

# AÇÃO DE FUNGICIDAS SOBRE O CRESCIMENTO DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* (Bals.) VUILL

Francini Yumi Kagimura\*  
Cristiane Regina Kasburg\*\*  
Danusa de Freitas\*\*\*  
Andréia Vilani\*\*\*\*  
Jéssica Alves de Queiroz\*\*\*\*\*  
Silvana Damin\*\*\*\*\*  
Sideney Becker Onofre\*\*\*\*\*

**RESUMO:** Este trabalho apresenta a avaliação, quanto à toxicidade para o fungo *Beauveria bassiana*, de dois produtos comerciais, Nativo® e Sphere®, recomendados no Brasil, para a cultura da soja no controle de doenças fúngicas. O parâmetro considerado foi o crescimento vegetativo do fungo entomopatogênico em meio de cultura BDA, adicionado de concentrações preestabelecidas dos dois fungicidas, sendo a concentração inicial aquela indicada para o campo de cultivo, seguida de sucessivas diluições. Ambos os produtos apresentaram-se tóxicos para o fungo analisado, porém, variações nas concentrações inibitórias mínimas (CIM) entre os fungicidas demonstram que o grau de toxicidade destes variou de acordo com as diluições realizadas. Para o fungicida Nativo® obtivemos uma CIM de 350 µ/L enquanto que para o fungicida Sphere® a CIM foi de 2,0 mL/L, demonstrando, dessa forma, que o fungicida Nativo® apresentou um poder inibitório maior sobre o fungo, que o fungicida Sphere®.

\* Vinculada ao Programa de Iniciação Científica – PIC; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: E-mail: fran\_yk@hotmail.com

\*\* Vinculada ao Programa de Iniciação Científica – PIC; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: criskasburg@hotmail.com

\*\*\* Vinculada ao Programa de Iniciação Científica – PIC; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: danusajanis@hotmail.com

\*\*\*\* Vinculada ao Programa de Iniciação Científica – PIC; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: andreiavilani@yahoo.com.br

\*\*\*\*\* Vinculada ao Programa de Iniciação Científica – PIC; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: jehqueiroz@hotmail.com

\*\*\*\*\* Vinculada ao Programa de Iniciação Científica – PIC; Discente do curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: sil\_damin@hotmail.com

\*\*\*\*\* Biólogo; Docente Titular da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão – PR. E-mail: sideney@unipar.br

Estudos de toxicidade de produtos fitossanitários a inimigos naturais tornam-se interessantes, pois permitem que novas estratégias de controle sejam utilizadas em um programa de Manejo Integrado de Pragas

**PALAVRAS-CHAVE:** Produtos Fitossanitários; Doenças Fúngicas; Pragas Agrícolas; Controle de insetos.

## **EFFECT OF FUNGICIDES ON THE GROWTH OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *Beauveria bassiana* (Bals.) VUILL**

**ABSTRACT:** Two commercial products, Nativo<sup>®</sup> and Sphere<sup>®</sup>, recommended in Brazil for the control of fungus diseases in soybean culture, have been evaluated with regard to their toxicity on *Beauveria bassiana*. Parameter comprised the vegetative growth of the entomopathogenic fungus in BDA culture medium coupled to the addition of predetermined concentrations of the two fungicides. Initial concentration was that indicated to the culture field and followed by successive dilutions. Although both products were toxic to the fungus, variations in Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) among the fungicides demonstrated that the degree of toxicity varied according to the dilutions. In the case of Nativo<sup>®</sup>, MIC reached 350  $\mu$  / L, whereas in the case of Sphere<sup>®</sup>, MIC was 2.0 mL / L. The former had a greater inhibitory power on the fungus than the fungicide Sphere<sup>®</sup>. Toxicity studies of pesticides to natural enemies have become important since new control strategies may be used in an Integrated Pest Management program.

**KEYWORDS:** Pesticides; Fungal Diseases; Pests; Insect Control.

### **INTRODUÇÃO**

Os produtos químicos sintéticos utilizados em larga escala têm sido, há muitos anos o principal meio de controle de pragas, devido à tradição existente do uso desses produtos junto aos produtores, bem como a facilidade de aplicação e a disponibilidade de equipamentos e serviços no mercado. Porém, apesar de contribuir significativamente para a produção agrícola, o uso intensivo e indis-

criminado destes produtos favoreceu o surgimento de pragas secundárias e não conseguiu eliminar os problemas já existentes, além do que esses produtos são altamente tóxicos, sendo prejudiciais ao ambiente e à saúde humana (MARQUES; MONTEIRO; PEREIRA, 2004).

O ressurgimento de pragas-chave, o aparecimento de pragas secundárias e a resistência de pragas, resultados do uso contínuo do controle químico nos agrossistemas, estão relacionados à destruição de agentes de controle natural e levam, inevitavelmente, ao aumento nas doses dos produtos químicos e agravamento da situação (MOURÃO et al., 2003).

Porém, a integração da utilização dos agroquímicos com outros métodos de controle menos agressivos representa um progresso desejável ao sistema atual de fitossanitários, instituindo o Manejo Integrado de Pragas. No contexto do Manejo Integrado, surge o controle biológico como uma forma de manejo de populações ou ainda uma forma de disseminação de inimigos naturais contra pragas específicas (ONOFRE et al., 2002).

O termo **Controle Biológico** foi empregado pela primeira vez em 1919, por H. S. Smith, para designar o uso de inimigos naturais para o controle de insetos-praga. Posteriormente essa expressão foi usada para designar todas as formas de controle, alternativas aos produtos químicos, que envolvessem métodos biológicos. Assim, o Controle Biológico denominava técnicas tão diversas como o uso de variedades resistentes, rotação de culturas, antecipar ou retardar as épocas de plantio e colheita, queima de restos de culturas, destruição de ramos e frutos atacados, uso de atraentes e repelentes, de feromônios e de armadilhas (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998a).

O controle biológico envolve o reconhecimento de que todas as espécies de plantas e animais têm inimigos naturais atacando seus vários estágios de vida. Dentre tais inimigos naturais existem grupos bastante diversificados, como insetos, vírus, fungos, bactérias, aranhas, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos. A forma mais conhecida de controle biológico é o controle de insetos por outros insetos. Isto acontece o tempo todo nos sistemas agrícolas de forma natural, independentemente da ação do homem; no entanto, em alguns casos a interferência do homem passa a ser necessária e são introduzidos ou manipulados insetos ou outros organismos para controlar quaisquer outras espécies que prejudicam os cultivos (TORRES; MICHEREFF, 2000; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

Em comparação ao controle químico o controle biológico apresenta vantagens e desvantagens. Entre as vantagens pode-se citar que é uma medida atóxica, não provoca desequilíbrio, não possui contraindicações, propicia um controle mais extenso e é eficiente quando não existe maneira de se utilizar o controle químico. Em compensação requer mais tecnologia, possui um efeito mais lento,

não é de tão fácil aquisição, nem sempre pode ser aplicado em qualquer época do ano e, geralmente, é mais caro (NAKANO; SILVEIRA NETO; ZUCCHI, 1991; MELO; AZEVEDO, 2000; ONOFRE, 2001).

Dentro do controle biológico podemos constatar duas fases distintas: o controle biológico sem a interferência (ou seja, na forma como é encontrado na natureza) e aquele que é feito mediante introdução, manipulação e aplicação de organismos capazes de agir de forma contrária a pragas (FERNANDES; CORREIA; BORTOLI, 1990).

Muitos são os organismos vivos empregados de forma artificial, ou manipulados, com a intenção de diminuir a população de outros organismos que causam danos as mais diversas culturas, dentre estes se destaca o controle biológico realizado por fungos, que vem sendo uma forma efetiva de controle de insetos no País (ONOFRE, 2001, LORD, 2007).

O fungo *Beauveria bassiana* é empregado em escala comercial em alguns países, entre eles os Estados Unidos e o México. Volumes consideráveis desse fungo são comercializados no Brasil para o controle de ácaros do mamão e da broca-do-café, além de um volume menor ter sido destinado ao controle de cochonilhas, entre outros coleópteros da cultura da soja. Esse fungo tem-se mostrado igualmente eficiente no controle de cupins, muito embora, do ponto de vista comercial, ainda seja desejável o desenvolvimento de metodologias de aplicação de maior praticidade para estes organismos. Apresenta ainda potencial para o controle de pragas como o moleque-da-bananeira e a mosca branca (LORD, 2007).

Atualmente, o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, apresenta grande potencial de uso principalmente em culturas hortícolas no Brasil devido ao fato de que seus sistemas de aplicação e produção em escala industrial são bastante simples para esta cultura. Porém, o controle realizado por esse fungo pode ser muito influenciado pelos inseticidas, acaricidas e fungicidas químicos, adubos foliares e hormônios vegetais utilizados nestas e em outras culturas (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998a).

O controle biológico é raramente empregado sozinho. Geralmente, é usado em associação com outros métodos de controle, por exemplo, a aplicação racional de inseticidas não persistentes. Além disso, muitos mensageiros químicos como hormônios estão sendo produzidos para emprego tanto isolados como paralelos a outros métodos de controle biológico tradicionais (SAMWAYS, 1989, ONOFRE et al., 2001).

O manejo integrado baseia-se no fato de que alguns produtos fitossanitários podem afetar o crescimento vegetativo, a viabilidade e a conidiogênese dos fungos entomopatogênicos ou até alterar sua composição genética, acarretando modificações na sua virulência (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998b).

Daí a necessidade de estudos que evidenciem a compatibilidade das substâncias químicas utilizadas em relação ao agente biológico. O conhecimento prévio dos efeitos tóxicos de determinados produtos químicos sobre os fungos tornam-se imprescindíveis para a determinação das formas como os entomopatógenos serão utilizados. Alcançam-se, assim, soluções que conciliem alta produtividade, baixa relação custo/benefício e preservação do ambiente, pois estudos de impacto ou efeito de inseticidas sobre inimigos naturais de pragas são econômica e ambientalmente importantes (MOURÃO et al., 2003).

A utilização de produtos fitossanitários seletivos vem sendo considerada uma alternativa simples e econômica de conservação dos fungos dentro dos agroecossistemas. Este aspecto é mais importante em agroecossistemas onde o fungo entomopatogênico é um importante fator de redução populacional de insetos, sendo considerado um inimigo natural-chave (SILVA; NEVES; SANTORO, 2005).

A seletividade de agrotóxicos é um processo em que organismos como fungos desenvolvem tolerância a esses compostos. Este processo pode ser devido a vias metabólicas alternativas ou reações enzimáticas insensíveis à inibição por esses agrotóxicos (CAVALCANTI et al., 2002).

Outros mecanismos de tolerância de microrganismos a pesticidas podem incluir a inibição competitiva entre um metabólito essencial e um (pesticida) análogo: ao desenvolvimento de via metabólica alternativa que evite alguma reação normalmente inibida pelo pesticida; à produção de uma enzima alterada para funcionar em benefício da célula, mas não sendo afetada pelo pesticida; à síntese de uma enzima, em excesso, ultrapassando a quantidade que pode ser inativada pelo antimicrobiano; à dificuldade do agrotóxico em penetrar na célula, por alguma alteração da membrana citoplasmática e à modificação estrutural das nucleoproteínas ribossômicas (RODRIGUES, 2009).

Neste contexto é que este trabalho avaliou os efeitos de dois fungicidas utilizados na cultura da soja sobre o crescimento do fungo entomopatogênico *B. bassiana*, determinando com isso a concentração Inibitória Mínima (CIM) para cada um dos fungicidas avaliados.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 O FUNGO EM ESTUDO

Este estudo foi conduzido *in vitro*, utilizando o fungo *Beauveria bassiana* linhagem CG-149 – fornecido pela Embrapa/Cenargen, de propriedade da Embrapa Arroz e Feijão, localizada na Rod. GO-462, km 12 Zona Rural - Santo Antônio

de Goiás, GO, cadastrada como CP-53 e também armazenada no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) sob o código USDA-ARSEF 806 (Agricultural Research Service Entomopathogenic Fungal). Isolado de *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae) conhecida como cigarrinha das pastagens na cidade de Goiânia – GO, em 05/1982, doada para estudos para o Laboratório de Microbiologia da Unipar – Campus de Francisco Beltrão, após convênio entre as partes.

## 2.2 ENSAIOS

Foram conduzidos, em meio de cultura BDA (batata-dextrose-água), adicionando-se a ele os fungicidas em concentrações preestabelecidas no instante que o meio encontrava-se em temperatura próxima a 45° C, ainda não solidificado.

## 2.3 FUNGICIDAS AVALIADOS

Foram avaliados dois produtos comerciais recomendados no Brasil, para a cultura da soja no controle de doenças fúngicas. O nome comercial do primeiro fungicida é Nativo<sup>®</sup> cujos princípios ativos são: trifloxistrobina + tebuconazole, nas concentrações 2,5, mL/L 1.250, 650, 350, 150, 70 e 40 µL/L e o segundo fungicida comercial denominado Sphere<sup>®</sup> cujos princípios ativos são: trifloxistrobina + ciproconazol, nas concentrações de 2,0 mL/L, 1.000, 500, 250, 125, 62,5 e 32 µL/L.

Os fungicidas avaliados pertencem a dois grupos químicos que são as Estrobilurinas, representado pela trifloxistrobina e os Trizóis, aqui representados pelo tebuconazole e ciproconazol.

## 2.4 OBTENÇÃO DOS DADOS

O meio de cultura utilizado foi o BDA – Batata Dextrose Agar, que após a solidificação do meio em placas de Petri, foi realizada a inoculação no centro da placa. As placas foram mantidas em câmara climatizada a 28° C por 360 horas e o crescimento foi determinado medindo-se os diâmetros das colônias em dois sentidos ortogonais na superfície do meio de cultura. Considerou-se a média dos diâmetros de três repetições, acompanhadas de um grupo controle o que indica ausência dos fungicidas. Para cada fungicida foi determinada a cinética de crescimento da linhagem CG-149 e apresentado na forma de uma equação de reta do tipo exponencial.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados passaram por análises de variância, realizadas segundo normas da ANOVA. As diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos após a avaliação dos fungicidas Nativo<sup>®</sup> e Sphere<sup>®</sup> sobre a linhagem CG-149 de *B. bassiana*, encontram-se sumarizados nas tabelas 1, 2 e 3 e na figura 1.

**Tabela 1** Crescimento da linhagem CG-149 de *Beauveria bassiana* em melo BDA, sob condições controladas e ausência de fungicidas.

Tempo de observação (horas)/Halos de crescimento em mm <sup>2</sup>						
48	96	144	192	240	288	360
5,00±0,05a	12,00±0,1b	19,00±0,0c	23,50±0,15d	26,50±0,09e	28,20±0,1e	30,70±0,06e

\*Valores seguidos da mesma letra, não diferem de forma significativa entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de confiabilidade.

Observando-se os dados contidos na tabela 1, verifica-se que a linhagem CG-149 de *B. bassiana* teve desenvolvimento em todos os tempos observados. Percebe-se que no tempo de 48 horas o fungo formou um halo de crescimento de 5,00±0,05 mm, chegando a 12,00±0,10, 19,00±0,08, 23,50±0,15, 26,50±0,09, 28,20±0,11 e 30,70±0,06, nos tempos de 96, 144, 192, 240, 288 e 360 horas de crescimento, respectivamente, porém nos tempos de 240, 288 e 360 não existe diferença significativa no aumento do halo de crescimento. A cinética deste comportamento pode ser observada na figura 1.

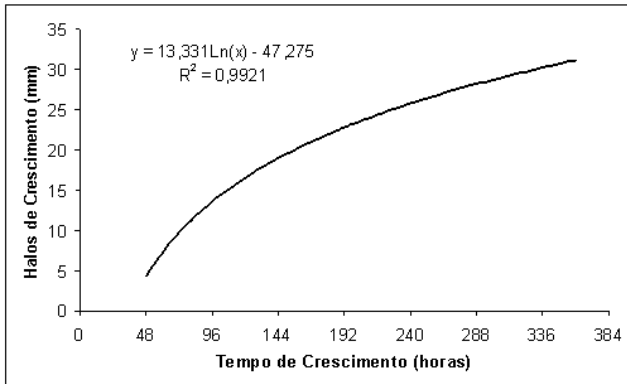


Figura 1 Cinética do crescimento microbiano da linhagem CG-149 de *Beauveria bassiana*, representada pela equação da reta  $y = 13,331\text{Ln}(x) - 47,275$  --  $R^2 = 0,9921$ .

Tabela 2 Crescimento da Linhagem CG-149 de *Beauveria bassiana* em meio BDA na presença do fungicida Sphere® - 360 horas de crescimento.

Concentrações avaliadas/Halos de crescimento em mm <sup>1</sup>						
2,0*	1.000 <sup>#</sup>	500 <sup>#</sup>	250 <sup>#</sup>	125 <sup>#</sup>	62,5 <sup>#</sup>	32 <sup>#</sup>
NC	3,00±0,04a	3,40±0,02a	7,50±0,04b	7,60±0,05b	7,70±0,02b	11,50±0,0c

<sup>1</sup>Valores seguidos da mesma letra, não diferem de forma significativa entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de confiabilidade.

\* Concentração em mL/L.

<sup>#</sup> Concentração em µL/L. NC Não houve crescimento.

Analisando a tabela 2, verifica-se que o fungicida Sphere®, inibiu totalmente o crescimento da linhagem CG-149 de *B. bassiana*, na concentração recomendada para o uso no campo, que corresponde a 2,0 mL/L.

A partir dessa concentração, as diluições realizadas de 1.000, 500, 250, 125, 62,5 e 32 µL/L, permitiram o crescimento do fungo, formando halos de crescimento de 3,00±0,04, 3,40±0,02, 7,50±0,04, 7,60±0,05, 7,70±0,02 e 11,50±0,04 mm, respectivamente. Observa-se, porém, que não houve diferenças significativas entre as concentrações de 1.000 e 500 µL/L e entre as concentrações 250, 125 e 62,5 µL/L ao nível de 5% pelo Teste de Tukey. A concentração de 32 µL/L foi a concentração entre as avaliadas que menos inibiu o crescimento fúngico.

Com esses resultados pode-se verificar que a concentração inibitória mínima (CIM), obtida com as concentrações avaliadas, foi de 2,0 mL/L. Sugere-se, porém, que em trabalhos futuros, sejam realizadas outras diluições entre a CIM obtida e a concentração de 1.000 µL/L, pois ocorreu uma amplitude de valores



muito significativa em relação as dosagens avaliadas, podendo com isso determinar uma nova CIM para esse fungicida.

Deve-se analisar que apesar de ter ocorrido crescimento do fungo avaliado, a partir da concentração de 1.000  $\mu\text{L/L}$  os valores dos halos de crescimento obtidos, são menores que os halos obtidos com o grupo controle nos mesmos tempos de observação. Nesse sentido pode-se afirmar que mesmo existindo crescimento nas dosagens avaliadas, existe uma forte inibição no crescimento fúngico.

**Tabela 3. Crescimento da linhagem CG-149 de *Beauveria bassiana* em meio BDA na presença do fungicida Nativo® - 360 horas de crescimento.**

Concentrações Avaliadas/Halos de crescimento em mm <sup>1</sup>						
2,5 <sup>a</sup>	1.250 <sup>b</sup>	650 <sup>b</sup>	350 <sup>b</sup>	150 <sup>b</sup>	70 <sup>b</sup>	40 <sup>b</sup>
NC	NC	NC	NC	4,20±0,02a	9,00±0,04b	12,0±0,04c

<sup>1</sup>Valores seguidos da mesma letra, não diferem de forma significativa entre si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de confiabilidade.

<sup>a</sup> Concentração em mL/L.

<sup>b</sup> Concentração em  $\mu\text{L}$ . NC Não houve crescimento.

Quando se analisa os dados contidos na Tabela 3, verifica-se que o fungicida Nativo®, também inibiu o crescimento da linhagem CG-149 de *B. bassiana* na concentração recomendada para uso no campo que corresponde a 2,5 mL/L até nas concentrações de 1.250, 650, e 350  $\mu\text{L}$ . A partir dessa concentração, houve crescimento fúngico, nas concentrações de 150, 70 e 40  $\mu\text{L}$ , apresentando halos de crescimento de 4,20±0,02, 9,00±0,04 e 12,0±0,04, respectivamente. Assim, pode-se indicar como CIM para o fungicida nativo a concentração de 350  $\mu\text{L}$ .

Pode-se perceber com esses resultados que os valores obtidos diferem entre si, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de confiabilidade, mostrando que esses valores quando comparados entre si, são significativos.

Pode-se verificar que, a partir da CIM estabelecida, os valores dos halos de crescimento obtidos são menores que os halos obtidos com o grupo controle nos mesmos tempos de observação. Nesse sentido pode-se afirmar que, mesmo existindo crescimento nas dosagens avaliadas, existe uma forte inibição no crescimento fúngico.

O modo de ação dos ingredientes ativos é um dos principais fatores envolvidos na toxicidade dos produtos fitossanitários. Esses fungicidas protetores apresentam amplo espectro de ação. Por interferirem em diversos processos metabólicos vitais dos fungos, sendo que os fungicidas de ação sistêmica apresentam maior especificidade (TAMAI et al., 2002).

Comparando o modo de ação de cada um dos princípios ativos avaliados verifica-se que as estrobilurinas possuem a ação translaminar, com ação especí-

fica sobre o patógeno e apresentam alto risco de resistência quando comparadas com os triazóis (ciproconazol e tebuconazole). As estrobilurinas interferem na respiração mitocondrial, ao bloquear a transferência de elétrons pelo complexo citocromo bc1, inibindo assim, a respiração celular do fungo (GHINI; KIMATI, 2000).

Os triazóis afetam especificamente a divisão celular, pois apresentam atividade seletiva para a tubulina de fungos e ligam-se a essa proteína, impedindo que ocorra a polimerização dos microtúbulos formadores do fuso mitótico (KENDALL et al., 1994; WHEELER et al., 1995).

O produto comercial Nativo<sup>®</sup> composto de trifloxistrobina + tebuconazole pode ser classificado como um agente tóxico ao fungo, considerando o modo de ação dos seus princípios ativos, esses inibiram com maior intensidade o crescimento fúngico que o fungicida Sphere<sup>®</sup> que é composto pelos princípios ativos trifloxistrobina + ciproconazol.

Considerando que o princípio ativo trifloxistrobina é comum aos dois fungicidas, possivelmente a maior toxicidade observada com o fungicida Nativo<sup>®</sup> deve-se ao efeito do tebuconazole na formulação, sendo este, por seu modo de ação, uma molécula com maior atividade inibitória sobre o crescimento de *B. bassiana* que o princípio ativo ciproconazol, sendo que Tamai e colaboradores (2002) e Loureiro e colaboradores (2002) observaram que fungicidas sistêmicos como o tebuconazole são muito tóxicos para *B. bassiana*.

Também Mourão e colaboradores (2003), observaram que o tebuconazole não foi seletivo a *B. bassiana*, pois inibiu 100% do crescimento micelial, atribuindo ainda a alta toxicidade de tebuconazole a *B. bassiana* à alta potência desse fungicida, como constatada pela menor quantidade de ingrediente ativo para provocar 99 % de inibição do crescimento micelial de *B. bassiana* além do seu amplo espectro de ação.

A resistência de um fungo a um fungicida com modo de ação específico pode ser facilmente avaliada em meio de cultura agarizado, onde se tem a vantagem de expor ao máximo o microrganismo à ação do produto químico, fato que não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição.

A observação de resistência em laboratório somente indica uma primeira evidência experimental de sua existência, por isso existe a necessidade de que os isolados analisados em laboratório passem por experimentos de campo que permitirão diagnosticar falhas no controle.

Deve-se considerar que o produto, sendo compatível com as condições laboratoriais, não há dúvidas sobre a seletividade em condições de campo; por outro lado, a alta toxicidade de um produto *in vitro* nem sempre indica a sua elevada

toxicidade em campo, mas, sim, a possibilidade da ocorrência de danos dessa natureza (RODRIGUES et al.,2007).

A expressiva toxicidade dos fungicidas é um dos fatores que mais limitam a utilização deste grupo de agente de controle químico; por isso, numa estratégia de introdução conjunta desses, com fungos entomopatogênicos (controle associado), sugere-se o uso de concentrações subletais (subconcentrações) para fungicidas incompatíveis como o Nativo<sup>®</sup> e o Sphere<sup>®</sup>, que sejam iguais ou inferiores a concentração inibitória mínima (CIM), apresentando assim uma estratégia que permite reduzir a quantidade e o custo com o inimigo natural, a quantidade de resíduos químicos sobre os alimentos e a possibilidade de intoxicação dos trabalhadores rurais durante os processos de preparo da calda inseticida e sua aplicação.

Algumas formas de reduzir o efeito restritivo dos fungicidas à utilização de fungos entomopatogênicos é a adoção conjunta de diversas medidas de controle que minimizem a presença de fitopatógenos na cultura e, conseqüentemente, a necessidade de aplicações de fungicidas para seu controle como, por exemplo: utilização de sementes e mudas sadias, uso de variedades resistentes, manejo da irrigação, remoção de mudas e plantas doentes (ZAMBOLIM et al., 1999). Outra possibilidade pode ser obtida pulverizando-se o fungicida com intervalo de tempo suficiente para não coincidir com as fases mais suscetíveis da interação entomopatógeno-hospedeiro; para isso são necessários estudos mais detalhados que demonstrem este intervalo de tempo.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que o fungicida Nativo<sup>®</sup> composto de trifloxistrobina + tebuconazole e o fungicida Sphere<sup>®</sup> que é composto pelos princípios ativos trifloxistrobina + ciproconazol inibem o crescimento do fungo *B. bassiana*. Com isso as concentrações inibitórias mínimas (CIM) para esses dois fungicidas foram nas concentrações de 350 µ/L para o fungicida Nativo<sup>®</sup> e de 2,0 mL/L para o fungicida Sphere<sup>®</sup>.

Sendo que os dados obtidos foram gerados *in vitro*, estudos posteriores devem ser ampliados em ambientes de campo para cada fungicida de modo a conhecer a interação entre ambos os fungicidas com o fungo analisado neste trabalho.

#### REFERENCIAS

ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A. ALMEIDA, J. E. M.. Produtos fitossa-

nitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, SP: Fealq, 1998a. p. 217-238.

\_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, SP: Fealq, 1998b. p. 637-711.

BETTIOL, W. Componentes do Controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna, SP: Embrapa-Cnpda, 1991. p. 1-5. (Embrapa-Cnpda. Documentos, 15).

CAVALCANTI, R. S. et al. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropatrina, imidaclopride, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 17-22, 2002.

FERNANDES, O. A.; CORREIA, A. C.; BORTOLI, S. A.. (Eds.) **Manejo integrado de pragas e nematóides**. Jaboticabal, SP: Funep, 1990. v. 2.

GHINI, R.; KIMATI, H.. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

HOFFMANN-CAMPO, C. B. et al. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina, PR: EMBRAPA-CNPSO, 2000. (Circular Técnico, 30).

KENDALL, S. et al. Characterization of benzimidazole-resistant strains of *Rhynchosporium secalis*. **Pesticide Science**, v. 40, p. 175-181, 1994.

LORD, J.. Mycotech receives EPA registration of improved *Beauveria bassiana* products. **SIP Newsletter**, v. 29, p. 19-20, 2007.

LOUREIRO, E. S. et al. Efeito de Produtos Fitossanitários Químicos Utilizados em Alface e Crisântemo Sobre Fungos Entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 263-269, 2002.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T.. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1675-1680, nov./dez. 2004.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, v. 2, 2000.

MOURÃO, S. A. et al. Seletividade de defencivos agrícolas ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. Viçosa, MG. **Neotropical Entomology**, p. 103-104, 2003.

NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R. A. **Entomologia econômica**. Piracicaba, SP: Livroceres, 1991.

ONOFRE, S. B. **Variabilidade genética em *Metarhizium flavoviride* (Gams and Rozspal) produzida via parassexualidade e sua patogenicidade sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)**. 2001. Tese (Pós Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR: UFPR, 2001.

ONOFRE, S. B. et al.. Controle biológico de pragas na agropecuária por meio de fungos entomopatogênicos. In. SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul, RS: EDUCS, 2002. p. 297-347.

ONOFRE, S. B. et al.. grOwth and sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* on culture media and lighting regimes. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 3, p. 613-616, 2001.

RODRIGUES, M. A. T. **Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura de soja**. fls.197. 2009. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, SP: ESALQ, 2009.

RODRIGUES, M. B. C. et al. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 323-327, mar. 2007.

SAMWAYS, M. J.. **Controle Biológico de pragas e ervas daninhas**. São Paulo, SP: EPU, 1989.

SILVA, R. Z.; NEVES, P. M.; SANTORO, P. H.. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 306, 2005.

TAMAI, M. A. et al.. Toxicidade de produtos fitossanitários para *beauveria bassiana*

(bals.) vuill. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 89-96, jul./set. 2002.

TORRES, J. B.; MICHEREFF, S. J.. (Eds.) **Desafios do manejo integrado de pragas e doenças**. Recife, PE: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2000.

WHEELER, I. E. et al.. Using allele-specific oligonucleotide probes to characterize benzimidazole resistance in *Rhynchosporium secalis*. **Pesticide Science**, v. 43, p. 201-209, 1995.

ZAMBOLIM, L. et al.. Doenças de hortaliças em cultivo protegido. **Inf. Agropecu.**, v. 20, n. 200/201, p. 114-125, 1999.

Recebido em: 24 Novembro 2010

Aceito em: 25 Janeiro 2011