64
Sanmite CE	0.5x	77.70±6.79AB	10.65	9.94±2.10F	68.93	8.58±44.00D	93.76
Sanmite CE	1x	79.46±5.32AB	8.62	14.29±1.00E	55.33	26.45±7.33D	80.76
Savey PM	0.5x	50.82±8.48FG	41.56	30.38±0.99AB	5.03	87.47±47.00BC	36.38
Savey PM	1x	70.18±3.95BCDE	19.30	28.94±0.82B	9.53	135.88±61.72BA	1.17
Vertimec CE	0.5x	86.12±2.83BA	0.97	26.27±1.20C	17.88	94.25±61.94BC	31.45
Vertimec CE	1x	83.81±2.85BA	3.62	28.96±1.18B	9.47	178.37±10.96A	+29.73

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05),

¹ n=4; ² n=10; ³ n=8; ⁴ x10⁵ conídios/mL; na – não avaliado; + superior ao tratamento controle

Em relação à influência das formulações sobre a conidiogênese, verifica-se que *B. bassiana*, teve um incremento superior a 60% na produção de conídios, nos tratamentos contendo Rufast (0,5x e 1x), em relação à testemunha. Já as formulações Vertimec e Savey (0,5x) não promoveram diferenças significativas na conidiogênese em relação à testemunha. Nos demais tratamentos a produção de conídios foi significativamente afetada, com reduções de até 90% (Tabela 2).

Para *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus*, verificou-se uma redução significativa na esporulação nos tratamentos contendo as formulações Parsec e Sanmite (0,5x e 1x).

A variação na inibição do crescimento vegetativo de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus*, deve-se provavelmente ao mecanismo de mobilização dos nutrientes que cada fungo apresenta. Ghimi e Kimati (2000) ressaltam que para fungos fitopatogênicos, os produtos antifúngicos agem inibindo o acúmulo e incorporação de carboidratos na parede das hifas ou ainda inibindo a biossíntese de melanina.

Com a metabolização, pelos fungos, do meio contendo a formulação, pode ocorrer a liberação de resíduos tóxicos que se acumulam contra gradiente de concentração, bloqueiam as vias de compostos importantes para o funcionamento e cresci-

mento do fungo. O fato de ocorrer germinação e crescimento vegetativo, se deve provavelmente ao lento processo de acúmulo do produto em níveis letais e consequentemente a inibição de vários processos vitais.

Em relação ao aumento na produção de conídios dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus*, na presença de algumas formulações, Moino Jr. e Alves (1998) sugerem duas possíveis explicações para estes resultados:

- a) os fungos, num mecanismo fisiológico de resistência, metabolizam compostos tóxicos que podem ser utilizados como nutrientes; e
- b) em meio tóxico realizam um elevado esforço reprodutivo, aumentando a produção de conídios.

Porém, a inexistência de bibliografia com estudos de compatibilidade destas formulações com fungos entomopatogênicos, bem como a falta de uma metodologia de padronização para este tipo de teste, dificulta o aprofundamento da discussão.

Entretanto, com a metodologia utilizada, foi possível evidenciar as diferenças de compatibilidade das formulações sobre todas as fases de desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos. Porém, estudos de campo precisam ser conduzidos para avaliar a interação e o efeito das formulações com os fungos entomopatogênicos, bem como os benefícios do uso associado destes, sobre as pragas.

Conclusões

Os produtos Rufast 50SC (acrinathrin), Vertimec 18CE (abamectin) e Savey PM (hexythiozox) são compatíveis/seletivos aos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. fumosoroseus* e podem ser recomendados para uso em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) onde os patógenos sejam importantes controladores de uma população de insetos e de ácaros.

Agradecimentos

A professora Dr. Inês Fonseca pelo auxílio na análise estatística e a CAPES pela bolsa de estudos.

Referências

- ANDERSON, T. E.; ROBERTS, D. W. Compatibility of *Beauveria bassiana* Isolate with Insecticide Formulations Used in Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Crysomelidae) control. *Journal of Economic Entomology*, Annapolis Road, v.76, p.1437-1441, 1983.
- BENZ, G. Environment. In. FUXA, R.; TANADA, Y. (Eds.). *Epizootiology of insect diseases*. New York: Wiley, 1987. p.177-214.
- DUARTE, A.; MENENDEZ, J. M.; TRIGUEIRO, N. Estudio preliminar sobre la compatibilidad de *Metarhizium anisopliae* com algunos plaguicidas quimicos. *Rev. Baracoa*, La Habana, v.22, p.31-39, 1992.
- GHINI, R.; KIMATI, H. *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariuna: EMBRAPA/MA, 2000.
- HALLEY, B. A. et al. (Eds.). Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. Environmental impact of avermectin usage in livestock. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.48, p.109-125, 1993.
- MOINO JUNIOR, A.; ALVES, S. B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no Comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v.27, p.611-619, 1998.
- NEVES, P. M. O. J. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Neotropical Entomology*, Londrina, v.30, p.263-268, 2001.
- TODOROVA, S. I. Compatibility of *Beauveria bassiana* with selected fungicides and herbicides. *Environmental Entomology*, Lanham, v.27, p.427-433, 1998.