

COMPATIBILIDADE DE *LECANICILLIUM LECANII* (HYPHOMYCETES), EM
CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E ESTUFA, AOS AGROTÓXICOS
UTILIZADOS NA CULTURA DO CRISÂNTEMO

I.M. Wenzel, A. Batista Filho, M.H. Gassen, A.M.B. de Almeida

Instituto Biológico, Laboratório de Controle Biológico, CP 70, CEP 13001-970, Campinas, SP, Brasil. E-mail: iawenzel@yahoo.com.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar, em condições de laboratório e estufa, a compatibilidade de *Lecanicillium lecanii*, JAB 02, com agrotóxicos. A compatibilidade em laboratório foi verificada misturando-se os agrotóxicos ao meio de cultura BDA e os parâmetros utilizados para a avaliação foram: crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade do entomopatógeno. Em condições de estufa, as suspensões dos agrotóxicos e, posteriormente, a do fungo foram pulverizadas em plantas de crisântemo. Após a aplicação, folhas foram coletadas e lavadas obtendo-se uma suspensão que foi plaqueada em BDA, sendo então avaliado o crescimento das colônias do fungo. Verificou-se, em laboratório, que a maioria dos inseticidas e os acaricidas foram compatíveis ao fungo, com exceção do inseticida Thiodan® classificado como muito tóxico. Todos os fungicidas testados foram classificados como tóxico e muito tóxico. Em condições de estufa, no tratamento com o fungicida Rovral® foi observado um número de colônias fúngicas formadas compatível com a testemunha, não afetando o desenvolvimento do fungo. Essa compatibilidade repetiu-se para os produtos Alto 100® e Thiodan® em alguns dos tempos avaliados. Os produtos Rovral® e Alto 100® podem ser utilizados, conjuntamente, quando aplicados previamente ao entomopatógeno.

PALAVRAS-CHAVE: Fungo entomopatogênico, ornamentais, controle microbiano.

ABSTRACT

COMPATIBILITY OF *LECANICILLIUM LECANII*, IN LABORATORY AND GREENHOUSE CONDITIONS, TO PESTICIDES USED IN THE CHRYSANTHEMUM CROP. The objective of this study was to evaluate, under laboratory and greenhouse conditions, the compatibility of *Lecanicillium lecanii*, JAB 02, with pesticides. The compatibility in the laboratory was verified adding pesticides to the PDA media and evaluating the parameters of vegetative growth, sporulation and viability of the entomopathogen. In the greenhouse, *L. lecanii* were sprayed on chrysanthemum plants after the spraying of the pesticides; subsequently, four leaves of each treatment were collected and washed to obtain a suspension that was transferred to PDA medium to evaluate the growth of the fungus colonies in laboratory conditions. The acaricides and most of insecticides were compatible to the isolate JAB 02, except the insecticide Thiodan®, which was classified as very toxic. All the evaluated fungicides were classified as toxic or very toxic. In greenhouse assays, the fungicide Rovral® produced a number of grown colonies similar to those of the control, not affecting fungus growth. This compatibility was also shown by the products Alto 100® and Thiodan® in some of the evaluated periods. Rovral® and Alto 100® can be used, combined, when applied before the entomopathogen.

KEY WORDS: Entomopathogenic fungi, ornamentals, microbial control.

INTRODUÇÃO

Os fungos entomopatogênicos são inimigos naturais que podem ser diretamente prejudicados pelo uso de agrotóxicos, que tem sido a estratégia básica de suprimir as populações de insetos considerados pragas (CAVALCANTI *et al.*, 2002). A ação dos agrotóxicos

sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das dosagens utilizadas (ALVES, 1998). Esses produtos podem causar inibição do crescimento vegetativo, da conidiogênese ou esporulação, além da viabilidade, patogenicidade e virulência do conídio (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

A aplicação combinada de micoinseticidas e agrotóxicos pode ser uma associação positiva, visto que o fungo e o inseticida químico podem atuar sinergisticamente permitindo o uso de concentrações menores de agrotóxicos e a redução na possibilidade de evolução de resistência das pragas (BOMAN, 1980). As combinações podem ser vantajosas em alguns casos, como quando a ação isolada do microrganismo não é totalmente satisfatória (BENZ, 1971). A interação entre agrotóxicos e entomopatógenos deve ser considerada antes da recomendação do agente químico e representa uma importante ferramenta nos programas de MIP (BATISTA FILHO *et al.*, 2001).

Vários autores vêm realizando trabalhos sobre a compatibilidade de agrotóxicos e entomopatógenos em laboratório (CAVALCANTI *et al.*, 2002; LOUREIRO *et al.*, 2002; TAMAI *et al.*, 2002; BATISTA FILHO *et al.*, 2003; DURAN *et al.*, 2004; CINTRA, 2004; ER; GÖKÇE, 2004). Por outro lado, em condições de estufa, esses estudos são escassos, embora de extrema importância, pois o ambiente da estufa pode favorecer o uso dos fungos como bioinseticidas, visto que certos fatores como temperatura e umidade, podem ser manipulados para o início e manutenção de epizootias. Desta forma, para que possam ser utilizados, há necessidade que sejam compatíveis com outros produtos químicos, pois as principais doenças foliares do crisântemo são controladas com aplicações de fungicidas (GARDNER *et al.*, 1984).

O crisântemo é cultivado há mais de 2.500 anos na China e atualmente existem mais de 100 espécies e 800 variedades comercializadas no mundo (FONTANA, 2005). Entretanto, por ser cultivado em estufa está mais suscetível ao ataque de diversas pragas e doenças, devido às condições adequadas de temperatura, luminosidade, umidade e abundância de alimento. Dentre as pragas destaca-se o ácaro rajado, *Tetranychus urticae*, que é responsável por causar danos morfológicos e fisiológicos nas plantas, além de danificá-las visualmente influenciando diretamente no seu preço de comercialização.

Assim, para que as plantas ornamentais brasileiras ganhem espaço no mercado exterior e possam ser exportadas, algumas exigências devem ser respeitadas pelos produtores como a ausência de pragas e de resíduos de agrotóxicos. Então para o cumprimento destas exigências há necessidade da utilização de meios de controle menos agressivos, como o controle microbiano. O uso de fungos entomopatogênicos já vem sendo utilizado com sucesso na supressão de várias pragas em diferentes culturas.

Lecanicillium lecanii (Hyphomycete, Deuteromycotina) é um fungo oportunista o qual possui ampla gama de hospedeiros, incluindo insetos, ácaros, nematóides e fungos fitopatogênicos (HALL, 1981). Na Europa, os

produtos formulados Mycotal® e Vertalec® já vêm sendo utilizados na produção de crisântemo e outros cultivos em estufas para controle de afídeos, tripses e moscas brancas (NILSSON; GRIPWALL, 1999; VAN DER SCHAAF *et al.*, 1990).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar a compatibilidade de agrotóxicos ao fungo *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams (classe-forma: Hyphomycetes), em condições de laboratório e estufa.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução do trabalho foi utilizado o isolado JAB 02 de *L. lecanii* proveniente do Laboratório de Ecologia de Microrganismos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil, e isolado da cochonilha verde *Coccus viridis* Green (Hemiptera: Coccidae). O fungo, conservado em óleo mineral, foi multiplicado através de repicagens em placas de Petri com meio de cultura sólido BDA (batata, dextrose e ágar), incubados durante 12 dias a $25,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em câmara de germinação B.O.D., para obtenção de culturas jovens com vistas à utilização nos ensaios.

Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* a agrotóxicos

Em laboratório

Foram avaliados 20 agrotóxicos, dentre eles os recomendados (COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, 1999) e utilizados no controle de pragas e doenças na cultura do crisântemo (*Crysanthemum morifolium*) (Tabela 1). Os produtos que possuem uma faixa de variação na quantidade a ser utilizada foram testados com a menor quantidade (concentração mínima) e a maior quantidade (concentração máxima).

Para a avaliação da compatibilidade, o fungo *L. lecanii* foi repicado em meio de cultura BDA contendo os agrotóxicos na dosagem recomendada pelo fabricante (Tabela 1). O meio de cultura foi autoclavado a 1 atm (121°C) por 20 minutos e, antes da solidificação, a uma temperatura de aproximadamente 45°C , foram acrescentados os produtos. Em seguida, a mistura foi vertida em placas de Petri com 9 cm de diâmetro e a testemunha foi representada pelo meio de cultura específico sem produto. Após a solidificação do meio, o fungo foi transferido através de três pontos nas placas, com auxílio de uma alça de platina. As placas repicadas foram mantidas em B.O.D. durante 16 dias à temperatura de $25,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$, umidade relativa em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas.

Tabela 1 - Agrotóxicos recomendados (COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, 1999) e utilizados para controle de pragas e doenças da cultura do crisântemo.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Dosagens recomendadas
Fungicida		
Alto 100 GR	cyproconazole	10 a 15 mL/100 L água
Antracol 700 PM	propinebe	3,0 kg/ha
Cercobin 700 PM	tiofanato metílico	70 g/100 L água
Cuprozeb	mancozebe + oxicloreto de cobre	200 g/100 L água
Dithane PM	mancozebe	200 g/ha
Folicur 200 CE	tebuconazole	1,0 L/ha
Rovral SC	iprodione	100 mL/100 L água
Stratego 250 EC	propiconazole + trifloxistrobina	400 mL/100 L água
Inseticida		
Actara 250 WG	tiametoxam	400 g/ha
Azodrin CE	monocrotofós	100 mL/100 L água
Confidor 700 Grda	imidaclopride	100 a 360 g/ha
Dicarzol 500 OS	hidrocloro de formetanato	150 g/100 L água
Lannate BR	metomil	100 mL/100 L água
Mesurool 500 SC	metiocarbe	150 mL/100 L água
Orthene 750 BR	acefato	100 g/100 L água
Provado 200 SC	imidaclopride	100 mL/100 L água
Thiodan CE	endosulfan	1,0 a 1,5 L/ha
Trigard 700 PM	ciromazina	15 g/100 L água
Acaricida		
Omite 720 CE BR	propargite	30 mL/100 L água
Vertimec 18 CE	abamectina	25 a 50 mL/100 L água

Para avaliação do crescimento vegetativo, foram utilizadas duas placas com três colônias medindo-se dois diâmetros de cada colônia, com régua graduada, totalizando 6 repetições. Em seguida, as colônias foram recortadas com estilete flambado e colocadas em tubos de ensaio com 10 mL de uma suspensão autoclavada de água destilada e espalhante adesivo (Tween 80®) a 0,1%. Essa suspensão foi agitada em agitador elétrico de tubos para extração e posterior contagem dos conídios em câmara de Neubauer.

Para o teste de viabilidade, em placa de Petri de plástico com 9 cm de diâmetro foi colocada uma fina camada de BDA com pentabiótico (0,5 g/L). Após a solidificação do meio, cada placa recebeu 0,1 mL das suspensões fúngicas, provenientes do cultivo com agrotóxicos para a contagem de conídios. As suspensões foram espalhadas com auxílio de uma alça de Drigalsky, flambada e devidamente resfriada. Posteriormente, essas placas foram mantidas por 15 horas em B.O.D. a 25,5±0,5°C, umidade relativa em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas. Após esse tempo, as placas foram observadas em microscópio com aumento de 400 vezes para a contagem aleatória de 100 conídios, germinados e não germinados, estabelecendo-se uma proporção.

Cada tratamento foi avaliado através de seis repetições tanto para o crescimento radial, quanto para a esporulação e a viabilidade, e o cálculo do fator de compatibilidade dos produtos fitossanitários foi feito através da fórmula proposta por ALVES (1998):

$$T = 20 (CV) + 80 (ESP) / 100, \text{ onde:}$$

T: valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para a classificação do produto;

CV: porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha;

ESP: porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

Os valores de T foram comparados com os limites estabelecidos de: 0-30 = muito tóxico; 31-45 = tóxico; 46-60 = moderadamente tóxico e > 60 = compatível.

Em estufa

O ensaio foi realizado na estufa do Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental Central do Instituto Biológico em Campinas, SP, em condições de temperatura em torno de 27°C e umidade relativa de cerca de 70%. Foram usados como tratamento os produtos classificados, no experimento realizado em laboratório, como incompatíveis ao fungo. Esses produtos foram misturados, proporcionalmente, às suas

dosagens recomendadas, em 150 mL de água destilada e inicialmente pulverizados em seis vasos de cri-sântemo da variedade White Mega Time.

Em seguida, a mesma quantidade de suspensão padronizada (1×10^7 conídios/mL) de JAB 02 foi pulverizada nos mesmos vasos. A testemunha recebeu apenas a suspensão fúngica. Às 0, 24, 48 e 72 horas após a pulverização foram retiradas, aleatoriamente, quatro folhas de cada um dos seis vasos e foi feita uma lavagem com 150 mL de água destilada esterilizada. Desta suspensão, 0,1 mL foi transferido e distribuído com alça de Drigalsky em placas de Petri contendo BDA e pentabiótico (0,5 g/L). As placas foram incubadas em B.O.D. a $25,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$, umidade relativa em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas durante 7 dias. Após esse período foram contadas as colônias de *L. lecanii* formadas nas placas.

O delineamento experimental dos ensaios foi inteiramente casualizado (DIC), com 6 repetições em cada tratamento, e a análise foi realizada através do programa ESTAT 2.0. Os dados foram submetidos à análise de variância e, na significância desta, foi feito

o teste de Tukey a 5% para a comparação entre as médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* a agrotóxicos

Em laboratório

Através da análise estatística pode ser observada diferença entre as testemunhas e todos os fungicidas avaliados em relação ao crescimento vegetativo e reprodutivo, mostrando que os produtos influenciaram tanto no crescimento da colônia quanto na produção dos conídios (Tabela 2).

Os produtos Dithane, Folicur, Antracol, Cercobin e Stratego suprimiram o crescimento e a esporulação do isolado. Nas testemunhas, os valores obtidos foram maiores e diferentes dos tratamentos em que os fungicidas foram adicionados ao meio de cultura (Tabela 2) prejudicando o desenvolvimento do fungo.

Tabela 2 - Médias de crescimento, esporulação e viabilidade de conídios do isolado JAB 2 de *Lecanicillium lecanii* submetido a diferentes fungicidas após 16 dias de incubação à temperatura de $25,5 \pm 0,5^\circ \text{C}$, umidade relativa em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas.

Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,47 a	1,78 a	95,0 a
Cuprozeb	1,83 b	0,21 b	91,0 a
Dithane	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Folicur	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Teste F	31464,51**	465,24**	1679,83**
C.V. (%)	1,85	19,62	6,90
Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,72 a	0,95 a	96,0 a
Alto 100 máx*	1,46 b	0,22 b	95,8 a
Antracol	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Cercobin	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Stratego	0,00 c	0,00 c	0,00 b
Teste F	6845,45**	485,63**	5251,60**
C.V. (%)	4,90	19,52	4,63
Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,28 a	2,47 a	99,6 a
Alto 100 mín*	1,49 c	0,15 c	96,0 b
Rovral	3,49 b	0,56 b	100 a
Teste F	3240,04**	107,95**	7,47**
C.V. (%)	2,00	27,51	2,02

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*máx: concentração máxima, mín: concentração mínima.

**significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

C.V. = Coeficiente de Variação

Em relação à viabilidade dos conídios produzidos, a testemunha não diferiu dos tratamentos Cuprozeb, Alto 100 (dosagem máxima) e Rovral e verificou-se que, apesar da influência dos fungi-

cidas no crescimento das colônias e também na esporulação do fungo, os conídios produzidos não tiveram sua capacidade de germinação afetada (Tabela 2).

Tabela 3 - Médias de crescimento, esporulação e viabilidade de conídios do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* submetido a inseticidas e acaricidas após 16 dias de incubação à temperatura de $25,5 \pm 0,5$ °C, umidade relativa em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas.

Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,77 a	2,33 a	97,5 a
Confidor máx*	4,33 c	1,44 b	98,7 a
Confidor mín*	4,48 bc	1,23 b	99,1 a
Orthene	4,62 ab	1,56 b	98,3 a
Teste F	20,90**	9,61**	1,00 ^{n.s.}
C.V. (%)	2,22	23,09	1,75
Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,30 a	2,64 ab	99,6 a
Thiodan máx*	0,00 d	0,00 c	0,00 b
Thiodan mín*	1,85 c	0,24 c	100 a
Vertimec máx*	4,01 b	3,00 a	99,3 a
Vertimec mín*	4,29 a	2,24 b	99,3 a
Teste F	1761,52**	117,59**	29801,17**
C.V. (%)	3,86	19,46	0,79
Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,47 a	1,78 a	94,6 bc
Actara	4,15 b	1,96 a	92,6 c
Dicarzol	4,02 c	1,44 a	98,0 ab
Mesurool	3,42 d	1,39 a	99,0 a
Teste F	605,43**	1,79 ^{n.s.}	7,25**
C.V. (%)	1,09	30,29	2,78
Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,53 a	1,58 a	97,3 a
Azodrin	4,27 b	1,60 a	96,8 a
Lannate	4,53 a	1,81 a	96,0 a
Teste F	8,69**	0,39 ^{n.s.}	0,49 ^{n.s.}
C.V. (%)	2,79	29,29	2,45
Tratamento	Diâmetro (cm)	Conídios ($\times 10^7$ /mL)	Viabilidade (%)
Testemunha	4,01 b	0,92 a	98,0 b
Omite	4,07 b	0,96 a	99,3 ab
Provado	4,28 a	0,84 a	98,5 ab
Trigard	4,02 b	0,54 b	99,6 a
Teste F	13,55**	14,62**	4,92**
C.V. (%)	2,07	14,92	0,85

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*máx: concentração máxima, mín: concentração mínima

**significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

^{n.s.} = não significativo

C.V. = Coeficiente de Variação

Esta elevada viabilidade dos conídios produzidos na presença de alguns produtos pode ter ocorrido devido à degradação e metabolização dos princípios tóxicos das moléculas químicas pelo fungo (ALVES 1998).

Resultado semelhante foi encontrado por LOUREIRO *et al.* (2002) para este mesmo isolado de *L. lecanii* e os fungicidas Folicur, Dithane e Cercobin em relação ao crescimento e esporulação.

CINTRA (2004) verificou que o produto Folicur também foi responsável pelo não crescimento do isolado IBCB 425 de *Metarhizium anisopliae*, já no tratamento com o fungicida Alto 100 o desenvolvimento também não foi observado. Resultado semelhante foi obtido por TRAMA *et al.* (2001) para *L. lecanii*. O crescimento e a esporulação não foram observados no tratamento com o produto em que uma das moléculas é o ciproconazole, mostrando a influência negativa do fungicida. Para JAB02 houve um pequeno crescimento e pouca esporulação quando em contato com o mesmo fungicida (Tabela 2).

A compatibilidade dos fungicidas Antracol e Dithane, em três dosagens diferentes, foi estudada por DURÁN *et al.* (2004) para o fungo *Beauveria bassiana* isolado 447 e foi observado que estes produtos não proporcionaram crescimento deste isolado, sendo esses fungicidas os que causaram os efeitos mais letais entre os produtos avaliados.

Para os inseticidas e acaricidas estudados, o crescimento radial do fungo, cultivado em meio com os produtos Orthene, Vertimec na dose mínima e Lannate, não apresentou diferença estatística em relação às suas respectivas testemunhas. Por outro lado, para o produto Provado observou-se crescimento radial maior que na testemunha diferindo estatisticamente. O único produto testado em que não se observou crescimento do fungo foi Thiodan na dosagem máxima (Tabela 3).

A produção de conídios na testemunha diferiu da ocorrida nos tratamentos contendo os inseticidas Confidor, nas dosagens máxima e mínima, e Orthene e também diferiu das dosagens máxima e mínima de Thiodan e de Trigard, ou seja, a exposição do fungo a esses produtos causou uma redução na esporulação (Tabela 3).

Os produtos Actara, Dicarzol, Mesurol, Azodrin, Lannate, Omite, Provado e Vertimec, nas duas dosagens utilizadas, não diferiram das respectivas testemunhas (Tabela 3). A presença destes produtos no meio de cultura não afetou a esporulação do fungo. Quanto à viabilidade, observou-se que os conídios não foram afetados pelos agrotóxicos quando produzidos nos meios de cultura com esses compostos, apresentando valores de viabilidade superiores a 92%, com exceção do produto Thiodan, na dosagem máxima, que não produziu conídios (Tabela 3).

NEVES *et al.* (2001), CAVALCANTI *et al.* (2002), LOUREIRO *et al.* (2002) e ANDALÓ *et al.* (2004) verificaram a

compatibilidade de alguns produtos ao fungo *B. bassiana* e também observaram que, em relação à esporulação, o produto Actara não diferiu da testemunha, não afetando o desenvolvimento do fungo. ALMEIDA *et al.* (2003) avaliaram duas doses de Actara (30 e 200 g/ha) para os fungos *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *L. lecanii* e verificaram que a esporulação de *M. anisopliae* não diferiu da testemunha nas duas dosagens. Por outro lado, para *L. lecanii* a maior dosagem e *B. bassiana* na menor dosagem diferiram da testemunha, indicando redução na produção de conídios.

Avaliando duas dosagens de Actara, BATISTA FILHO *et al.* (2001) obtiveram resultados semelhantes para a esporulação dos fungos *B. bassiana* (IBCB 66), *M. anisopliae* (SPL 358) e *Sporothrix insectorum* (IBCB 79), sendo que apenas para o fungo *M. anisopliae*, na dosagem mínima, o produto Confidor causou redução na produção de conídios.

Tabela 4 – Valores de T e classificação dos agrotóxicos recomendados e utilizados na cultura do crisântemo quanto à compatibilidade ao fungo *Lecanicillium lecanii* isolado JAB 02 em laboratório.

Produto	Valores de T	Classificação*
Fungicida		
Alto 100 Máximo	27,83	MT
Alto 100 Mínimo	11,80	MT
Antracol	0	MT
Cercobin	0	MT
Cuprozeb	23,92	MT
Dithane	0	MT
Folicur	0	MT
Rovral	34,37	T
Stratego	0	MT
Inseticida		
Actara	106,65	C
Azodrin	99,65	C
Confidor Máximo	67,94	C
Confidor Mínimo	61,01	C
Dicarzol	82,69	C
Lannate	111,00	C
Mesurol	70,12	C
Orthene	72,93	C
Provado	94,11	C
Thiodan Máximo	0	MT
Thiodan Mínimo	16,38	MT
Trigard	66,44	C
Acaricida		
Omite	61,30	C
Vertimec Máximo	115,45	C
Vertimec Mínimo	92,49	C

*C = compatível, MT = muito tóxico, T = tóxico.

NEVES *et al.* (2001) avaliaram três dosagens diferentes deste mesmo produto e verificaram que os fungos *B. bassiana* (447), *M. anisopliae* (E9) e *Paecilomyces* sp. (CNPSO P77) nas dosagens recomendadas também não influenciaram na produção de conídios. A esporulação do isolado UFLA-4 de *B. bassiana* também não foi influenciada pela utilização de Confidor (CAVALCANTI *et al.*, 2002).

Todos os fungicidas avaliados foram classificados como tóxicos ou muito tóxicos. Por outro lado, entre os inseticidas e acaricidas avaliados somente Thiodan, nas duas dosagens, foi classificado como muito tóxico e os demais produtos foram compatíveis (Tabela 4).

Resultados semelhantes foram obtidos por TAMAI *et al.* (2002) para o isolado PL 63 de *B. bassiana* em relação aos fungicidas Cercobin, Dithane, Folicur e Rovral, aos inseticidas Confidor, Orthene e Provado, e ao acaricida Vertimec.

A classificação de Omite e Trigard foi moderadamente tóxico; Dicarzol e Mesurol muito tóxico e Lannate tóxico para o fungo *B. bassiana*.

Um dos principais fatores envolvidos no nível de toxicidade dos produtos fitossanitários aos fungos entomopatogênicos é o modo de ação do ingrediente

ativo. Moléculas como mancozebe pertencem ao grupo dos fungicidas protetores, que se caracterizam por apresentarem atividades em múltiplos sítios de ação, afetando grande número de processos vitais de fungos fitopatogênicos (GHINI; KIMATI, 2000). Assim, verificou-se que essa molécula não foi seletiva a *L. lecanii*, JAB 02.

Os produtos Confidor e Provado que possuem o mesmo princípio ativo (imidaclopride) foram compatíveis a *L. lecanii*, JAB 02 (Tabela 4) mostrando que não houve efeito desta molécula sobre o fungo, apesar da diferença na formulação do produto.

O inseticida Thiodan foi classificado como muito tóxico (Tabela 4), resultado que concorda com os obtidos por BATISTA FILHO *et al.* (2001) em seu trabalho de compatibilidade com os fungos *B. bassiana* (isolado IBCB 66), *M. anisopliae* (isolado SPL 358) e *Sporothrix insectorum* (isolado IBCB 79), que foram classificados como incompatíveis. Entretanto, para alguns produtos, os resultados foram diferentes. Confidor, que foi classificado como compatível para *L. lecanii*, JAB 02, também foi compatível para *S. insectorum*, entretanto para *B. bassiana* foi moderadamente tóxico e para *M. anisopliae* foi tóxico (Tabela 4).

Tabela 5 - Número médio de colônias do isolado JAB 02 de *Lecanicillium lecanii* formadas de suspensões obtidas das lavagens de folhas de crisântemo tratadas com agrotóxicos após 7 dias de cultivo à temperatura de $25,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$, umidade relativa em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas.

Tratamento	Tempo de coleta			
	0 hora ¹	24 horas ¹	48 horas ¹	72 horas ¹
Testemunha	312 b	91 a	72 a	58 a
Antracol	25 c	1 d	0 d	0 c
Cercobin	287 b	46 b	34 bc	17 b
Dithane	22 c	0 d	0,6 d	0 c
Folicur	330 b	20 c	23 c	5 c
Rovral	500 a	61 ab	51 ab	52 a
Stratego	214 b	1 d	0,3 d	0 c
Teste F	58,80**	68,75**	51,78**	58,67**
C.V.(%)	15,25	22,18	25,09	27,04
Tratamento	0 hora ²	24 horas ²	48 horas ¹	72 horas ¹
Testemunha	241 ab	89 a	47 a	11 a
Alto 100 mínimo	246 a	78 a	21 c	7 ab
Alto 100 máximo	263 a	86 a	39 ab	14 a
Cuprozeb	179 c	5 c	4 d	2 b
Thiodan mínimo	152 c	37 b	26 bc	12 a
Thiodan máximo	186 bc	21 bc	17 c	14 a
Teste F	11,02**	86,71**	44,88**	6,27**
C.V.(%)	15,50	18,17	13,05	24,84

¹Dados originais na tabela, porém, transformados em $\sqrt{x+1}$ para a análise estatística.

²Dados originais na tabela e não transformados para a análise estatística.

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

C.V.= Coeficiente de Variação

Em experimento de compatibilidade realizado por LOUREIRO *et al.* (2002), Dithane e Folicur 200 CE foram considerados muito tóxicos, concordando com os resultados obtidos no presente trabalho.

Uma estratégia para reduzir o efeito restritivo dos fungicidas à utilização de fungos entomopatogênicos é a adoção conjunta de diversas medidas como uso de mudas sadias e variedades resistentes, manejo da irrigação, remoção de mudas e plantas doentes (ZAMBOLIM *et al.*, 1999). Outra maneira seria a aplicação do fungicida apenas onde a doença se encontra, ou seja, nos focos, e fazer a pulverização do fungicida em intervalos de tempo suficientes para não coincidir com as fases mais suscetíveis da interação patógeno e hospedeiro tempo este suficiente para que o conídio germine e invada o hospedeiro (TAMAI *et al.*, 2002).

Em estufa

A sobrevivência dos propágulos do fungo pode variar em função da superfície e do tipo de substrato em que são aplicados (ar, solo, água, folha, hospedeiro, produto químico) (McCOY *et al.*, 1988 citado por TANADA; KAYA, 1992). Desta forma, houve um decréscimo do inóculo de *L. lecanii* nas folhas avaliadas à medida que o tempo de coleta aumentou (Tabela 5).

No tratamento com o fungicida Rovral, o número de colônias formadas foi superior às da testemunha no tempo de 0 hora e não diferiu desta nos outros três tempos avaliados. Já os fungicidas Cercobin, Folicur, Stratego, Alto 100, nas duas dosagens, e Thiodan, na dosagem máxima, não diferiram da testemunha no tempo de 0 hora (Tabela 5).

No tempo de 24 horas, as duas dosagens de Alto 100 não diferiram da testemunha e, em 48 horas, o fungicida Alto 100 máximo foi semelhante à testemunha. Já no tempo de 72 horas alguns produtos não diferiram da testemunha como as duas dosagens de Thiodan e Alto 100 (Tabela 5), indicando que não houve influência dos produtos no crescimento do fungo.

Após 48 horas, pode ser observado que Rovral e a testemunha são os tratamentos que ainda proporcionam maior número de colônias formadas e isso se repete no tempo de 72 horas. Pode ser notado que, no decorrer do período em que foram realizadas as coletas, houve uma diminuição do número de colônias em todos os tratamentos (Tabela 5).

Alguns produtos foram mais drásticos em relação à toxicidade, os quais apresentaram poucas colônias e impediram a sua formação nos tempos posteriores, como os fungicidas Antracol, Dithane, Folicur, Stratego e Cuprozeb (Tabela 5).

Em experimento objetivando o planejamento de aplicações do fungicida Benomil e do fungo *L. lecanii*, na forma do produto comercial Vertalec®, em estufas de crisântemo, GARDNER *et al.* (1984) verificaram que o número de colônias formadas imediatamente após os

tratamentos foi mais alto. Os autores verificaram que a aplicação de Benomil, depois da aplicação do fungo, resultou em total inibição das unidades formadoras de colônias. Já para a aplicação do fungicida antes do fungo, a atividade do fungicida não foi totalmente deletéria. A atividade de Vertalec® não foi inibida por Benomil quando o fungicida foi aplicado 7 dias ou mais antes do fungo.

ALMEIDA *et al.* (2003) verificaram a compatibilidade, em campo, de defensivos agrícolas utilizados na cultura do café para o fungo *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Os autores verificaram que não houve diferença estatística para os tratamentos Verdadero 20GR (500 g/ha), Verdadero 20GR (500 g/ha) + *B. bassiana* (1 kg/ha), Actara 250WG (200 g/ha), Actara 250WG (200 g/ha) + *B. bassiana*, *B. bassiana*, Thiodan CE (2 L/ha), Thiodan CE (2 L/ha) + *B. bassiana* e testemunha nas contagens de colônias nas folhas e em frutos, ou seja, os produtos não influenciaram na formação das colônias de *B. bassiana*, que foi aplicada, e de *M. anisopliae* por ocorrência natural.

BATISTA FILHO *et al.* (2003) avaliaram, na cultura da soja, lagartas de *Anticarsia gemmatalis* e adultos de *Ceratomyxa spp.* colonizados por *Nomuraea rileyi* e *B. bassiana*, respectivamente. O potencial de inóculo dos fungos não foi reduzido pela ação dos inseticidas Actara Mix, Curyom e Thiodan, pois, em todos os tratamentos e tempos avaliados, foi verificada a presença de insetos mortos pela ação dos patógenos, não diferenciando da testemunha.

A complementação entre os ensaios de compatibilidade realizados em laboratório e na estufa torna-se importante porque a condição de contato entre produto e fungo, em condição de estufa, não é tão extrema. No caso do fungicida Rovral que, em laboratório, foi muito tóxico; em estufa possibilitou o crescimento de colônias do fungo em número até superior ao da testemunha, indicando a possibilidade de uso alterado entre fungicida e fungo.

CONCLUSÕES

Todos os fungicidas e o inseticida Thiodan nas duas dosagens utilizadas são tóxicos a *L. lecanii*, JAB 02 e os demais produtos são compatíveis, em laboratório.

Os fungicidas Rovral e Alto 100 são compatíveis ao *Lecanicillium lecanii*, JAB 02, em estufa, quando aplicados previamente ao fungo.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C.; LEITE, L.G.; TRAMA, M.; SANO, A.H. Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.70, n.1, p.79-84, 2003.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: _____. *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.289-381.
- ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; SOUZA, G.C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Neotropical Entomology*, 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*, v.30, n.3, p.437-447, 2001.
- BATISTA FILHO, A.; RAMIRO, Z.A.; ALMEIDA, J.E.M.; LEITE, L.G.; CINTRA, E.R.R.; LAMAS, C. Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.70, n.1, p.61-67, 2003.
- BENZ, G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. In: BURGESS, H.D.; HUSSEY, N.W. (Ed.). *Microbial control of insects and mites*. New York: Academic Press, 1971. p.327-355.
- BOMAN, H.G. Insect responses to microbial infections. In: BURGESS, H.D. (Ed.). *Microbial control of pest and plant diseases, 1970-1980*. New York: Academic Press, 1980. p.769-784.
- CAVALCANTI, R.S.; MOINO JUNIOR, A.; SOUZA, G.C.; ARNOSTI, A. Efeito de produtos fitossanitários fenpropatrina, imidaclopride, iprodione, e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.69, n.3, p.17-22, 2002.
- CINTRA, E.R.R. *Avaliação de Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para o controle de *Fidicinoides pronoe* (Hemiptera: Cicadidae) e sua compatibilidade com produtos fitossanitários utilizados na cultura do café. 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2004.
- COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. *Guia Prático de produtos fitossanitários para uso agrícola*. 5 ed. São Paulo: Andrei, 1999. 672p.
- DURÁN, J.; CARBALLO, M.; HIDALGO, E. Efecto de fungicidas sobre la germinación y el crecimiento de *Beauveria bassiana*. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*, v.71, p.73-78, 2004.
- ER, M.K.; GÖKÇE, A. Effects of selected pesticides used against glasshouse tomato pests on colony growth and conidial germination of *Paecilomyces fumosoroseus*. *Biological Control*, v.31, p.398-404, 2004.
- FONTANA, C.F. Crisântemo. *Florarte Atualize*, n.1, p.46, 2005.
- GARDNER, W.A.; OETTING, R.D.; STOREY, G.K. Scheduling of *Verticillium lecanii* and Benomyl applications to maintain aphid (Homoptera: Aphididae) control chrysanthemums in greenhouse. *Journal of Economic Entomology*, v.77, n.2, p.514-518, 1984.
- GHINI, R.; KIMATI, H. (Ed.). *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.
- HALL, R.A. The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: BURGESS, H.D. (Ed.). *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. London: Academic Press, 1981. p.483-498.
- LOUREIRO, E.S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G.C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. *Neotropical Entomology*, v.31, n.2, p.263-269, 2002.
- MCCOY, C.W.; SAMSON, R.A.; BOUCIAS, D. G. *Entomogenous fungi*. In: IGNOFFO, C.M.; MANDAVA, N.B. (Ed.). *Handbook of natural pesticides. Microbial insecticides, part A: entomogenous protozoa and fungi*. Boca Raton: CRC Press, 1988. v.5, p.151-236. apud TANADA, Y.; KAYA, H.K., 1992. p.318-387.
- NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO JUNIOR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. *Neotropical Entomology*, v.30, n.2, p.263-268, 2001.
- NILSON, U.; GRIPWALL, E. Influence of the technique on the viability of the biological controls agents *Verticillium lecanii* and *Steinernema feltiae*. *Crop Protection*, v.18, p.53-59, 1999.
- VAN DER SCHAAF, D.A.; MALAIS, M.; RAVENSBERG, W.J. The use of *V. lecanii* against whitefly and thrips in glasshouse vegetables in Netherlands. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Adelaide. *Proceedings*. Adelaide: 1990. p.391.
- 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, n.3, p.89-96, 2002.

TANADA, Y.; KAYA, H.K. Fungal infections. In: _____ . *Insect pathology*. San Diego: Academic Press, 1992. p.318-387.

TRAMA, M.; ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C. Compatibilidade dos inseticidas e fungicidas utilizados no controle de pragas do cafeeiro aos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Verticillium lecanii*. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, 2001. Suplemento. Trabalho apresentado

na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001. Resumo 36. 1-CD ROM.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; LOPES, C.A.; VALE, F.X.R. Doenças das hortaliças em cultivo protegido. *Informe Agropecuário*, v.20, n.200/201, p.114-125, 1999.

Recebido em 22/5/07

Aceito em 16/5/08