

Compatibilidade de isolados de *Beauveria bassiana* a inseticidas, herbicidas e maturadores em condições de laboratório

Compatibility of Beauveria bassiana in the laboratory for insecticides, herbicides and ripeners

André Felipe Fregonesi¹, Dinalva Alves Mochi^{1*}, Antonio Carlos Monteiro¹

RESUMO: Foram avaliadas as diferenças de toxicidade de inseticidas, herbicidas e maturadores para os isolados AM 09, JAB 07, IBCB 07 e JAB 46 de *Beauveria bassiana*, por intermédio de experimentos realizados em meio de cultura. Os isolados foram inoculados em meio de batata, dextrose e ágar (BDA) contendo os agroquímicos. Foram avaliados a germinação, o crescimento e a esporulação e, com base nesses parâmetros, fez-se a classificação toxicológica dos agroquímicos para cada isolado. O inseticida Actara 250 WG[®] foi considerado compatível com AM 09, moderadamente tóxico para JAB 07 e tóxico para IBCB 07 e JAB 46. O Regente WG 800[®] foi considerado compatível com todos os isolados, já o Temik 150[®] se mostrou tóxico. Quanto aos herbicidas, o produto Glifosato Nortox[®] foi considerado compatível com AM 09, moderadamente tóxico para IBCB 07 e JAB 46 e tóxico para JAB 07. Plateau[®] foi classificado como moderadamente tóxico para AM 09 e JAB 07 e tóxico para IBCB 07 e JAB 46. Contain[®], DMA[®], Karmex[®], Sencor 480[®] e Velpar-K[®] foram classificados como tóxicos para todos os isolados. Tratando-se dos maturadores, tanto Curavial K[®] quanto Moddus[®] se mostraram tóxicos para todos os isolados. Os resultados revelaram que há variação entre os isolados de *B. bassiana* quanto à toxicidade dos agroquímicos. AM 09 foi o mais tolerante à ação tóxica dos produtos. A germinação sofreu menor efeito do que o crescimento e a esporulação, e JAB 07 foi o isolado menos afetado pelos agroquímicos com relação a esse parâmetro.

PALAVRAS-CHAVE: agroquímicos; controle biológico; entomopatogênico; variabilidade genética; toxicidade.

ABSTRACT: The differences in the toxicity of pesticides, herbicides and ripeners for isolates AM 09, JAB 07, IBCB 07 e JAB 46 of *Beauveria bassiana* were evaluated through experiments conducted in culture medium. The isolates were cultured on potato dextrose agar (PDA) containing agrochemicals. Germination, growth and sporulation were evaluated and, based on these parameters, the toxicological classification of pesticides for each isolate was made. The insecticide Actara[®] was considered compatible with AM 09, moderately toxic for JAB 07 and toxic for IBCB 07 and JAB 46. Regente WG 800[®] was considered compatible with all isolates, while Temik 150[®] showed to be toxic. In relation to the herbicides, the product Glifosato Nortox[®] was considered compatible with AM 09, moderately toxic for IBCB 07 and JAB 46 and toxic for JAB 07. Plateau[®] was classified as moderately toxic for AM 09 and JAB 07, and toxic for IBCB 07 and JAB 46. Contain[®], DMA[®], Karmex[®], Sencor 480[®] e Velpar-K[®] were classified as toxic for all isolates. In the case of ripeners, both Curavial K[®] and Moddus[®] showed to be toxic for all the isolates. The results revealed that there is variation between isolates of *B. bassiana* regarding the toxicity profile of agrochemicals. AM 09 was the most tolerant to the toxic action of the products. Germination suffered minor effect than growth and sporulation, and JAB 07 was the isolate less affected by agrochemicals with regard to this parameter.

KEYWORDS: pesticides; biological control; entomopathogen; genetic variability; toxicity.

¹Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp) – Jaboticabal (SP), Brasil.

*Autor correspondente: dmochi@hotmail.com

Recebido em: 11/03/2014. Aceito em: 09/12/2015

INTRODUÇÃO

Dentre os micro-organismos inimigos naturais de insetos, o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. destaca-se por possuir maior potencial de uso em culturas agrícolas (TAMAI *et al.*, 2002). No Brasil, *B. bassiana* pode ser utilizada para o controle de diversos insetos-praga, como o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), as cochonilhas (*Dactylopius coccus*), os cupins (*Coptotermes* sp.), o moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), a mosca branca (*Bemisia tabaci* – FARIA; MAGALHÃES, 2001), a broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis* – SVEDESE *et al.*, 2013), etc.

O fungo *B. bassiana* está presente naturalmente no ar e principalmente no solo e, além de possuir forte ação sobre pragas, seu sistema de produção e aplicação em grande escala é bastante simples (ALVES; PEREIRA, *apud* TAMAI *et al.*, 2002), porém sua eficiência pode ser afetada pelo uso de agroquímicos (ALVES *et al.*, 1998).

Dessa maneira, torna-se necessária uma busca por produtos químicos mais seletivos para se utilizar em plantações, com o intuito de não diminuir ou eliminarem as funções naturais dos entomopatógenos ou até promoverem uma associação benéfica quando utilizados de maneira concomitante, contribuindo, assim, para um controle de determinada praga mais efetivo (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

Os fungos entomopatogênicos apresentam grande variabilidade genética, assim sendo, é possível que alguns isolados de uma mesma espécie sejam sensíveis a determinados agroquímicos, enquanto outros sejam compatíveis com eles (TANZINI *et al.*, 2002). No entanto, esse aspecto foi pouco explorado, e novos estudos precisam ser conduzidos com o intuito de melhor investigá-lo.

O presente trabalho teve por objetivo verificar a existência de possíveis diferenças de toxicidade de alguns agroquímicos para diversos isolados do fungo *Beauveria bassiana* em experimentos realizados em meio de cultura.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados os seguintes isolados de *B. bassiana* (*sensu lato*): AM 09, obtido de *Deois incompleta* (cigarrinha-das-pastagens) em Manaus (AM); JAB 07, obtido de *Musca domestica* na cidade de Jaboticabal (SP); IBCB 07, obtido de *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro) no município de Piracicaba (SP); e JAB 46, obtido do solo no município de Jaboticabal (SP). Os isolados foram mantidos em culturas estoque na coleção do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Produção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (Unesp). Para a utilização nos ensaios, foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura composto por batata, dextrose e ágar (BDA), mantidos em estufa a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, em ausência de luz, durante 20 dias.

Os herbicidas, inseticidas e maturadores, com diferentes ingredientes ativos, estão descritos na Tabela 1 e foram usados nos bioensaios nas doses máximas recomendadas pelos fabricantes.

Para a realização dos ensaios, usou-se o meio BDA contendo os agroquímicos. Calculou-se a quantidade de cada produto agroquímico necessária para obter, por mililitro de meio de cultura, a mesma concentração de ingrediente ativo usada na calda aplicada em campo. Os agroquímicos foram adicionados ao meio na temperatura entre 45 e 50°C para evitar possíveis alterações de suas propriedades. Placas contendo o meio BDA isento de produtos foram usadas como controle. Depois de vertido o meio nas placas de Petri, foi realizada a inoculação do fungo por repicagem em ponto central por meio de agulha de platina que foi imersa em suspensão contendo 10^7 conídios mL^{-1} , obtida de colônias cultivadas nas condições já especificadas. Em seguida, as placas de Petri foram armazenadas em estufa a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, em ausência de luz, durante 15 dias.

Tabela 1. Descrição dos agroquímicos usados em diferentes culturas e avaliados quanto a compatibilidade com isolados de *Beauveria bassiana*.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Grupo químico	Dose do P.C.*	Volume de calda**	Concentração de calda
Inseticida					
Temik 150®	Aldicarbe	Metilcarbamato oxima	12000 g ha^{-1}	300 L	$40,000 \text{ mg mL}^{-1}$
Actara 250 WG®	Tiametoxam	Neonicotinoides	1000 g ha^{-1}	50 L	$20,000 \text{ mg mL}^{-1}$
Regente WG 800®	Fipronil	pirazol	500 g ha^{-1}	200 L	$2,500 \text{ mg mL}^{-1}$
Herbicida					
DMA®	Sal de Dimetilamina	Organoarsenicais	$3,5 \text{ L ha}^{-1}$	225 L	$0,016 \text{ mL mL}^{-1}$
Contain®	Imazapir	Imidazolinonas	2 L ha^{-1}	200 L	$0,010 \text{ mL mL}^{-1}$
Glifosato Nortox®	Glifosato	Derivado da glicina	6 L ha^{-1}	300 L	$0,020 \text{ mL mL}^{-1}$
Karmex®	Diurom	Uréias substituídas	4000 g ha^{-1}	525 L	$7,620 \text{ mg mL}^{-1}$
Plateau®	Imazapique	Imidazolinonas	350 g ha^{-1}	225 L	$1,556 \text{ mg mL}^{-1}$
Sencor 480®	Metribuzim	Triazinonas	4 L ha^{-1}	300 L	$0,013 \text{ mL mL}^{-1}$
Velpar-K®	Hexazinone + Diurom	Triazinas + uréias	3000 g ha^{-1}	500 L	$6,000 \text{ mg mL}^{-1}$
Maturador					
Curavial®	Sulfometurom-Metilico	Sulfonilureia	20 g ha^{-1}	100 L	$0,200 \text{ mg mL}^{-1}$
Moddus®	Etil-trinexapac	Dioxociclohexano-carboxilato de etila	$1,2 \text{ L ha}^{-1}$	175 L	$0,007 \text{ mL mL}^{-1}$

Fonte: Agrofit (2011). *Dose máxima do produto comercial recomendada pelo fabricante. **Volume médio entre os volumes máximo e mínimo recomendado pelo fabricante, com exceção de Temik 150® para o qual foi empregado volume de calda de 300 L.

O desempenho dos diversos isolados de *B. bassiana* foi avaliado por meio da germinação dos conídios, do crescimento vegetativo do fungo e da esporulação.

A germinação foi avaliada por meio de microcultivo em lâmina e exame direto ao microscópio óptico segundo metodologia descrita por FRANCISCO *et al.* (2006). Para cada tratamento (agroquímico), foram realizadas três repetições (lâminas) para cada um dos isolados. A avaliação do crescimento foi realizada a cada 3 dias, do 3º ao 15º dias após a inoculação, medindo-se, em milímetros, 2 diâmetros perpendiculares da colônia previamente marcados na parte externa do fundo da placa de Petri. Cada placa correspondeu a uma repetição e, para cada agroquímico, foram feitas quatro placas.

A esporulação foi avaliada no 15º dia de incubação, coletando-se de cada placa (repetição) uma amostra do centro, uma da porção mediana e uma da periferia da colônia, por meio de um furador de rolha metálico de 8 mm de diâmetro, previamente esterilizado. Para cada tratamento, foram feitas quatro placas. Cada amostra foi transferida individualmente para tubo de ensaio com 10 mL de uma solução 1:1 de NaCl (0,089% p v⁻¹) e Tween 80[®] (0,1% v v⁻¹). Após a remoção dos conídios por vigorosa agitação em um agitador elétrico de tubos, foi realizada a contagem ao microscópio óptico em câmara de Neubauer, utilizando diluições da suspensão quando necessário. Com base nos valores obtidos e considerando o diâmetro médio das colônias, calculou-se a quantidade de conídios produzidos pela colônia.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa ESTAT[®] (1994) (Sistemas de Análises Estatísticas), versão 2.0.

Para determinação da compatibilidade, calculou-se o Índice Biológico (IB) descrito por ROSSI-ZALAF *et al.* (2008), que permite a classificação dos produtos em classes, de acordo com o efeito observado nos parâmetros avaliados. O cálculo desse índice foi pela fórmula: $IB = [47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GER)]/100$; na qual: IB = índice biológico; CV = porcentagem de crescimento vegetativo da colônia após 15 dias, em relação à testemunha; ESP = porcentagem de esporulação após 15 dias, em relação à testemunha; e GER = porcentagem de germinação dos conídios após 15 horas, em relação à testemunha. Os valores calculados de IB foram comparados com os seguintes limites estabelecidos: 0 a 41 – tóxico (T); 42 a 66 – moderadamente tóxico (MT); > 66 – compatível (C).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O inseticida Temik 150[®] (não aparecem os resultados de aldivarbe nas tabelas) afetou todos os isolados de *B. bassiana*, inibindo completamente a germinação, o crescimento e a esporulação. Portanto, o valor do índice biológico foi zero, classificando o agroquímico como

tóxico para todos os isolados testados. Esse resultado ratifica o obtido por BOTELHO; MONTEIRO (2011), que utilizaram o mesmo produto químico, o qual provocou a completa inibição do isolado IBCB 66 de *B. bassiana*, resultando na mesma classificação toxicológica.

Actara 250 WG[®] afetou o desenvolvimento dos isolados IBCB 07 e JAB 46, porém não ocorreu mudança significativa na esporulação de AM 09 e na germinação de JAB 07. Apesar de ter reduzido o crescimento vegetativo desses dois isolados, o produto foi classificado como compatível com AM 09, moderadamente tóxico para JAB 07 e tóxico para IBCB 07 e JAB 46 (Tabela 2). Em trabalho semelhante, GASSEN *et al.* (2008) e BOTELHO; MONTEIRO (2011) classificaram Actara 250 WG[®] como compatível com o isolado IBCB 66 de *B. bassiana*. Segundo CARLILE *et al.* (2001), esse tipo de variação pode ocorrer naturalmente, pois isolados obtidos de diferentes origens provavelmente adquirem, ao longo do tempo, características genéticas específicas que as distinguem dos demais isolados da mesma espécie. De acordo com os mesmos autores, a germinação é iniciada quando as condições do meio são favoráveis para o crescimento vegetativo, porém, algumas linhagens possuem a característica de germinarem em condições desfavoráveis. Sendo assim, essa é uma possível explicação para os bons resultados obtidos na germinação dos conídios do isolado JAB 07. Com isso, os isolados AM 09 e JAB 07 podem ser utilizados em uma possível estratégia de uso associado com Actara 250 WG[®] na agricultura, sendo uma alternativa com grande potencial de uso para pragas de difícil controle (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

O produto químico Regente WG 800[®] inibiu o crescimento de todos os isolados, porém não afetou a esporulação de JAB 07 e JAB 46 (Tabela 2). Em testes de compatibilidade desse produto com *B. bassiana*, BATISTA FILHO *et al.* (1996) também verificaram efeito desse inseticida sobre o crescimento das colônias e ausência de grandes variações na esporulação. Com referência à germinação, houve inibição em três dos isolados, porém, não houve diferença significativa na germinação de JAB 07 em relação ao controle (Tabela 2). É comum aparecerem diferenças genéticas entre isolados da mesma espécie que foram obtidos de origens distintas, apresentando diferentes respostas (FERNANDES *et al.*, 2009). Com base no afirmado por CARLILE *et al.* (2001), é provável que o isolado JAB 07 adquiriu características que lhe permitam germinar em certas condições desfavoráveis do meio ao seu redor. O Regente WG 800[®] foi classificado como compatível com todos os isolados estudados, podendo ser utilizado na agricultura em associação com eles. Tal resultado está de acordo com o obtido por MOINO JR.; ALVES (1998), que verificaram alta seletividade de Regente WG 800[®] para *B. bassiana*.

O herbicida DMA[®] inibiu completamente os isolados testados. Resultados de completa inibição desse produto também foram encontrados por outros autores (ANDALÓ *et al.*, 2004; BOTELHO; MONTEIRO, 2011); com isso os índices biológicos foram zero, classificando esse produto como tóxico para todos os isolados de *B. bassiana* avaliados. ANDALÓ *et al.* (2004) e BOTELHO; MONTEIRO (2011) também classificaram esse produto como tóxico para *B. bassiana*,

sugerindo, assim, a existência de grande risco ou impacto para o fungo na utilização indiscriminada desse herbicida.

Os herbicidas Karmex[®], Sencor 480[®] e Velpar-K[®] prejudicaram a germinação, o crescimento e a esporulação, resultando, para cada um desses produtos, efeitos semelhantes em todos os isolados analisados. Os índices biológicos foram muito baixos e semelhantes, não divergindo, de maneira considerável, de um para outro. Sendo assim, esses produtos foram classificados como tóxicos, não ocorrendo variação alguma entre os quatro isolados (Tabela 3). ANDALÓ *et al.* (2004) encontraram os mesmos efeitos para *B. bassiana* utilizando Karmex[®].

Em relação ao Sencor[®], Kos; CELAR (2013) também observaram efeito nocivo desse agroquímico para *B. bassiana*. Contudo, BOTELHO; MONTEIRO (2011) encontraram pouca diferença na germinação, no crescimento e na esporulação do isolado IBCB 66 de *B. bassiana* em comparação com a testemunha. Entretanto,

em sua pesquisa, a dose máxima utilizada foi a metade da dose utilizada no presente trabalho, sendo esse o provável fator da diferença de resultado para o mesmo produto, já que, de acordo com TANZINI *et al.* (2002), a ação dos produtos químicos sobre os entomopatógenos pode variar de acordo com a dose utilizada.

O crescimento e a esporulação de todos os isolados foram significativamente afetados pelo produto Contain[®]. A germinação também sofreu diminuição por causa do produto, porém, para o isolado JAB 07, não houve diferença em relação ao controle (Tabela 4). BOTELHO; MONTEIRO (2011) encontraram padrão semelhante de inibição causada por esse produto no isolado IBCB 66 de *B. bassiana*. O fato da germinação de JAB 07 ter sido o parâmetro menos afetado foi encontrado para outros produtos no presente trabalho e, de acordo com CARLILE *et al.* (2001), essa variação pode ocorrer naturalmente entre isolados de mesma espécie. Apesar de resultar um produto tóxico para

Tabela 2. Desempenho de isolados de *Beauveria bassiana* cultivados em meio contendo inseticidas nas doses recomendadas pelos fabricantes, valores do índice biológico e classificação dos produtos quanto a toxicidade ao fungo.

Inseticida Isolados	Germinação (%)	Crescimento (mm)	Esporulação (x 10 ⁹ con. mL ⁻¹)	Índice biológico	Classificação toxicológica
Actara[®]					
AM 09	18,96 b	44,50 b	1,77 a	87	C
Controle	93,48 a	58,20 a	2,05 a	-	-
Teste F	1245,16**	605,00**	0,54 ns	-	-
C.V	3,4	1,54	14,77	-	-
JAB 07	98,44 a	52,25 b	1,82 b	62	MT
Controle	98,74 a	70,25 a	4,57 a	-	-
Teste F	4,10 ns	1110,86**	70,38**	-	-
C.V	0,53	1,25	8,39	-	-
IBCB 07	30,89 b	39,87 b	0,49 b	36	T
Controle	96,66 a	70,00 a	3,85 a	-	-
Teste F	11862,97**	148,80**	339,92**	-	-
C.V	0,91	6,36	9,15	-	-
JAB 46	21,48 b	43,50 b	0,64 b	37	T
Controle	93,70 a	70,00 a	3,85 a	-	-
Teste F	25905,59**	2121,80**	151,58**	-	-
C.V	0,71	1,4	11,97	-	-
Regent[®]					
AM 09	87,48 b	42,25 b	1,40 b	75	C
Controle	93,48 a	53,75 a	2,10 a	-	-
Teste F	112,28**	1058,00**	11,28*	-	-
C.V	0,95	1,04	10,58	-	-
JAB 07	98,51 a	50,75 b	4,97 a	83	C
Controle	98,89 a	67,25 a	5,35 a	-	-
Teste F	2,49 ns	284,09**	0,29 ns	-	-
C.V	0,87	2,35	12,82	-	-
IBCB 07	87,85 b	46,25 b	2,07 b	70	C
Controle	96,22 a	65,75 a	3,25 a	-	-
Teste F	36,50**	829,64**	8,98*	-	-
C.V	2,55	1,71	12,14	-	-
JAB 46	85,55 b	44,25 b	2,10 a	77	C
Controle	93,03 a	66,50 a	2,50 a	-	-
Teste F	184,96**	609,31**	1,61 ns	-	-
C.V	0,89	2,3	11,24	-	-

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$); C.V.: coeficiente de variação; **significativo a 1% de probabilidade; *significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo.

Tabela 3. Desempenho de isolados de *Beauveria bassiana* cultivados em meio contendo herbicidas nas doses recomendadas pelos fabricantes, valores do índice biológico e classificação dos produtos quanto a toxicidade ao fungo.

Herbicida Isolados	Germinação (%)	Crescimento (mm)	Esporulação (x 10 ⁹ con.mL ⁻¹)	Índice biológico	Classificação toxicológica
Karmex®					
AM 09	0,00 b	10,2500 b	0,041 b	10	T
Controle	93,11 a	55,50 a	2,30 a	-	-
Teste F	66115,77**	14040,43**	340,01**	-	-
C.V	0,95	1,64	14,32	-	-
JAB 07	0,00 b	8,75 b	0,01 b	7	T
Controle	98,74 a	63,25 a	1,57 a	-	-
Teste F	49471,53**	4752,40**	88,26**	-	-
C.V	1,1	3,11	29,13	-	-
IBCB 07	0,00 b	10,00 b	0,06 b	8	T
Controle	96,89 a	69,00 a	1,85 a	-	-
Teste F	144897,48**	10443,00**	1037,61**	-	-
C.V	0,64	2,07	7,81	-	-
JAB 46	0,00 b	10,25 b	0,01 b	8	T
Controle	94,66 a	65,75 a	3,00 a	-	-
Teste F	54686,41**	3890,84**	248,22**	-	-
C.V	1,05	3,31	17,54	-	-
Sencor®					
AM 09	26,29 b	0,00 b	0,00 b	3	T
Controle	92,89 a	54,25 a	5,37 a	-	-
Teste F	3638,56**	2394,36**	26,76**	-	-
C.V	1,68	5,78	54,68	-	-
JAB 07	85,99 b	0,00 b	0,00 b	9	T
Controle	98,36 a	72,00 a	6,12 a	-	-
Teste F	2044,56**	31104,00**	585,67**	-	-
C.V	0,53	1,6	11,69	-	-
IBCB 07	70,59 b	0,00 b	0,00 b	7	T
Controle	97,55 a	69,00 a	5,45 a	-	-
Teste F	78,06**	9522,00**	2832,85**	-	-
C.V	4,77	2,9	5,31	-	-
JAB 46	48,96 b	0,00 b	0,00 b	5	T
Controle	94,29 a	69,00 a	7,42 a	-	-
Teste F	454,47**	9522,00**	244,12**	-	-
C.V	3,03	2,9	18,1	-	-
Velpar-K®					
AM 09	0,81 b	5,00 b	0,01 b	5	T
Controle	92,22 a	49,75 a	2,00 a	-	-
Teste F	7741,47**	835,85**	146,41**	-	-
C.V	2,42	8	22,95	-	-
JAB 07	10,37 b	4,37 b	0,00 b	4	T
Controle	98,00 a	71,00 a	2,92 a	-	-
Teste F	1884,50**	14445,20**	182,31**	-	-
C.V	3,54	2,08	20,87	-	-
IBCB 07	0,81 b	4,75 b	0,01 b	3	T
Controle	96,59 a	67,87 a	3,25 a	-	-
Teste F	9857,93**	4811,79**	88,87**	-	-
C.V	2,17	3,54	29,93	-	-
JAB 46	3,11 b	5,75 b	0,00 b	4	T
Controle	98,29 a	70,00 a	3,65 a	-	-
Teste F	3051,67**	15242,08**	74,24**	-	-
C.V	3,47	1,94	32,8	-	-

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$); C.V.: coeficiente de variação; **significativo a 1% de probabilidade.

Tabela 4. Desempenho de isolados de *Beauveria bassiana* cultivados em meio contendo herbicidas nas doses recomendadas pelos fabricantes, valores do índice biológico e classificação dos produtos quanto a toxicidade ao fungo.

Herbicida Isolados	Germinação (%)	Crescimento (mm)	Esporulação (x 10 ⁹ con.mL ⁻¹)	Índice biológico	Classificação toxicológica
Contain®					
AM 09	76,67 b	23,75 b	0,41 b	34	T
Controle	93,78 a	61,00 a	2,30 a	-	-
Teste F	397,81**	1305,94**	60,57**	-	-
C.V	1,3	3,44	20,55	-	-
JAB 07	98,74 a	17,00 b	0,19 b	33	T
Controle	99,260 a	68,75 a	2,05 a	-	-
Teste F	5,41 ns	6765,63**	298,69**	-	-
C.V	0,99	2,08	11,96	-	-
IBCB 07	84,00 b	17,75 b	0,65 b	33	T
Controle	96,96 a	69,87 a	2,30 a	-	-
Teste F	361,77**	11099,30**	25,55**	-	-
C.V	1,19	1,6	23,31	-	-
JAB 46	82,96 b	23,37 b	0,39 b	33	T
Controle	94,96 a	70,87 a	2,45 a	-	-
Teste F	106,53**	2515,75**	38,09**	-	-
C.V	1,89	2,67	26,91	-	-
Glifosato®					
AM 09	1,56 b	42,87 b	2,57 b	130	C
Controle	92,00 a	51,37 a	5,40 a	-	-
Teste F	80627,48**	11,13*	9,07*	-	-
C.V	0,71	7,64	19,13	-	-
JAB 07	82,44 b	33,87 b	0,83 b	37	T
Controle	98,44 a	73,37 a	5,42 a	-	-
Teste F	926,03**	536,86**	22,83**	-	-
C.V	0,96	4,5	33,04	-	-
IBCB 07	1,18 b	29,25 b	1,33 a	61	MT
Controle	94,96 a	66,12 a	1,45 a	-	-
Teste F	4659,49**	393,78**	0,07 ns	-	-
C.V	3,05	5,51	32,18	-	-
JAB 46	1,11 b	42,25 b	2,70 b	57	MT
Controle	92,00 a	71,00 a	4,82 a	-	-
Teste F	63316,74**	777,94**	21,07**	-	-
C.V	0,83	2,57	9,03	-	-
Plateau®					
AM 09	88,96 b	37,50 b	0,89 b	52	MT
Controle	92,66 a	58,50 a	3,15 a	-	-
Teste F	91,23**	286,05**	84,28**	-	-
C.V	0,65	3,66	11,74	-	-
JAB 07	98,81 a	44,75 b	1,22 b	48	MT
Controle	99,26 a	71,75 a	5,72 a	-	-
Teste F	1,09 ns	972,00**	148,59**	-	-
C.V	2,23	2,1	9,49	-	-
IBCB 07	98,44 a	31,25 b	0,38 b	39	T
Controle	98,59 a	66,50 a	2,32 a	-	-
Teste F	0,54 ns	1923,97**	186,08**	-	-
C.V	0,71	2,33	11,88	-	-
JAB 46	91,63 b	28,75 b	0,23 b	32	T
Controle	94,22 a	69,25 a	3,92 a	-	-
Teste F	61,77**	5623,71**	241,13**	-	-
C.V	0,61	1,56	13,97	-	-

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$); C.V.: coeficiente de variação; **significativo a 1% de probabilidade; *significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo.

todos os isolados, na dose avaliada, os índices biológicos dos isolados, obtidos para o herbicida Contain®, estão próximos do estabelecido para classificar o produto como moderadamente tóxico (Tabela 4). Com isso, é possível que esse produto possa ser aplicado na agricultura sem alterar o desenvolvimento natural de *B. bassiana*, já que a toxicidade de um produto *in vitro* nem sempre indica a sua toxicidade em campo, mas sim a possibilidade de ocorrência de efeito tóxico (MOINO JR.; ALVES, 1998), pois, afinal, as condições de laboratório não refletem com rigor as condições naturais de campo (MOCHI *et al.*, 2005).

O glifosato Nortox® inibiu significativamente a germinação de todos os isolados, mas, para JAB 07, o efeito inibitório foi acentuadamente menor, já que 82% dos conídios germinaram. Quanto ao crescimento, o menor efeito ocorreu sobre o isolado AM 09, mas a ação inibitória foi observada para todos os isolados, que tiveram crescimento significativamente menor que no controle. A esporulação de IBCB 07 não foi significativamente afetada, mas esse fato não foi observado para os demais isolados. Os dados sugerem que o isolado IBCB 07 realizou um esforço reprodutivo na tentativa de deixar descendentes, não afetando potencialmente a produção de conídios (MOINO JR.; ALVES, 1998). O herbicida mostrou-se compatível com AM 09, moderadamente tóxico para IBCB 07 e JAB 46 e tóxico para JAB 07, resultando grande variação entre os isolados (Tabela 4). De acordo com BATISTA FILHO *et al.* (2001), é normal que essa diferença de efeito ocorra, pois a toxicidade de produtos químicos pode variar para os diferentes isolados devido as suas diferenças de sensibilidade.

O herbicida Plateau® não inibiu a germinação de JAB 07 e IBCB 07 e teve pequeno efeito nos isolados AM 09 e JAB 46 (Tabela 4). Esse resultado é de extrema importância para

o Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois a germinação dos conídios é o evento responsável pelo início do processo de penetração do entomopatógeno no hospedeiro (ALVES; LECUONA, 1998). O isolado JAB 07 conseguiu novamente germinar em condições adversas do meio, revelando considerável tolerância para essa característica, ou seja, um meio adverso.

Entretanto, o produto afetou consideravelmente o crescimento e a esporulação de todos os isolados (Tabela 4). Como consequência, Plateau® foi considerado um produto moderadamente tóxico para AM 09 e JAB 07 e tóxico para IBCB 07 e JAB 46. Portanto, ocorreu considerável variação entre os isolados, sendo que os possíveis danos causados por esse herbicida em *B. bassiana*, quando aplicado na agricultura na dose avaliada, provavelmente vão depender da sensibilidade do isolado do entomopatógeno que estiver sendo utilizado (GHINI; KIMATI, 2000).

O desenvolvimento de *B. bassiana* foi severamente afetado pelo maturador Moddus®, que provocou a total inibição de todos os isolados, resultando índice biológico zero. Já o produto Curavial® também inibiu de maneira substancial o crescimento e, principalmente, a esporulação, porém, o efeito tóxico sobre a germinação de AM 09, JAB 07 e JAB 46 foi menos severo (Tabela 5). Esse é um importante aspecto a ser considerado, uma vez que a germinação do conídio inicia o processo de penetração do fungo no hospedeiro (ALVES; LECUONA, 1998). Os valores do índice biológico para os isolados variaram entre 23 e 28.

As avaliações de toxicidade revelaram que tanto Moddus® quanto Curavial® foram classificados como tóxicos para todos os isolados. O único trabalho encontrado na literatura envolvendo a ação tóxica de maturadores para fungos entomopatogênicos foi o de BOTELHO; MONTEIRO (2011), que obtiveram resultado semelhante para o isolado IBCB 66 de *B. bassiana*.

Tabela 5. Desempenho de isolados de *Beauveria bassiana* cultivados em meio contendo o maturador Curavial® na dose recomendada pelo fabricante, valores do índice biológico e classificação do produto quanto a toxicidade ao fungo.

Isolados	Germinação (%)	Crescimento (mm)	Esporulação (x 10 ⁹ con.mL. ⁻¹)	Índice biológico	Classificação toxicológica
AM 09	83,77 b	23,00 b	0,00 b	28	T
Controle	93,70 a	57,75 a	7,22 a	-	-
Teste F	10,66*	772,84**	89,78**	-	-
C.V	4,74	4,38	29,81	-	-
JAB 07	71,11 b	22,75b	0,00 b	23	T
Controle	98,89 a	68,25 a	4,15 a	-	-
Teste F	616,59**	194,85**	189,97**	-	-
C.V	1,85	10,13	20,46	-	-
IBCB 07	67,70 b	25,00 b	0,01 b	25	T
Controle	94,74 a	67,37 a	3,55 a	-	-
Teste F	688,04**	1574,26**	321,31**	-	-
C.V	1,51	3,27	15,62	-	-
JAB 46	71,33 b	23,00 b	0,01 b	24	T
Controle	93,48 a	66,00 a	3,15 a	-	-
Teste F	1789,36**	3698,00**	135,04**	-	-
C.V	0,77	2,25	24,15	-	-

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≥0,05); C.V.: coeficiente de variação; **significativo a 1% de probabilidade.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente trabalho, pode-se concluir que há variação entre os isolados de *B. bassiana* quanto à toxicidade dos agroquímicos avaliados. O isolado AM 09 se

mostrou o mais tolerante, pois apresentou os menores índices biológicos quando submetido à ação dos produtos. A germinação sofreu menor efeito tóxico do que o crescimento e a esporulação, sendo JAB 07 o isolado menos afetado em relação a esse parâmetro.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B.; LECUONA, R.E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. (Ed.) Piracicaba: FEALQ, 1998. p.97-170.
- ALVES, S.B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. (Ed.) Piracicaba: FEALQ, 1998. p.217-238.
- ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. 2a.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.845-869.
- ANDALÓ, V.; MOINO JR, 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*, Londrina, v.33, n.4, p.463-467, 2004.
- 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.; LEITE, L.G.; ALVES, E.B.; AGUIAR, J.C. Controle de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) por fipronil e seu efeito sobre *Beauveria bassiana*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.63, n.2, p.47-51, 1996.
- BOTELHO, A.A.A.; MONTEIRO, A.C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia*, Campinas, v.70, n.2, p.361-369, 2011.
- CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C.; GOODAY, G.W. *The Fungi*. 2th. ed. London: Academic Press, 2001, 578 p.
- CAVALCANTI, R.S.; MOINO JR., A.; SOUZA G.C.; ARNOSTI, A. Efeito dos produtos fitossanitários fenprotrina, imidacloprid, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.69, p.17-22, 2002.
- ESTAT – Sistema para análise estatística, versão 2.0, Departamento de Ciências Exatas, FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, 1994. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/#937>, 1974>.
- FARIA, M.R.; MAGALHÃES, B.P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil: situação atual e perspectivas. *Biociência @ Desenvolvimento*, v.22, p.18-21, 2001.
- FERNANDES, E.K.K.; MORAES, A.M.L.; PACHECO, R.S.; RANGEL, D.E.N.; MILLER, M.P.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ROBERTS D.W. Genetic diversity among Brazilian isolates of *Beauveria bassiana*: comparisons with non-Brazilian isolates and other *Beauveria* species. *Journal of Applied Microbiology*, v.107, p.760-774, 2009.
- FRANCISCO, E.A.; MOCHI, D.A.; CORREIA, A.C.B.; MONTEIRO, A.C. Determination of growth media for the viability test of entomopathogenic fungi. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, p.1309-1312, 2006.
- GASSEN, M.H.; BATISTA FILHO, A.; ZAPPELINI, L.O.; WENZEL, I.M. Efeito de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.75, n.3, p.327-342, 2008.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. *Embrapa Meio Ambiente*, Jaguariúna, p.78, 2000.
- KOS, K.; CELAR, F.A. Sensibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.-Crisv.) Vuill. to selected herbicides. *Pest Management Scienc*i, v.69, p.717-721, 2013.
- MOCHI, D.A.; MONTEIRO, A.C.; BARBOSA, A.C. Action of pesticides to *Metarhizium anisopliae* in soil. *Neotropical Entomology*, Londrina, v.34, n.6, p.961-971, 2005.
- 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*, v.27, p.611-619, 1998.
- ROSSI-ZALAF, L.S.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M.R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds.) *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba: FEALQ, 2008, p.270-302.
- SVEDESE, V.M.; LIMA, E.A.L.A.L.; PORTO, A.L.F. Horizontal Transmission and Effect of the Temperature in Pathogenicity of *Beauveria bassiana* Against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.56, n.3, p.413-419, 2013.
- 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*, São Paulo, v.69, 2002.
- TANZINI, M.R.; ALVES, S.B.; SETTEN, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.69, n.4, p.65-69, 2002.