

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPATIBILIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS  
COM AGROQUÍMICOS UTILIZADOS NO MANEJO  
INTEGRADO DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR**

**Aline Aparecida Alves Botelho**

Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPATIBILIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS  
COM AGROQUÍMICOS UTILIZADOS NO MANEJO  
INTEGRADO DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR**

**Aline Aparecida Alves Botelho**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Monteiro**

Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2010

B748 c Botelho, Alves Aparecida Aline  
Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com  
agroquímicos utilizados no manejo integrado da cultura da cana-de-  
açúcar/ Aline Aparecida Alves Botelho. -- Jaboticabal, 2010  
xvi, 58 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010  
Orientador: Antonio Carlos Monteiro  
Banca examinadora: Inajá Marchizeli Wenzel, Elisângela de  
Souza Loureiro  
Bibliografia

1. Controle microbiano. 2. Controle bioológico. 3. Fungos  
entomopatogênicos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.88:632.937

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**ALINE APARECIDA ALVES BOTELHO** – Filha de Cleides Alves Botelho e Dalva Ferreira Luna Botelho, nascida em 20 de janeiro de 1984, no município de Tarumã - SP. Engenheira Agrônoma, graduada pela Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista (ESAPP) em dezembro de 2007. Ingressou no curso de Pós-graduação em Microbiologia, área de concentração em Microbiologia Agropecuária, no Departamento de Produção Vegetal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal.

***“Existe tempo certo para cada coisa, momento oportuno para cada propósito  
debaixo do sol: tempo de nascer, tempo para morrer, tempo de plantar e tempo de  
colher”***

*(Eclesiastes 3: 1-2)*

**AOS MEUS PAIS**

**CLEIDES ALVES BOTELHO e DALVA FERREIRA LUNA BOTELHO** – pelo amor, incentivo e formação moral. Por ter estado sempre comigo nas horas mais difíceis e alegres também.

**AOS MEUS IRMÃOS**

**ELAINE ALVES BOTELHO, CLEBER ALVES BOTELHO e RENATO ALVES BOTELHO** – Pelas horas de conversa e descontração pelas palavras de incentivo e carinho.

**DEDICO**

**AO MEU NAMORADO****EDSON CROSCATTO**

*“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso”.*

*Charles Chaplin*

*A minha Prima **VALQUÍRIA** e minha Tia **DINALVA** – Pelas palavras de incentivo pelo carinho e por acreditar que seria possível mais uma grande conquista.*

**OFEREÇO**

*A **DEUS**, por ter me dado saúde, sabedoria,  
paciência e pelo dom da vida.*

**AGRADEÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao **Prof. Dr. Antônio Carlos Monteiro** – pela oportunidade, confiança, amizade e pela possibilidade de concluir este trabalho com qualidade em suas orientações.

À **banca examinadora**: Dra. Elisângela de Souza Loureiro e Dra. Inajá Marchizeli Wenzel pelas sugestões e críticas mencionadas;

Ao **Prof. Aracynio Tortolero Araújo** pelo carinho e por acreditar em meu sonho.

A **CAPES** – pela bolsa de mestrado, que permitiu total dedicação a este trabalho.

Ao **Prof. Dr. José Carlos Barbosa** – pelo auxílio na realização das análises estatísticas.

A Fazenda de Ensino a Pesquisa da FCAV – Unesp – Jaboticabal, em especial ao **José Gilson Leite** – por ter cedido todos os agroquímicos para realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia, Ana Carolina Ribeiro Machado, Dinalva Alves Mochi, Lucas, Flávia, Carime Moraes, Manuela, Marquinhos, Bia, pela agradável convivência.

A **secretária da Microbiologia** Edna Maria Testa Dáquila, pelo carinho e amizade;

As queridíssimas amigas Elizabete Guastali e Meire pelo carinho, amizade.

A todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	x
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	xi
<b>RESUMO.....</b>	xiii
<b>ABSTRACT.....</b>	xv
<b>CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais.....</b>	1
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	1
<b>2. OBJETIVO.....</b>	3
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	3
3.1 Pragas que causam grandes prejuízos na cultura da cana-de-açúcar.....	3
3.2 Principais plantas daninhas presentes na lavoura de cana-de-açúcar.....	6
3.3 Maturadores.....	7
3.4 Agentes microbianos usados na cultura da cana-de-açúcar.....	8
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	9
<b>CAPÍTULO 2 - SUSCETIBILIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS A</b>	16
<b>AGROQUÍMICOS USADOS NO MANEJO DA CANA-DE-</b>	
<b>AÇÚCAR.....</b>	
<b>RESUMO.....</b>	16
<b>ABSTRACT.....</b>	17
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	18
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	19
2.1 Fungos e agroquímicos utilizados .....	19
2.2 Cultivo dos fungos em meio contendo os agroquímicos.....	21
2.3 Avaliação do crescimento, esporulação e da viabilidade dos fungos.....	21
2.4 Avaliação da toxicidade dos agroquímicos.....	22
2.5 Análise estatística.....	22
<b>3. RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	23

3.1 Efeito dos inseticidas sobre o crescimento, produção e viabilidade dos conídios dos fungos.....	23
3.2 Avaliação da toxicidade dos inseticidas e sua compatibilidade com <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	25
3.3 Efeito dos herbicidas sobre o crescimento, produção e viabilidade dos conídios dos fungos.....	26
3.4 Avaliação da toxicidade dos herbicidas e sua compatibilidade com <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	29
3.5 Efeito dos maturadores sobre o crescimento, produção e viabilidade dos conídios dos fungos.....	31
3.6 Avaliação da toxicidade dos maturadores e sua compatibilidade com <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	32
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	32
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	33
<b>CAPÍTULO 3 - TOXICIDADE DE AGROQUÍMICOS USADOS NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR AOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS <i>Metarhizium anisopliae</i> e <i>Beauveria bassiana</i> NO AMBIENTE DO SOLO</b> .....	37
<b>RESUMO</b> .....	37
<b>ABSTRACT</b> .....	39
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	41
<b>2. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	42
2.1 Fungos e agroquímicos utilizados.....	42
2.2 Solo.....	44
2.3 Montagem dos ensaios experimentais e avaliação da sobrevivência dos fungos.....	44
2.4 Análise estatística.....	45
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	46
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	55

<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>
----------------------------	-----------

### LISTA DE TABELAS

<b>Capítulo 2</b>		<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b>	Inseticidas, herbicidas e maturadores usados na cultura da cana-de-açúcar e avaliados quanto a compatibilidade com os fungos entomopatogênicos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i>	20
<b>Tabela 2.</b>	Crescimento, esporulação e viabilidade de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> em meio de cultura contendo diversas doses dos inseticidas químicos fipronil e thiametoxan.....	24
<b>Tabela 3.</b>	Índice biológico e classificação dos inseticidas quanto a toxicidade aos fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> de acordo com as doses utilizadas.....	26
<b>Tabela 4.</b>	Crescimento, esporulação e viabilidade de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> em meio de cultura contendo diversas doses dos herbicidas químicos.....	28
<b>Tabela 5.</b>	Índice biológico e classificação dos herbicidas quanto a toxicidade aos fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> de acordo com as doses utilizadas.....	30
<b>Tabela 6.</b>	Crescimento, esporulação e viabilidade de <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> em meio de cultura contendo a dose recomendada dos maturadores.....	31
<b>Tabela 7.</b>	Índice biológico e classificação dos maturadores quanto a toxicidade aos fungos <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> de acordo com a dose recomendada.....	32
<b>Capítulo 3</b>		
<b>Tabela 1.</b>	Inseticidas, herbicidas e maturadores usados na cultura da cana-de-açúcar e avaliados quanto a toxicidade aos fungos entomopatogênicos <i>Metarhizium anisopliae</i> e <i>Beauveria bassiana</i>	43

no ambiente do solo.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Capítulo 3</b>	Página
<b>Figura 1.</b> Sobrevivência de <i>Beauveria bassiana</i> inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos inseticidas químicos Aldicarbe (Temik <sup>®</sup> ) (A e B, respectivamente) e Fipronil (Regent <sup>®</sup> ) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do inseticida T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do inseticida T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do inseticida.....	47
<b>Figura 2.</b> Sobrevivência de <i>Metarhizium anisopliae</i> inoculado em solo argiloso (A) e solo arenoso (B) adicionados do inseticida químico Aldicarbe (Temik <sup>®</sup> ), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do inseticida T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do inseticida T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do inseticida.....	48
<b>Figura 3.</b> Sobrevivência de <i>Beauveria bassiana</i> inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos herbicidas químicos Diuron (Karmex <sup>®</sup> ) (A e B, respectivamente) e Clomazone+Ametrina (Sinerge <sup>®</sup> ) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do herbicida químico T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do herbicida químico T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do herbicida químico.....	49
<b>Figura 4.</b> Sobrevivência de <i>Metarhizium anisopliae</i> inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos herbicidas químicos	51

Diuron (Karmex<sup>®</sup>) (A e B, respectivamente) e Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do herbicida, T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do herbicida, T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do herbicida.....

**Figura 5.** Sobrevivência de *Beauveria bassiana* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos maturadores químicos 52

Sulfometurom metílico (Curavial<sup>®</sup>) (A e B, respectivamente) e Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do maturador; T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do maturador; T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do maturador.....

**Figura 6.** Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos maturadores químicos 53

Sulfometurom metílico (Curavial<sup>®</sup>) (A e B, respectivamente) e Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do maturador; T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do maturador; T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do maturador.....

## COMPATIBILIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS COM AGROQUÍMICOS UTILIZADOS NO MANEJO INTEGRADO DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

**RESUMO** - No manejo integrado da cana-de-açúcar são utilizados fungos entomopatogênicos para o controle de insetos e também diversos agroquímicos visando aumento de produtividade. Porém, vários destes agroquímicos podem interferir na sobrevivência de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade dos agroquímicos mais utilizados no manejo da cana-de-açúcar para *B. bassiana* e *M. anisopliae* em experimentos feitos com a utilização em meio de cultura e de solo. Nos ensaios com meio de cultura, os fungos foram inoculados em meio de batata, dextrose e ágar (BDA) contendo diversos inseticidas (4), herbicidas (7) e maturadores (3). Avaliou-se o crescimento, a esporulação e a viabilidade, e com base nesses parâmetros fez-se a classificação toxicológica dos agroquímicos. Para verificar se o efeito encontrado em meio de cultura se mantém no ambiente do solo, foram usados os agroquímicos que apresentaram maior toxicidade no ensaio com meio de cultura. Nesta etapa os fungos foram inoculados nos solos argiloso e arenoso esterilizados, contendo os agroquímicos nas doses recomendadas pelos fabricantes, observando-se as seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do agroquímico; T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do agroquímico; T3 - inoculação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do agroquímico. Avaliou-se a sobrevivência dos fungos por um período de sete dias através das unidades formadoras de colônias (UFC) em placas de Petri. Nos ensaios com meios de cultura, os inseticidas à base de Fipronil (Regente<sup>®</sup>) e Thiametoxan (Actara<sup>®</sup>) foram compatíveis com os fungos, mas Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) foi considerado tóxico. A maior parte dos herbicidas avaliados foram classificados como tóxicos aos entomopatógenos, mas aqueles formulados com Imazapir (Contain<sup>®</sup>), Glifosato (Glifosato<sup>®</sup>) e Metribuzim (Sencor<sup>®</sup>) foram considerados compatíveis. Entre os maturadores apenas o Glifosato (Round up<sup>®</sup>) se mostrou compatível com *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Os resultados revelaram que

a ação dos agroquímicos é afetada pelo tipo de solo. Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) afetou a sobrevivência de ambos os fungos com maior efeito no solo arenoso. Para *B. bassiana* a toxicidade foi menor em solo arenoso na presença do herbicida Diuron (Karmex<sup>®</sup>) ao contrário de *M. anisopliae*. Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) reduziu a sobrevivência de ambos os fungos nos dois tipos de solo, com menor efeito tóxico no solo argiloso. Os maturadores Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) e Sulfometurom-metílico (Curavial<sup>®</sup>) promoveram a redução das populações dos fungos em ambos os solos, observando-se maior efeito tóxico no solo arenoso. Os resultados mostraram que a maior parte dos agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar têm efeito tóxico sobre *B. bassiana* e *M. anisopliae*. No entanto, a ação tóxica é maior no meio de cultura, pois houve grande inibição do desenvolvimento dos fungos, enquanto no solo verificou-se que os agroquímicos reduziram a sobrevivência dos entomopatógenos, mas com moderada inibição da população.

**Palavras-chave:** controle microbiano, controle biológico, entomopatógenos, *Saccharum* spp., toxicidade.

## COMPATIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI WITH AGROCHEMICALS USED IN INTEGRATED MANGEMENT OF SUGARCANE CULTURE

**ABSTRACT** - In the management of sugarcane are used entomopathogenic fungi to control insects; and various agrochemicals aimed at increasing productivity. However, several of these agrochemicals may interfere with survival of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Therefore, this research had the objective to evaluate the toxicity of agrochemicals used in handling of sugarcane to *B. bassiana* and *M. anisopliae* in experiments in culture medium and soil. In tests in culture medium, the fungi were inoculated on potato dextrose agar (PDA) containing various insecticides (4), herbicides (7) and ripeners (3). It were evaluated the growth, sporulation and viability, and based on these parameters became the toxicological classification of agrochemicals. To examine whether the effect found in the culture medium remains in the soil environment, were used agrochemicals that showed higher toxicity in culture medium assays. At this stage the fungi were inoculated in clay and sandy soils sterilized, containing the chemicals in the recommended dosages, observing the following application forms: T1 - inoculation of the fungi in soil 1 hour before to herbicide application, T2 - inoculation fungi in the soil 1 hour after herbicide application, T3 - inoculation of the fungi in the soil 48 hours after herbicide application. It was evaluated the survival of the fungi for a period of seven days through the colony forming units (CFU) in Petri dishes. Insecticides based on Fipronil (Regente<sup>®</sup>) and Thiamethoxan (Actara<sup>®</sup>) are compatible with the fungi, but Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) proved to be toxic. Most of the herbicides evaluated were classified as toxic to entomopathogenic fungi, but those made with Imazapir (Contain<sup>®</sup>), Glyphosate (Glifosato<sup>®</sup>) and Metribuzin (Sencor<sup>®</sup>) were considered compatible. Among the ripeners only Glyphosate (Round up<sup>®</sup>) showed compatibility with *B. bassiana* and *M. anisopliae*. The results revealed that the action of agrochemicals was affected by soil type. Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) affected the survival of both fungi with greater effect in the sandy soil. For *B. bassiana* toxicity was lower in sandy soil in the presence of the herbicide Diuron (Karmex<sup>®</sup>) unlike of *M. anisopliae*.

Clomazone+Ametryne (Sinerge<sup>®</sup>) reduced the survival of both fungi in two soil types, with less toxic effect on the clay soil. The ripeners Ethyl-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) and Sulfometurom-methyl (Curavial<sup>®</sup>) promoted the reduction of populations of fungi in both soils, with a higher toxic effect in the sandy soil. The results showed that most of the agrochemicals used in the management of sugar cane have toxic effects on *B. bassiana* and *M. anisopliae*. However, the toxicity is greater in the culture medium, because there was a great inhibition of fungi, while in the soil it was found that the agrochemicals reduced survival of entomopathogenic, but with moderate inhibition of the population.

**Key words:** microbial control, biological control, entomopathogenic, *Saccharum* sp, toxicity.

## **CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1. INTRODUÇÃO**

A área canavieira plantada hoje no Brasil chega a 6,92 milhões de hectares, sendo 82% na região Centro-Sul e o restante no Norte e Nordeste. A colheita ultrapassou 569 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra 2008/2009 (ÚNICA, 2009). O setor sucroalcooleiro brasileiro atualmente conta com 379 unidades para produção de álcool combustível e açúcar, responsáveis pela moagem de 425 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra 2006/2007, com a produção de 30,25 milhões de toneladas de açúcar e 17,4 bilhões de litros de álcool (NASTARI, 2006). Para a safra 2010/2011 estima-se a produção de 664,3 milhões de toneladas de cana.

Segundo projeções de vários órgãos, o crescimento do setor nos próximos anos está estimado em 53,9% se expandindo para a região Centro Oeste e Meio Norte (Tocantins, sul do Maranhão e Piauí), mas grande parte de novos projetos se concentram em São Paulo (25 dos 40 novos projetos propostos do país). O nosso país é o maior e mais eficiente produtor de açúcar, álcool e subprodutos do mundo. São Paulo é o estado que possui maior área plantada no Brasil é o principal produtor seguido de Alagoas, Paraná, Minas Gerais, Pernambuco, Mato Grosso, Goiás e Mato Grosso do Sul (CONAB, 2010). Segundo dados da UNICA estima-se que 10 novas unidades iniciarão suas atividades na safra 2010/2011. É um número bem inferior ao que tem sido observado nos últimos anos, reflexo da desaceleração no crescimento do setor. Foram 25 novas unidades na safra 2007/2008, 30 em 2008/2009 e 19 em 2009/2010. As novas unidades esperadas para 2010/2011 estão localizadas nos Estados de Minas Gerais (3), Goiás (2), São Paulo (2), Mato Grosso do Sul (1), Mato Grosso (1) e Rio de Janeiro (1) (ÚNICA, 2010).

O mercado externo está em franca expansão, com a proposta da Comunidade Européia de substituir parte de seu combustível fóssil por biocombustível. O Brasil e os Estados Unidos detêm, juntos mais de 70% do mercado mundial de consumida,

tornando assim a produção de etanol a partir de cana-de-açúcar economicamente viável (AGRIANUAL, 2007).

Além de ser a matéria-prima que proporciona mais rendimento para a produção de combustível a cana-de-açúcar também atua ajudando o meio ambiente, fazendo o seqüestro de carbono. O gás carbônico é um dos principais gases causadores do efeito estufa, pois promove um aumento de temperatura na atmosfera, o que, segundo as previsões de modelos meteorológicos atuais, poderá provocar alterações acentuadas no clima de várias regiões da Terra. Para que o seqüestro de carbono seja significativo, é necessário que o carbono fique armazenado por um período longo o suficiente para que a emissão de carbono para a atmosfera diminua, evitando o aumento da temperatura e o aquecimento global. Com o aumento do plantio de cana-de-açúcar para produção de combustível a mesma seria capaz de mitigar os efeitos do aquecimento global, ou seja, diminuir seu impacto futuro (BUCKERIDGE, 2008).

A poluição do solo, da água, da vegetação nativa do entorno dos canaviais e sua respectiva fauna é um fato muito importante e que deve ser considerado na expansão da cultura. O uso intensivo de inseticidas, nematicidas, herbicidas no cultivo da cana e de maturadores, para uniformizar a lavoura na colheita e a forma com que são aplicados são fatores que podem agravar o risco de contaminação ambiental.

A necessidade de se utilizar produtos químicos no controle de pragas nas lavouras resultou em vários efeitos negativos ao ambiente, sendo um deles a alteração das características do solo e da microbiota, inclusive dos fungos entomopatogênicos. A facilidade de aquisição e também dos efeitos quase imediatos obtidos colaboraram para o uso indiscriminado e descontrolado de tais produtos (SANTOS, 1978).

O impacto ambiental que pode ser causado pelo uso excessivo de defensivos agrícolas é motivo de grande preocupação (OLIVEIRA, 1994). Apesar destes produtos sofrerem biodegradação pela microbiota do solo, esse processo depende muito das propriedades químicas do agrotóxico, do solo e das condições climáticas, podendo muitas vezes permanecer por um período longo no solo (SCHEUNERT, 1994).

Dessa forma a substituição total ou parcial por defensivos agrícolas naturais, como os bioinseticidas, torna-se altamente desejáveis, seja do ponto de vista econômico como também ambiental (LANZA, 2004).

Como os defensivos químicos apresentam ação tóxica sobre os insetos parasitos e predadores, também podem atuar negativamente inibindo fungos e outros entomopatógenos. Numerosos trabalhos foram realizados e vem demonstrando que da mesma forma que existem produtos altamente tóxicos aos entomopatógenos, ocorrem outros que apresentam grande seletividade a eles (CARNEIRO, 1971).

## **2. OBJETIVO**

Este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade dos agroquímicos mais utilizados no manejo da cana-de-açúcar sobre os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* em experimentos feitos em meio de cultura e no solo.

## **3. REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1 Pragas que causam grandes prejuízos na cultura da cana-de-açúcar.**

Até meados da década de 1990, a cigarrinha das raízes, era praga de pouca importância para a cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, visto que a queima da palha antes da colheita mantinha suas populações baixas, principalmente pela destruição dos ovos em diapausa. No entanto, com o incremento da colheita sem queima prévia (cana crua), ocorre um rápido aumento da população de cigarrinhas, pois não houve a eliminação dos ovos causando danos significativos à cultura, reduzindo a produtividade (DINARDO-MIRANDA et al., 2004). Para o controle da *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae), também conhecida como cigarrinha-das-raízes, utiliza-se o agente microbiano como o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, sendo essa uma das técnicas adotadas em programas de manejo integrado

com o intuito de reduzir o uso de defensivos químicos e aumentar a proteção ambiental (ALVES et al., 1998).

Os cupins têm se tornado uma importante praga na cultura da cana-de-açúcar (híbridos de *Saccharum* spp. L.), reflorestamentos e outras culturas anuais como arroz (*Oryza sativa* L.) e milho (*Zea mays* L.). Na cana, a espécie *Heterotermes tenuis* (Hagen) (Isoptera: Rhinotermitidae) é considerada a mais importante no Brasil, devido à sua vasta distribuição e prejuízos que causa à planta (ARRIGONI et al., 1989 & ALMEIDA et al., 1989).

Os prejuízos causados por cupins, no Brasil, chegam a 10t/ha/ano (NOVARETTI, 1985). Até 1985, os inseticidas clorados eram aplicados em área total para o controle de cupins. Com a proibição do uso destes inseticidas, tornaram-se necessários estudos de outras estratégias para o controle de cupins subterrâneos em cana. Segundo ALMEIDA et al. (1998), existe a possibilidade de controle de cupim com iscas Termitrap impregnadas com o inseticida imidacloprid associados à *Beauveria bassiana*, pois, além de melhorar a eficiência do produto mesmo em doses baixas também diminui a poluição ambiental.

O *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae) também conhecido como gorgulho ou bicudo da cana-de-açúcar pertence a família Curculionidae, são besouros que atacam a cana sadia. Os danos são causados pela larva que se alimenta dos tecidos internos da cana, mas o adulto também pode causar danos fazendo orifícios nos toletes. A fêmea coloca os ovos no interior das brotações abaixo do nível do solo. O controle dos adultos é feito com iscas tóxicas, onde ocorre a embebição do tolete de cana no inseticida para a distribuição no campo (GALLO et al., 2002).

No Estado de São Paulo, a mais importante praga é a broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae), cujo adulto é uma mariposa de hábitos noturnos, que realiza a postura na parte dorsal das folhas. Nascidas, as lagartas descem pela folha e penetram no colmo, perfurando-o na região nodal (GALLO, et al., 2002). Dentro do colmo fazem galerias, onde permanecem até o estágio adulto. Os prejuízos decorrentes do ataque são a perda de peso devido ao mal desenvolvimento das plantas atacadas, morte de algumas plantas, quebra do colmo na

região da galeria por agentes mecânicos e redução da quantidade de caldo (PINTO, 2006). Segundo ARRIGONI et al. (1989) o seu controle é realizado, basicamente, pelo parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron) (Himenoptera: Braconidae) em cana planta e soqueiras. Atualmente, pesquisas estão sendo desenvolvidas com *Trichogramma galloi* (Zucchi) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e a Copersucar está trabalhando com espécies exóticas no controle da pupa.

GALLO et al., (2002) mostra que a cada 1% de intensidade de infestação da praga, ocorrem prejuízos de 0,25% de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% de peso, os prejuízos são maiores a cana planta. Os fungos que ocorrem naturalmente são *B. bassiana*, *Cordyceps barbieri* e *M. anisopliae*. A broca da cana-de-açúcar é muito sensível ao fungo *M. anisopliae*, que controla as fases de ovo e lagarta. Os ovos são mais susceptíveis ao fungo até três a quatro dias de idade (PINTO, 2006).

O *Migdolus* (*Migdolus fryanus*) (Westwood) (Coleoptera:Vesperidae) destrói o sistema radicular mais profundo, provocando sintomas característicos de secamento das canas. Os danos causados às bases de colmos, abaixo do nível do solo, são responsáveis pelo comprometimento das brotações nas soqueiras seguintes, verificando-se o enfraquecimento e morte das touceiras, presença de falhas e redução na produtividade, sendo uma praga de grande importância na cultura da cana-de-açúcar devido ao seu difícil controle (PINTO, 2006).

O método de controle químico é um processo que consiste na aplicação de inseticidas no sulco de plantio, sendo a forma mais empregada de proteção ao sistema radicular da cultura e redução da população da praga. Os produtos atualmente utilizados são: fipronil, endosulfan e imidaclopride, geralmente utilizados em doses elevadas permanecendo por um longo período no campo devido ao elevado poder residual (BENTO, 1995).

As formigas cortadeiras *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae) e *Acromyrmex* spp. (Hymenoptera: Formicidae) são pragas de grande importância e as perdas que ocasionam são estimadas em 3 toneladas de cana/sauveiro adulto/ano. Assim, o método químico apresenta-se como o mais eficiente (ARRIGONI et al., 1989). Os

principais métodos de controle recomendados são inseticidas registrados associados a iscas tóxicas apresentando índices crescentes de eficiência (PINTO, 2006).

Novas estratégias, tais como controle cultural (rotação de cultura, calagem e adubação), controle biológico e plantas resistentes ao ataque de cupins e insetos no geral são medidas, que devem ser estudadas visando o controle dessas pragas (ALMEIDA et al., 1989).

### **3.2 Principais plantas daninhas presentes na lavoura de cana-de-açúcar**

Segundo LORENZI et al. (1994) a cana-de-açúcar como qualquer outra cultura tem sua produtividade reduzida pela presença de plantas daninhas durante o seu desenvolvimento. Tal redução deve-se a competição por nutrientes, água luminosidade e também por hospedar pragas e doenças.

O grupo de plantas daninhas predominantes e a sua abundância variam em função das condições climáticas por ocasião do plantio. Na cana de ano, o período mais quente e chuvoso favorece as gramíneas. Por outro lado, para cana de ano e meio, as condições são inversas, favorecendo as latifoliadas pela menor temperatura e umidade (BLANCO et al., 1979). Para o controle das mesmas os produtos químicos têm sido os mais utilizados, consistindo no uso de herbicidas seletivos para a cultura (VELINI et al., 1992). No entanto, estes produtos podem interferir no desenvolvimento de agentes microbianos usados na cultura.

Originária da Ásia, a *Cyperus rotundus* L. também conhecida como tiririca, é uma das plantas daninhas mais comum na cultura da cana-de-açúcar. Sua reprodução se dá principalmente por bulbos, tubérculos e rizomas. A tiririca apresenta efeito alelopático sobre a brotação da cana, sendo que acima de 60 dias de interferência podem ocorrer perdas significativas comprometendo a produção (AREVALO, 1973). Seu controle é realizado através da aplicação de herbicidas ou ainda pela aplicação de bioherbicidas (MELLO et al., 2003).

A *Digitaria horizontalis* (Willd.) ou capim colchão, é uma planta daninha anual, sua reprodução ocorre principalmente por sementes, é uma planta de clima tropical.

Sabe-se que é uma espécie de planta cujas sementes podem permanecer por muito tempo no campo formando um verdadeiro banco de sementes, trazendo sérios problemas para eventual controle. Segundo COSTA et al. (2004) para controle dessa planta daninha tem-se utilizado o glifosato, e sabe-se que o mesmo não afeta a produção de esporos de *M. anisopliae*, sugerindo a compatibilidade entre o fungo e o herbicida.

Dentre as plantas daninhas presentes no agroecossistema da cultura da cana-de-açúcar, pode-se destacar *Commelina benghalensis* L. e as espécies pertencentes à família Convolvulaceae. A espécie *C. benghalensis* é uma planta perene, semiprostrada, com caules suculentos de 0,30 a 0,70 m de altura, que se dissemina por sementes na parte aérea e apresenta uma característica peculiar: a reprodução por sementes formadas nos rizomas a partir de folhas modificadas (KISSMANN, 1997). As convolvuláceas, principalmente as pertencentes aos gêneros *Ipomoea* e *Merremia*, além de competirem com a cana-de-açúcar, principalmente em áreas de colheita sem queima prévia, podem interferir nas práticas culturais, especialmente na colheita mecanizada, reduzindo sua eficiência (AZANIA et al., 2002).

Estudos realizados por diferentes autores demonstraram que algumas espécies de plantas daninhas, predominantes na cultura de cana-de-açúcar, apresentam comportamento diferenciado em função da quantidade de palha depositada sobre o solo. Plantas daninhas normalmente consideradas importantes nessa cultura, como *Brachiaria decumbens* (Stapf), *Brachiaria plantaginea* (Hitchc), *Panicum maximum* (Jacq.) e *D. horizontalis* (Willd.), podem ser eficientemente controladas pela presença de 15 t ha<sup>-1</sup> de palha (VELINI et al., 2000). O mesmo não ocorre com *Ipomoea grandifolia* (L.) e *Euphorbia heterophylla* (L.), cujo controle pela palha é deficiente (MARTINS, 1999).

### 3.3 Maturadores

MUTTON (1993) define o processo de maturação, do ponto de vista agroindustrial, como aquele estágio de desenvolvimento em que a cultura apresenta

melhor produtividade quali-quantitativa de açúcares ou como aquele cuja produtividade agroindustrial e o resultado econômico se encontram maximizados. Um dos métodos adotados para acelerar e melhorar a maturação é o emprego dos maturadores químicos. Conceitualmente, maturadores são produtos químicos que, em sua maioria, pertencem ao grupo dos reguladores de crescimento, que inibindo a alongação dos colmos sem afetar drasticamente a fotossíntese, favorecem a acumulação de açúcares nos tecidos de reserva (CASTRO et al., 2002; LEITE & CRUSCIOL 2008).

O produto comercial Moddus, cujo ingrediente ativo é o etil-trinexapac, é um fitoregulador que, se aplicado corretamente e em época adequada, provoca o acúmulo de sacarose nos colmos, ajudando, assim, o planejamento e a maximização de melhor aproveitamento agroindustrial da cultura de cana-de-açúcar. O etil-trinexapac atua no metabolismo da cana, reduz a produção do ácido giberélico, afeta e alarga as paredes celulares, facilitando maior acumulação de açúcar (SILVA et al., 2007).

Diversos produtos químicos, como o glifosato, etil-trinexapac, paraquat, fluzifop-p-butil e ethefon, além do sulfometuron-metil, estão registrados no Brasil para o uso como maturadores ou reguladores de crescimento vegetal. Destes, o mais tradicional é o ethephon, que reduz o florescimento, aumenta os teores de sacarose e não propicia a morte da região apical e promove apenas uma redução de crescimento no entrenó em formação no momento da aplicação (CASTRO, 2002).

### **3.4 Agentes microbianos usados na cultura da cana-de-açúcar**

Os canaviais apresentam muitas espécies de insetos, doenças causadas por fungos e bactérias, assim como a presença de algumas plantas daninhas causando sérios prejuízos econômicos. Por isso deve-se buscar 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 economicamente importantes, pois permitem utilizar defensivos agrícolas seletivos a fungos entomopatogênicos (MOURÃO et al., 2003).

As populações de insetos de importância econômica tem sido controladas basicamente por meio de produtos fitossanitários sintéticos, mas essa prática representa grandes problemas quando utilizada indiscriminadamente, pois causa efeitos prejudiciais ao meio ambiente, ao homem e também aos inimigos naturais das pragas agrícolas (CAVALCANTI et al., 2002).

Para o controle da broca-da-cana e da cigarrinha-das-raízes, pragas que atacam a cultura da cana-de-açúcar tem-se utilizado microrganismos entomopatogênicos como o fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* (MENDONÇA & MENDONÇA, 2005, ALMEIDA, 2003). Porém, é muito comum ainda a aplicação de inseticidas químicos visando o controle de alguns insetos na lavoura (OHASHI et al., 1983).

Os fungos entomopatogênicos podem ser inibidos por agroquímicos o que compromete o manejo integrado (FERNANDES e BENDA, 1985). O controle integrado, com a utilização de produtos fitossanitários seletivos desde inseticidas, herbicidas e fungicidas em conjunto com os fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico, pode ser uma estratégia segura e eficiente (LOUREIRO et. al., 2002).

A busca por defensivos mais seletivos para a utilização em lavouras é necessária para que eles não eliminem ou diminuam a ação dos inimigos naturais, ou até mesmo provoquem uma interação sinérgica quando utilizados em associação com os microrganismos entomopatogênicos, contribuindo assim, para maior controle da praga (CAVALCANTI et al., 2002).

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2007, 2008. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP.

ALMEIDA, J.E.M. Resultados do controle biológico da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar com *Metarhizium anisopliae*. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO – RIFIB, 9, 2003, Catanduva, SP. **Anais...**, 2003, p. 32-41.

ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; LOPES, R. B. Controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) com iscas termitrap impregnadas com inseticidas e associadas ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, n.4, 1998.

ALMEIDA, L. C., J. L. PETRI & IGLESIAS, A. C. Flutuação populacional e avaliação de danos por cupins em parcelas tratadas com diferentes inseticidas. **Boletim Técnico Copersucar**, v.46, p.37-43, 1989.

ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J. E. M. **Produtos fitossanitários e entomopatógenos**. In: ALVES, S.B. (Ed). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998, Cap.8, p.217-238.

AREVALO, R. A.; CERRIZUELLA, E. A.; SOLDATI, A. A. Competência de malezas específicas em cana planta. I - *Cyperus rotundus* L. **Malezas y control** (ASAM), v.3, n.1, p. 59-75, 1974.

ARRIGONI, E. B., L. C. ALMEIDA, P. KASTEN JR. & A. A. C. M. PRECETTI. Distribuição de espécies de cupins, em cana-de-açúcar, em unidades cooperadas das regiões de Jaú e Sertãozinho. **Boletim Técnico Copersucar**, v.48, p.38-47, 1989.

AZANIA, A.A.P.M.; AZANIA, C.A.M.; GRAVENA, R.; PAVANI, M.C.M.D.; PITELLI, R.A. Interferência da palha de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) na emergência de espécies de plantas daninhas da família convolvulaceae. **Planta Daninha**, Viçosa, v.20, n.2, p.207-212, 2002.

BENTO, J. M. S. **Migdolus**: biologia, comportamento e controle. Salvador, 1995, p.58.

BLANCO, H. G.; OLIVEIRA, D. A.; ARAÚJO, J. B. M. Competição entre plantas daninhas e a cultura da cana-de-açúcar. 1 Período crítico de competição produzido por

uma comunidade natural de dicotiledôneas em cultura de ano. **Biológico**, São Paulo, v. 45, n. 7/8, p.131-140, 1979.

BUCKERIDGE, M. Cana-de-açúcar, Seqüestro de Carbono e Efeito Estufa. **Revista Eco**, n.21, p.133, 2008.

CARNEIRO, J. S. **Toxidade de defensivos agrícolas sobre os fungos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.** Piracicaba, 1971, p.78. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

CAVALCANTI, R. S., A. MOINO JR., G. C. SOUZA & ARNOSTI, A. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropatrina, imidacloprid, 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.

CASTRO, P. R .C.; ZAMBON, S.; SANSÍGOLO, M. A.; BELTRAME, J. A.; NOGUEIRA, M.C.S. Ação comparada de ethrel, fuzilade e roundup, em duas épocas de aplicação, na maturação e produtividade da cana-de-açúcar, variedade SP 70-1143. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.77, n.1, p.23-38, 2002.

CASTRO, P. R. C. Efeitos da luminosidade e da temperatura na fotossíntese e produção e acúmulo de sacarose e amido na cana-de-açúcar. **STAB**, Piracicaba, v.20, n.5, p.32-33, 2002.

COSTA, E. A. D.; MATALLO, M. B.; LOUREIRO, SANO, E. S. A. Efeito de herbicidas utilizados em cana-de-açúcar no desenvolvimento in vitro do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Revista Ecotoxicológica e Meio Ambiente**, Curitiba, v.14, p.19-24, 2004.

**COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS:** Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. 6.ed. São Paulo: Andrei, 1999, 672p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br) – Acesso em 15/06/2010.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; FERREIRA, J, M.G.; GARCIA JR, C. A.; COELHO, A. L.; GIL, M. A. Efficiency of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) on Sugarcane Root Froghopper *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.6, n.33, p.743-749, 2004.

FERNANDES, A. C.; BENDA, G. T. A. Distribution patterns of Brix and fibre in the primary stalk of sugar cane. **Sugar Cane**, v.5, p. 8-13, 1985.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMI, J. D.; MARCHINI, L. R.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. In: \_\_\_\_\_. Cana-de- Açúcar, Piracicaba, FEALQ, 2002, v.10, p.456.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF Brasileira, 1997. v. 1. p. 393-401.

LANZA, L.M. **Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* sob ação de fatores abióticos do solo**. Jaboticabal, 2004, p.2. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

LEITE, G. H. P.; CRUSCIOL., C.A.C. Reguladores vegetais no desenvolvimento e produtividade da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.8, p.995-1001, 2008.

LORENZI, H. J.; BRUNELLI NETO, V.; OLIVEIRA, J.E. Estudo do efeito herbicida oxyfluorfen, aplicado em pré-emergência, sobre o crescimento e produtividade da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) cv. São Paulo 71-6163. **STAB**, Piracicaba, v.12, p.25-26, 1994.

LOUREIRO, E. de S.; MOINO JR., ARNOSTI, A.; SOUZA, de G. C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.2, p.263-269, 2002.

MARTINS, D. Emergência em campo de dicotiledôneas infestantes em solo coberto com palha de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, v.17, n.1, p. 151-161, 1999.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, C. R.; OLIVEIRA, C.; HATANO, L. Avaliação do efeito pesticidas no crescimento micelial de *Cercospora caricis*. **Comunicado Técnico**, n.94, Brasília, 2003.

MENDONÇA, A.F. & MENDONÇA, I.C.B.R. Cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). In: MENDONÇA A.F. (ed.) **Cigarrinhas da cana-de-açúcar, Controle biológico**. p. 95-140, 2005.

MOURÃO, S.A.; VILELA, E.F.; ZANUNCIO, J.C.; ZAMBOLIM, L.; TUELHER,E. Selectivity of Inseticides and Fungicides to the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.1, n.32, p.103-106, 2003.

MUTTON, M. A. Modo de ação do sal de isopropilamina de N-(fosfonometil) glicina (glifosate) e efeito maturador na cana-de-açúcar. In: SEMINÁRIO ROUNDUP EFEITO MATURADOR, v.1, 1993, Guarujá. **Anais...** p. 9-17.

NASTARI, P.M., COELHO, S.T.; LORA, B.A.; MONTEIRO, M.B.C.A. A expansão anunciada: A expansão industrial no setor sucroalcooleiro. **Revista Opiniões**, São Paulo, Out. 2006.

NOVARETTI, W. R. T. Controle de cupins em cana-de-açúcar através do emprego de inseticidas de solo. **Boletim Técnico Copersucar**, Piracicaba, v.33, p.39-44, 1985.

OHASHI, O. S., ALVES, S.B.; GALLI, J. C. Efeito tóxico de inseticidas usados em cana-de-açúcar sobre o *Metarhiziumanisopliae* (Metsch.) Sorok. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, n.8, p. 77-81, 1983.

OLIVEIRA, M. H. M. Metodologias empregadas para análise de resíduos de pesticidas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, 1994, Londrina, **Anais...**Londrina, 1994, p.17.

PINTO, A. de S.;PARRA R.P.J.; OLIVEIRA, H.N.; ARRIGONE, D.B.E. Comparação de técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, n.2, p.311-318, 2003.

SANTOS, A. L. L. **Influência de alguns fatores no crescimento, germinação e produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin.** 1978. 148f. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1978.

SILVA, M. A.; GAVA, G. J. C.; CAPUTO, M. M.; PINCELLI, R. P.; JERÔNIMO, E. M.; CRUZ, J. C. Uso de reguladores de crescimento como potencializadores do perfilhamento e da produtividade de cana-soca. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.4, p.545-552, 2007.

SCHEUNERT, I. Transformation and degradation of pesticides in soil – role of soil microorganisms. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3, Londrina, **Anais....** Londrina, 1994, p.16.

**UNICA** - União das Indústrias Canavieiras de São Paulo, 2005 em <http://www.unica.com.br>, acesso em 07/02/2010.

**UNICA** - União das Indústrias Canavieiras de São Paulo, 2010 em <http://www.unica.com.br>, acesso em 07/02/2010

VELINI, E.D.; FREDERICO, L.A.; MORELLI, J.L.; MARABAIASHI, O.M. Avaliação dos efeitos de doses de herbicida clomazone, aplicado em pós-emergência inicial, sobre crescimento e produtividade de soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* cv. SP 71-1406. **STAB**, Piracicaba, v.10, p.13-16, 1992.

VELINI, E. D.; NEGRISOLI, E. Controle de plantas daninhas em cana crua. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22., 2000, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, Viçosa, 2000. p. 148-164.

## CAPÍTULO 2 - SUSCETIBILIDADE DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS A AGROQUÍMICOS USADOS NO MANEJO INTEGRADO DA CANA-DE-AÇÚCAR

**RESUMO** - Os agroquímicos empregados no manejo da cana-de-açúcar podem afetar a ação de fungos entomopatogênicos usados no controle biológico de pragas da cultura. Este trabalho teve por objetivo investigar se os inseticidas, herbicidas e maturadores utilizados no manejo da cana-de-açúcar têm efeito tóxico sobre os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Foram utilizados os inseticidas thiametoxan (Actara<sup>®</sup>) aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) e fipronil (Regent<sup>®</sup>), os herbicidas imazapir (Arsenal<sup>®</sup>), diuron (Karmex<sup>®</sup>), Metribuzin (Sencor<sup>®</sup>), hexazinone+diuron (Velpar-K<sup>®</sup>), clomazone+ametrina (Sinerge<sup>®</sup>), 2,4 diclorofenoxiacético (2,4 DMA<sup>®</sup>) e glifosato (Glifosato<sup>®</sup>), e os maturadores etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>), sulfometurom-metílico (Curavial<sup>®</sup>) e glifosato (Round up<sup>®</sup>). Os fungos foram cultivados em meio de cultura (BDA) contendo os agroquímicos. Avaliou-se o crescimento, a produção e viabilidade dos conídios, e com os dados obtidos fez-se a avaliação da toxicidade dos agroquímicos. O inseticida à base de thiametoxan foi considerado compatível, pois não afetou o crescimento, a produção e a viabilidade dos conídios de ambos os fungos. O inseticida formulado com fipronil se mostrou parcialmente tóxico para os fungos, sendo considerado moderadamente compatível, enquanto o aldicarbe foi considerado tóxico. Os herbicidas avaliados afetaram o crescimento, a produção e a viabilidade dos conídios dos entomopatógenos e foram classificados como tóxicos, mas aqueles formulados com imazapir, glifosato e metribuzim foram considerados compatíveis. Entre os agroquímicos usados como maturadores apenas o glifosato foi classificado como compatível. Os resultados mostraram que a maior parte dos agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar tem efeito tóxico sobre *B. bassiana* e *M. anisopliae*, podendo comprometer sua ação como bioagentes de controle de pragas da cultura.

**Palavras-chave:** controle biológico, fungo entomopatogênico, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, entomopatógenos, compatibilidade.

## SUSCEPTIBILITY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI TO AGROCHEMICALS USED IN INTEGRATED MANAGEMENT OFF SUGAR CANE.

**ABSTRACT** - The agrochemicals used in handling of sugar cane can affect the action of entomopathogenic fungi used for biological control of pests. The objective of this work was to investigate if the insecticides, herbicides and ripeners used in handling of sugar cane have toxic effect on the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. The insecticides used were thiametoxan (Actara<sup>®</sup>) aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) and fipronil (Regent<sup>®</sup>), herbicides imazapir (Arsenal<sup>®</sup>), diuron (Karmex<sup>®</sup>), metribuzin (Sencor<sup>®</sup>), hexazinone+diuron (Velpar-K<sup>®</sup>), clomazone+ametrina (Sinerge<sup>®</sup>), 2,4 diclorofenoxiacético (DMA<sup>®</sup>) and glifosato (Glifosato<sup>®</sup>), the ripeners etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>), sulfometurom-metílico (Curavial<sup>®</sup>) and glifosato (Round up<sup>®</sup>). The fungi were grown in potato dextrose agar medium containing chemical pesticide. Growth, production and viability of conidia had been evaluated, and it was made the evaluation of the toxicity of the chemical pesticides according to the data collected. The thiametoxan insecticide was considered compatible, because it did not affect the growth, production and conidial viability of both fungi. The fipronil insecticide was partially toxic to the fungi, being considered moderately compatible, whereas aldicarbe was considered toxic. Most of the evaluated herbicides affected the growth, production and conidial viability of both entomopathogenic fungi and were classified as toxic, but those formulated with imazapir, glyphosate and metribuzim were considered compatible. Among the ripeners analyzed only glyphosate was classified as compatible. The results demonstrate that most of agrochemicals used in handling of sugar cane, has toxic effect on the fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae*, which can compromise its action as bioagents of pest control.

**Key words:** biocontrol, entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, entomopathogenic, compatibility.

## 1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar tem especial significado econômico para o Brasil, que lidera a lista dos 80 países produtores garantindo 25% da produção mundial. No país são cultivados aproximadamente 6 milhões de hectares que produzem mais de 569 milhões de toneladas de cana-de-açúcar (ÚNICA, 2010). A cultura tem sua produtividade reduzida pela presença de plantas daninhas durante o seu desenvolvimento. Tal redução deve-se a competição por nutrientes, água, luminosidade e também por hospedar insetos-praga e agentes fitopatogênicos (LORENZI et al., 1994). Quando atingem a fase adulta as mesmas entrelaçam aos colmos e folhas interferindo nas práticas culturais e na colheita (AZANIA et al., 2002).

Para o controle das plantas daninhas têm sido utilizados produtos químicos, consistindo no uso de herbicidas seletivos para a cultura (VELINI et al., 1993). No entanto, esses produtos podem interferir no desenvolvimento de agentes microbianos usados na cultura para o controle de insetos-praga. A ação de plantas daninhas e insetos diminuem a produtividade dos canaviais. Uma forma de reduzir os impactos causados por estes agentes é a utilização de maturadores, que inibindo a elongação dos colmos sem afetar drasticamente a fotossíntese, favorecem a acumulação de açúcares nos tecidos de reserva (CASTRO et al., 1996).

Com a expansão do sistema de colheita mecanizada (cana-crua) no estado de São Paulo a cigarrinha-da-raíz *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae) tornou-se a principal praga de solo da cultura da cana-de-açúcar (BATISTA FILHO et al., 1997). As ninfas atacam as raízes e são de difícil controle por inseticidas químicos. Devido a sua frequente ocorrência e ampla distribuição nos canaviais paulistas, essa praga pode reduzir a produção em até 40% (LEITE et al., 2003). O controle biológico tem sido um método bastante explorado no controle da cigarrinha da raiz, principalmente com o fungo *Metarhizium anisopliae*, patógeno de ocorrência natural que vem sendo aplicado para o controle da praga (ALVES et. al, 1998).

A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) é uma das principais pragas desta cultura e causa prejuízos diretos como a

abertura de galerias que vão ocasionar perda de peso na cana e provocar a morte das gemas, causando falhas na germinação. Quando a infestação não é grande tem se utilizado o fungo *Beauveria bassiana* para seu controle (GALLO et al., 2002).

O emprego de microrganismos entomopatogênicos e de pesticidas em geral exige conhecimento da ação desses produtos sobre os fungos para determinar sua compatibilidade e viabilidade das estruturas reprodutivas. Essa interação deve ser avaliada antes da recomendação de determinado agente químico, desempenhando papel importante no manejo integrado de pragas (BATISTA FILHO et al., 2001). O controle integrado com a utilização de agroquímicos seletivos como inseticidas e herbicidas, em conjunto com os fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico, pode ser uma estratégia segura e eficiente (LOUREIRO et al., 2002). No entanto, alguns agroquímicos podem ter efeito tóxico sobre os fungos entomopatogênicos comprometendo sua ação no controle de pragas e também o uso em uma estratégia de manejo integrado.

Portanto, este trabalho teve por objetivo investigar se os inseticidas, herbicidas e maturadores utilizados no manejo da cana-de-açúcar têm efeito tóxico sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* usados no controle de pragas da cultura.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Fungos e agroquímicos utilizados**

Foram utilizados os isolados E9 de *Metarhizium anisopliae* e IBCB66 de *Beauveria bassiana* mantidos na coleção do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Produção Vegetal da FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP. Os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura de batata, dextrose e ágar (BDA), acondicionadas em estufa a  $27 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , em ausência de luz, durante 12 dias. Os agroquímicos utilizados, com diferentes ingredientes ativos, foram empregados em volume adequados aos ensaios e preparados proporcionalmente as recomendações de seus fabricantes (Tabela 1).

Tabela 1. Inseticidas, herbicidas e maturadores usados na cultura da cana-de-açúcar e avaliados quanto a compatibilidade com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Grupo químico	Dose	
<b>Inseticidas</b>				
Regent WG 800	Fipronil	Pirazol	200 g ha <sup>-1</sup>	
Actara	Thiamethoxan	Neonicotinóide	1000 g ha <sup>-1</sup>	
Temik 150	Aldicarbe	Metilcarbamato oxima	1,5 kg ha <sup>-1</sup>	
<b>Herbicidas</b>				
			DRPE	DRPO
Velpar-K	Hexazinone+Diuron	Triazinas+uréias	1,8 kg ha <sup>-1</sup>	3,0 kg ha <sup>-1</sup>
Karmex	Diuron	Uréia substituídas	3,2 L ha <sup>-1</sup>	6,4 L ha <sup>-1</sup>
Sinerge	Clomazone+			
	Ametrina	Isoxazolidionas	5,0 L ha <sup>-1</sup>	6,0 L ha <sup>-1</sup>
DMA	Sal de Dimetilamina	Organoarsenicais	1,5 L ha <sup>-1</sup>	3,5 L ha <sup>-1</sup>
Sencor	Metribuzin	Triazinonas	1,5 L ha <sup>-1</sup>	2,0 L ha <sup>-1</sup>
Arsenal	Imazapir	Imidazolinonas	4,0 L ha <sup>-1</sup>	10 L ha <sup>-1</sup>
Glifosato	Glifosato	Derivado da glicina	3,0 L ha <sup>-1</sup>	6,0 L ha <sup>-1</sup>
<b>Maturadores</b>				
Round up	Glifosato	Derivado da glicina	0,7 L ha <sup>-1</sup>	
Curavial	Sulfometurom-Metílico	Sulfoniluréia	20 g ha <sup>-1</sup>	
Moddus	Etil-trinexapac	Dioxociclohexano-carboxilato de etila	1,0 L ha <sup>-1</sup>	

Fonte: Compêndio de defensivos agrícolas, 1999. DRPE: dose recomendada em pré-emergência; DRPO: dose recomendada em pós-emergência.

Foram usadas doses recomendadas (DR) pelos fabricantes dos inseticidas e subdosagens destas (90, 80, 70, 60 e 50% da DR) visando um possível uso associado. Para herbicidas foram usadas as doses recomendadas em pré-emergência (DRPE), em pós-emergência (DRPO) e mais 50% e 100% destas doses respectivamente. As duas primeiras são as doses habituais aplicadas no campo e as demais foram utilizadas para expor os fungos a grandes concentrações dos agroquímicos, considerando a possibilidade de sobreposição de aplicações. Para maturadores foi utilizada somente a dose recomendada (DR).

## **2.2 Cultivo dos fungos em meio contendo os agroquímicos**

Após a obtenção das colônias dos fungos, os mesmos foram inoculados em meio BDA contendo as devidas concentrações dos agroquímicos. As doses foram adicionadas ao meio de cultura na temperatura entre 45 e 50°C, evitando alterações das propriedades químicas dos produtos avaliados. A inoculação foi realizada por picada em ponto central da placa de Petri. Em seguida os fungos foram incubados em estufa a  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por 15 dias, em ausência de luz.

## **2.3 Avaliação do crescimento, esporulação e da viabilidade dos fungos**

A avaliação do crescimento foi realizada no 15º dia após a inoculação do fungo, medindo-se, em milímetros, dois diâmetros perpendiculares da colônia previamente marcados na parte externa do fundo da placa de Petri. Cada placa correspondeu a uma repetição.

A produção de conídios foi avaliada coletando-se de cada placa (repetição) uma amostra do centro, uma da parte mediana e outra da periferia da colônia com auxílio de um anel metálico esterilizado de 8 mm de diâmetro, no 15º dia de incubação. Estas amostras foram transferidas individualmente para tubos de ensaio contendo 10 mL de uma mistura (1:1) de solução de NaCl (0,88%  $\text{pv}^{-1}$ ) e Tween 80<sup>®</sup> (0,1%  $\text{vv}^{-1}$ ) esterilizada. 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.

A viabilidade dos conídios foi avaliada através de microcultivo e exame direto em lâmina ao microscópio. Lâminas de microscopia esterilizadas foram recobertas com fina camada de BDA contendo os diferentes agroquímicos nas concentrações já descritas. Na parte inferior de cada lâmina foram marcados três campos e sobre o meio de cultura foi inoculado em cada ponto 0,05 mL de suspensão fúngica contendo  $10^5$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . As lâminas foram mantidas a  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , em ausência de luz, durante 15 horas. Foram observados 150 conídios em cada campo, contando-se os germinados (aqueles que

apresentaram tubo germinativo com tamanho igual ou maior que o do conídio) e os não germinados, estabelecendo-se uma porcentagem. Utilizou-se um microscópio com 250 aumentos para *M. anisopliae* e 400 aumentos para *B. bassiana* e cada lâmina correspondeu a uma repetição.

#### **2.4 Avaliação da toxicidade dos agroquímicos.**

Para a determinação do efeito tóxico dos produtos foi utilizada a fórmula proposta por ALVES et al. (2007), utilizando os parâmetros crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade. Utilizou-se a seguinte expressão matemática:

$$IB = 47(CV) + 43(ESP) + 10(GER) / 100,$$

onde: 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;

GER = Porcentagem de germinação dos conídios após 15 horas, em relação à testemunha.

Não foram utilizadas casas decimais para o cálculo do IB. De acordo com os valores obtidos, foi realizada uma comparação com os limites estabelecidos por ALVES et al. (2007) para determinação da toxicidade dos produtos estudados, como segue: 0 a 41 – tóxico; 42 a 66 – moderadamente compatível; >66 – compatível.

#### **2.5 Análise estatística**

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para crescimento foram utilizadas 5 repetições e para produção de conídios e viabilidade foram utilizadas 3 repetições. Para a execução das análises usou-se o programa ESTAT (1994).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Efeito dos inseticidas sobre o crescimento, produção e viabilidade dos conídios dos fungos.

O inseticida a base de aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) afetou substancialmente o desenvolvimento de ambos os fungos, pois não houve crescimento, produção e germinação dos conídios de *B. bassiana* e de *M. anisopliae* em todas as doses avaliadas do inseticida. Este resultado é semelhante ao obtido por TAMAI et al. (2002) que, utilizando inseticidas pertencentes ao mesmo grupo químico de aldicarbe, verificaram serem os mesmos muito tóxicos ao fungo *B. bassiana*.

O crescimento de *B. bassiana* foi afetado pelo inseticida formulado com fipronil (Regent<sup>®</sup>), sendo que no 15º dia de cultivo se observou uma redução significativa em relação a testemunha, a partir da dose de 80% da DR. Tanto a produção de conídios como a viabilidade dos fungos foram afetados pelo inseticida, sendo que o efeito foi maior em função do aumento da dose (Tabela 2). Tal resultado está congruente com o encontrado por MOINO JR. e ALVES (1998) que verificaram reduções no crescimento e produção de conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* submetidos a ação de fipronil. No entanto, *B. bassiana* foi pouco afetado pelo inseticida à base de thiametoxan (Actara<sup>®</sup>), pois não houve redução do crescimento e da viabilidade em todas as doses avaliadas do inseticida, mas observou-se um pequeno efeito sobre a produção de conídios que diminuiu ligeiramente em função do aumento da dose (Tabela 2).

Efeito semelhante dos inseticidas ocorreu em relação ao fungo *M. anisopliae*. O inseticida formulado com fipronil (Regent<sup>®</sup>) afetou o crescimento, a produção de conídios e a viabilidade onde não se observou o efeito da dose (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento, esporulação e viabilidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em meio de cultura contendo diversas doses dos inseticidas químicos fipronil e thiametoxan.

Inseticida e dose	<i>Beauveria bassiana</i>			<i>Metarhizium anisopliae</i>		
	Crescimento <sup>1</sup> (mm <sup>2</sup> )	Esporulação <sup>1</sup> (n° de con. 10 <sup>8</sup> )	Viab. (%)	Crescimento <sup>1</sup> (mm <sup>2</sup> )	Esporulação <sup>1</sup> (n° de con. 10 <sup>8</sup> )	Viab. (%)
<b>Fipronil</b>						
Testemunha	54,20 a	6,44 a	98,33 a	60,60 a	8,11 a	99,66 <sup>a</sup>
50% da DR	50,20 ab	2,39 b	63,33 b	58,40 b	5,52 b	97,33 <sup>ab</sup>
60% da DR	52,80 ab	2,40 b	53,33 c	58,00 bc	4,62 c	96,66 <sup>b</sup>
70% da DR	52,20 ab	1,62 c	53,66 c	56,80 cd	4,48 cd	96,33 <sup>b</sup>
80% da DR	47,40 b	1,84 bc	53,66 c	55,60 d	3,85 de	96,00 <sup>b</sup>
90% da DR	41,00 c	0,71 d	49,33 c	53,20 e	4,92 bc	95,33 <sup>b</sup>
100% da DR	39,00 c	0,61 d	42,00 d	50,40 f	3,67 e	95,00 <sup>b</sup>
Teste F	24,46**	228,01**	254,66**	158,79**	107,23**	7,63**
CV (%)	5,62	9,85	3,38	1,09	4,98	1,01
<b>Thiametoxan</b>						
Testemunha	50,40 a	3,42 a	100,00 a	55,60 a	4,63 a	99,33 a
50% da DR	50,30 a	3,32 a	99,00 a	55,50 a	4,61 a	99,31 a
60% da DR	50,25 a	3,28 ab	98,66 a	55,43 a	4,62 a	98,66 a
70% da DR	50,17 a	3,13 bc	99,33 a	55,30 a	4,63 a	99,00 a
80% da DR	50,10 a	3,10 bc	93,66 a	55,15 a	4,60 a	93,66 a
90% da DR	50,10 a	3,05 c	92,33 a	55,10 a	4,61 a	93,66 a
100% da DR	50,00 a	3,02 c	97,00 a	55,00 a	4,60 a	95,33 a
Teste F	1,42 ns	15,46**	1,94 ns	2,43 ns	2,35 ns	2,07 ns
CV (%)	0,68	2,09	2,69	1,67	1,54	3,31

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ); <sup>1</sup>Após 15 dias de cultivo a  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em ausência de luz; Viab.: viabilidade após 15 horas de cultivo  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em ausência de luz; DR: dose recomendada; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade;

Contudo, *M. anisopliae* não foi afetado pelo inseticida a base de thiametoxan (Actara<sup>®</sup>), pois não houve redução significativa do crescimento, produção e viabilidade dos conídios em nenhuma dose avaliada do inseticida (Tabela 2). Vários autores avaliaram a compatibilidade de *M. anisopliae* e também de *B. bassiana* com o thiamethoxan (BATISTA FILHO et al., 2001; LOUREIRO, et al., 2002, NEVES, et al.,

2001) e não encontram efeito tóxico do inseticida sobre os fungos, resultado também obtido neste trabalho.

O fipronil é um inseticida que age nas células do sistema nervoso do inseto como inibidor do complexo receptor do ácido aminobutírico, que inibe a entrada de íons Cl<sup>-</sup> o qual hiperpolariza a célula levando-a a morte (OMOTO, 2000). Tal mecanismo pode também ter atuado sobre as células fúngicas afetando os entomopatógenos.

Nos insetos o thiametoxan impede a ação da enzima acetilcolinesterase nas células do sistema nervoso, causando hiperexcitabilidade deste sistema e provocando a morte do inseto (OMOTO, 2000). Essa ação metabólica não ocorre nas células de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, e conseqüentemente os fungos não foram inibidos na presença do inseticida.

### **3.2 Avaliação da toxicidade dos inseticidas e sua compatibilidade com *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.**

O inseticida à base de thiametoxan (Actara<sup>®</sup>) apresentou os maiores valores do índice biológico e foi considerado compatível com os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae* quando utilizado nas doses avaliadas (Tabela 3).

Este resultado está de acordo com os obtidos por ALVES et al. (1998), BATISTA FILHO et al. (2001) e NEVES et al. (2001) que avaliaram a compatibilidade de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sob ação do inseticida thiametoxan (Actara<sup>®</sup>) classificando este inseticida como compatível com os entomopatógenos. O inseticida a base de fipronil (Regent<sup>®</sup>) foi considerado moderadamente compatível com *B. bassiana* e compatível com *M. anisopliae*, porém o inseticida a base de aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) não foi compatível com ambos os fungos em nenhuma das doses avaliadas sendo tóxico aos microrganismos estudados (Tabela 3).

Numa possível estratégia de introdução conjunta desses fungos com inseticidas químicos (controle associado), deve-se dar prioridade ao uso de produtos que mostraram ser menos prejudiciais e, portanto, mais seletivos. Os estudos *in vitro* têm a vantagem de expor ao máximo o microrganismo a ação do produto químico, fato que

provavelmente não ocorre em condições de campo, onde vários fatores servem de obstáculo a essa exposição.

Tabela 3. Índice biológico e classificação dos inseticidas quanto a toxicidade aos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* de acordo com as doses utilizadas.

Dose	<i>Beauveria bassiana</i>			<i>Metarhizium anisopliae</i>		
	Fipronil	Thiametoxan	Aldicarbe	Fipronil	Thiametoxan	Aldicarbe
Índice biológico (%)						
Testemunha	100	100	100	100	100	100
50% da DR	66	98	0	82	96	0
60% da DR	65	98	0	80	93	0
70% da DR	63	96	0	79	92	0
80% da DR	57	94	0	79	90	0
90% da DR	45	94	0	75	87	0
100% da DR	42	85	0	74	87	0
Classificação toxicológica						
Testemunha						
50% da DR	MC	C	T	C	C	T
60% da DR	MC	C	T	C	C	T
70% da DR	MC	C	T	C	C	T
80% da DR	MC	C	T	C	C	T
90% da DR	MC	C	T	C	C	T
100% da DR	MC	C	T	C	C	T

DR: dose recomendada; C: compatível; MC: moderadamente compatível; T: tóxico

Assim, constatada a inocuidade de um produto em laboratório, espera-se que o mesmo seja seletivo no campo. Por outro lado, a alta toxicidade de um produto *in vitro* nem sempre indica a sua grande toxicidade em campo, mas sim a possibilidade de ocorrência deste efeito tóxico (MOINO JR. e ALVES, 1998).

### 3.3 Efeito dos herbicidas sobre o crescimento, produção e viabilidade dos conídios dos fungos.

Os herbicidas formulados com clomazone+ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) e com 2,4 diclorofenoxiacético (DMA<sup>®</sup>), inibiram o crescimento, a produção e a viabilidade dos conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em todas as doses avaliadas. Tal resultado está de acordo com os obtidos por COSTA et al. (2004) e ANDALÓ et al. (2004) que verificaram reduções significativas no crescimento, esporulação e na viabilidade dos conídios de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, respectivamente, submetidos a ação de 2,4 diclorofenoxiacético. Contudo, esses autores não avaliaram a ação de clomazone+ametrina sobre os fungos.

O crescimento e a viabilidade dos conídios de *B. bassiana* foram pouco afetados pela presença do herbicida à base de imazapir (Arsenal<sup>®</sup>), porém se observou um pequeno efeito nas maiores doses onde houve diferença significativa em relação à testemunha. A produção de conídios foi afetada, sendo que o efeito foi maior em função do aumento da dose, quando comparado com a testemunha (Tabela 4). A viabilidade dos conídios de *M. anisopliae* não foi afetada pelo herbicida à base de imazapir. O crescimento foi pouco afetado, porém a esporulação foi significativamente afetada em relação à testemunha em função do aumento da dose (Tabela 4).

O herbicida imazapir pertence ao grupo químico das imidazolinonas que agem inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), que atua na rota de síntese dos aminoácidos e em poucas horas bloqueia a divisão celular e síntese de DNA levando a planta à morte (HESS, 1994). Tal mecanismo pode influenciar no metabolismo de ambos os fungos, principalmente em função do aumento das doses.

Os herbicidas diuron (Karmex<sup>®</sup>), glifosato (Glifosato<sup>®</sup>) e hexazinone+diuron (Velpar-K<sup>®</sup>) afetaram o crescimento, a produção e a viabilidade dos conídios apresentando efeito semelhante para ambos os fungos (Tabela 4). Estes resultados se assemelham aos obtidos por ANDALÓ et al. (2004) que observaram diminuição significativa no crescimento e produção de conídios de *B. bassiana* quando realizaram experimento *in vitro* com os herbicidas à base de diuron e glifosato.

O crescimento e a viabilidade dos conídios de *B. bassiana* não foram afetados pelo herbicida à base de metribuzin (Sencor<sup>®</sup>), porém se observou redução significativa da esporulação em relação à testemunha (Tabela 4). Efeito semelhante do herbicida

Tabela 4. Crescimento, esporulação e viabilidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em meio de cultura contendo diversas doses dos herbicidas químicos.

Herbicida e dose	<i>Beauveria bassiana</i>			<i>Metarhizium anisopliae</i>		
	Crescimento <sup>1</sup> (mm <sup>2</sup> )	Esporulação <sup>1</sup> (n° de con. 10 <sup>8</sup> )	Viab. (%)	Crescimento <sup>1</sup> (mm <sup>2</sup> )	Esporulação <sup>1</sup> (n° de con. 10 <sup>8</sup> )	Viab. (%)
<b>Imazapir</b>						
Testemunha	50,20 a	3,74 a	99,66 ab	52,40 a	4,18 a	99,66 a
DRPE	50,60 a	2,00 b	100,00 a	50,00 b	2,62 b	98,66 a
DRPE+50%	51,00 a	1,64 b	99,00 bc	50,40 b	2,23 c	97,66 a
DRPO	47,40 b	1,22 c	100,00 a	50,40 b	1,69 d	98,33 a
DRPO+100%	47,00 b	1,23 c	98,33 c	50,20 b	1,29 e	98,66 a
Teste F	31,86**	735,18**	11,75**	14,88**	235,60**	1,68 ns
CV (%)	1,51	3,8	0,36	1,11	5,22	0,97
<b>Diuron</b>						
Testemunha	49,60 a	3,64 a	98,66 a	57,80 a	4,97 a	98,66 a
DRPE	14,20 b	0,16 b	85,00 b	12,40 b	0,192 b	84,66 b
DRPE+50%	11,80 c	0,09 b	77,33 c	10,60 c	0,118 b	79,33 c
DRPO	8,00 d	0,02 b	71,66 d	8,0 d	0,040 b	76,66 cd
DRPO+100%	8,00 d	0,02 b	70,33 d	8,0 d	0,032 b	73,66 d
Teste F	4599,0**	1303,02**	276,98**	3699,26**	2516,69**	124,74**
CV (%)	3,18	9,64	1,15	4,09	7,03	1,84
<b>Glifosato</b>						
Testemunha	48,20 a	3,55 a	100,00 a	62,40 a	6,15 a	99,33 a
DRPE	43,20 b	1,51 bc	97,33 b	53,40 b	3,99 b	97,33 b
DRPE+50%	35,20 c	1,65 b	94,66 c	46,20 c	1,95 cd	98,00 b
DRPO	33,80 c	1,62 b	90,66 d	42,40 d	1,52 d	98,00 b
DRPO+100%	30,60 d	1,37 c	93,00 cd	39,70 d	2,04 c	96,33 c
Teste F	137,45**	549,58**	49,92**	118,18**	353,23**	18,00**
CV (%)	3,62	3,44	0,94	3,87	5,7	0,45
<b>Metribuzim</b>						
Testemunha	49,40 a	3,66 a	100,00 a	53,20 a	4,00 a	99,33 a
DRPE	50,00 a	3,43 ab	99,66 a	50,00 c	3,69 ab	100,00 a
DRPE+50%	50,20 a	3,36 abc	98,66 a	49,80 c	3,13 c	98,66 a
DRPO	49,60 a	3,29 bc	99,00 a	50,20 c	3,34 bc	98,00 a
DRPO+100%	49,40 a	3,09 c	98,66 a	51,40 b	3,23 c	98,00 a
Teste F	1,31 ns	10,05**	1,10 ns	35,93**	21,96**	1,70 ns
CV (%)	0,94	3,35	1,008	1,039	3,84	1,16
<b>Hexazinone+Diuron</b>						
Testemunha	55,40 a	4,13 a	100,00 a	51,40 a	3,73 a	99,66 a
DRPE	27,60 b	0,46 b	64,33 b	26,00 b	0,90 b	76,66 b
DRPE+50%	25,20 c	0,31 b	59,00 c	23,40 c	0,73 b	72,00 c
DRPO	20,60 d	0,11 c	53,66 d	13,60 d	0,25 c	68,66 d
DRPO+100%	15,00 e	0,07 c	52,66 d	9,60 e	0,12 c	49,33 e
Teste F	2915,5**	1687,95**	823,74**	1282,98**	632,95**	772,16**
CV (%)	2,25	7,23	1,79	4,11	8,87	1,53

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ); <sup>1</sup>Após 15 dias de cultivo a  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em ausência de luz; Viab.: viabilidade após 15 horas de cultivo  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em ausência de luz; DRPE: dose recomendada em pré-emergência; DRPO: dose recomendada em pós-emergência; CV: coeficiente de variação; \*\*significativo a 1% de probabilidade; ns: não significativo;

metribuzin ocorreu em relação ao fungo *M. anisopliae*, pois a viabilidade dos conídios não foi afetada. No entanto, o crescimento e a produção de conídios do fungo foram significativamente afetados pelo herbicida em função do aumento da dose (Tabela 4).

Este resultado está de acordo com o obtido por COSTA et al. (2004), que verificaram redução significativa da esporulação de *M. anisopliae* na presença deste herbicida. De modo geral os herbicidas têm a capacidade de agir em pontos específicos da fisiologia das plantas, mas isto não determina que sejam seletivos para *B. bassiana* e *M. anisopliae*.

### **3.4 Avaliação da toxicidade dos herbicidas e sua compatibilidade com *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.**

Os herbicidas imazapir (Arsenal<sup>®</sup>) e metribuzim (Sencor<sup>®</sup>) apresentaram os maiores valores de índices biológicos e foram considerados compatíveis com ambos os fungos em todas as doses avaliadas (Tabela 5).

O herbicida glifosato (Glifosato<sup>®</sup>) foi classificado como compatível com *M. anisopliae* apenas na dose recomendada em pré-emergência e moderadamente tóxico nas demais doses. *Beauveria bassiana* demonstrou ser compatível somente nas doses DRPE e DRPE + 50 % devido apresentar os maiores índices biológicos e as demais doses foram consideradas como moderadamente tóxicas ao fungo (Tabela 5). Este resultado é semelhante ao encontrado por ANDALÓ et al. (2004), que avaliaram a compatibilidade deste herbicida com *B. bassiana*.

Os herbicidas à base de diuron (Karmex<sup>®</sup>) e de hexazinone+diuron (Velpar-K<sup>®</sup>) foram considerados tóxicos para *B. bassiana*. *Metarhizium anisopliae* apresentou pequenos valores de índice biológico para ambos os herbicidas, porém na DRPE este fungo demonstrou ser moderadamente compatível com o herbicida à base de hexazinone+diuron (Tabela 5).

De acordo com a classificação proposta por ALVES et al. (2007), os herbicidas à base de clomazone+ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) e 2,4 diclorofenoxiacético (DMA<sup>®</sup>) foram classificados como tóxicos, em todas as doses utilizadas e para ambos os fungos por

apresentarem valores de índice biológico muito pequenos (Tabela 5). Este resultado é semelhante ao obtido por COSTA et al. (2004) que avaliaram a compatibilidade de *M. anisopliae* com o herbicida 2,4 diclorofenoxiacético (DMA<sup>®</sup>) classificando o como tóxico a este entomopatógeno.

Tabela 5. Índice biológico e classificação dos herbicidas quanto a toxicidade aos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* de acordo com as doses utilizadas.

Herbicida	Índice biológico (%)					Classificação toxicológica				
	Test.	DRPE	DRPE + 50%	DRPO	DRPO +100%	Test.	DRPE	DRPE +50%	DRPO	DRPO +100%
<i>Beauveria bassiana</i>										
Imazapir	100	84	80	71	67	C	C	C	C	C
Diuron	100	28	20	15	14	C	T	T	T	T
Glifosato	100	70	63	62	56	C	C	C	MC	MC
Metribuzin	100	97	95	95	92	C	C	C	C	C
H+D	100	35	30	24	18	C	T	T	T	T
C+A	100	0	0	0	0	C	T	T	T	T
Diclorof.	100	0	0	0	0	C	T	T	T	T
<i>Metarhizium anisopliae</i>										
Imazapir	100	82	78	72	68	C	C	C	C	C
Diuron	100	20	17	14	13	C	T	T	T	T
Glifosato	100	77	58	52	53	C	C	MC	MC	MC
Metribuzin	100	93	90	87	90	C	C	C	C	C
H+D	100	42	37	22	15	C	MC	T	T	T
C+A	100	0	0	0	0	C	T	T	T	T
Diclorof.	100	0	0	0	0	C	T	T	T	T

Test.: testemunha; DRPE: dose recomendada em pré-emergência; DRPO: dose recomendada em pós emergência; H+D: hexazinone+diuron; C+A: clomazone mais ametrina; Diclorof.: diclorofenoxiacético; T: tóxico; MC: moderadamente compatível; C: compatível.

Os resultados obtidos mostraram que a ação dos agroquímicos variou em função de sua natureza química e aumentou de intensidade com o incremento da dose. O modo de ação do ingrediente ativo é possivelmente um dos principais fatores envolvidos no grau de toxicidade dos agroquímicos, e conseqüentemente afeta o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos.

### 3.5 Efeito dos maturadores sobre o crescimento, produção e viabilidade dos conídios dos fungos.

O desenvolvimento de *B. bassiana* e *M. anisopliae* foi substancialmente afetado pelo maturador etil-trinexapac (Moddus®), que inibiu totalmente o crescimento a produção de conídios e a viabilidade de ambos os fungos, em todas as doses avaliadas. Na planta esse maturador atua seletivamente através da redução do nível de giberilina ativa induzindo uma inibição temporária ou redução no ritmo de crescimento, sem afetar o processo de fotossíntese (CASTRO, 1992). Porém, a ação metabólica que provocou a inibição do desenvolvimento fúngico é provavelmente distinta desta.

O maturador à base de sulfometurom-metílico afetou o crescimento, a esporulação e a viabilidade dos conídios de ambos os fungos, mas não os inibiu completamente como o etil-trinexapac (Tabela 6). O herbicida à base de glifosato (Round up®), usado como maturador, não afetou o desenvolvimento de ambos os fungos (Tabela 6). Tal resultado pode ser justificado pela pequena dose utilizada.

Tabela 6. Crescimento, esporulação e viabilidade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em meio de cultura contendo a dose recomendada dos maturadores.

Maturador	<i>Beauveria bassiana</i>			<i>Metarhizium anisopliae</i>		
	Crescimento <sup>1</sup> (mm <sup>2</sup> )	Esporulação <sup>1</sup> n° de con. 10 <sup>8</sup>	Viab. (%)	Crescimento <sup>1</sup> (mm <sup>2</sup> )	Esporulação <sup>1</sup> (n° de con. 10 <sup>8</sup> )	Viab. (%)
<b>Sulfometurom-metílico</b>						
Testemunha	52,40 a	4,80 a	99,20 a	56,40 a	4,52 a	98,60 a
DR	11,80 b	2,61 b	77,40 b	17,40 b	3,75 b	88,40 b
Teste F	2747,27**	5031,21**	950,48**	2112,50**	95,81**	472,91**
CV (%)	3,82	0,97	1,27	3,64	3,01	0,79
<b>Glifosato</b>						
Testemunha	51,00 a	5,38 a	98,50 a	55,60 a	4,61 a	97,80 a
DR	50,60 a	5,30 a	98,20 a	55,20 a	4,57 a	97,60 a
Teste F	1,0 ns	0,16 ns	0,64 ns	1,60 ns	1,38 ns	0,13 ns
CV (%)	1,24	5,95	0,6	0,9	1,41	0,89

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ); <sup>1</sup>Após 15 dias de cultivo a  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em ausência de luz; Viab.: via bidade após 15 horas de cultivo  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em ausência de luz; DR: dose recomendada; CV: coeficiente de variação; ns: não significativo; \*\* significativo a 1% de probabilidade

### 3.6 Avaliação da toxicidade dos maturadores e sua compatibilidade com *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

Os resultados revelaram que os maturadores sulfometurom-metílico (Curavial) e etil-trinexapac (Moddus) não foram compatíveis com *B. bassiana* e *M. anisopliae* enquanto o glifosato se mostrou compatível, quando usado como maturador (Tabela 7).

Não foram encontrados na literatura trabalhos sobre a compatibilidade de ambos os fungos com maturadores. No entanto, dois dos maturadores avaliados neste trabalho se mostraram tóxicos aos fungos, sugerindo que sejam feitas novas investigações para melhor conhecer a ação destes produtos sobre os entomopatógenos.

Tabela 7. Índice biológico e classificação dos maturadores quanto a toxicidade aos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* de acordo com a dose recomendada.

Dose	<i>Beauveria bassiana</i>			<i>Metarhizium anisopliae</i>		
	Etil-trinexapac	Sulfometurom Metílico	Glifosato	Etil-trinexapac	Sulfometurom Metílico	Glifosato
Índice biológico (%)						
Testemunha	100	100	100	100	100	100
DR	0	19	95	0	25	90
Classificação toxicológica						
DR	T	T	C	T	T	C

DR: dose recomendada; T: tóxico; MC: moderadamente compatível; C: compatível.

## 4. CONCLUSÕES

A maior parte dos agroquímicos utilizados no manejo da cana-de-açúcar tem efeito tóxico sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, podendo comprometer sua ação dos mesmo agentes de controle de pragas da cultura. No entanto, os inseticidas formulados à base de thiametoxan e fipronil se mostraram compatíveis ou moderadamente compatíveis com os fungos, sugerindo que possam ser empregados em uma possível estratégia de uso associado para o controle de pragas.

Os herbicidas avaliados neste trabalho têm, em sua maioria, efeito tóxico sobre os entomopatógenos, pois apenas aqueles formulados à base de imazapir e metribuzim se mostraram compatíveis com ambos os fungos. Entre os maturadores analisados somente o glifosato se mostrou compatível com os entomopatógenos.

## 5. REFERÊNCIAS

ALVES, S.B.; HADDAD, M.L.; FAION, M.; DE BAPTISTA, G.C.; ROSSI-ZALAF, L.S. Novo índice biológico para classificação da toxicidade de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 10., 2007, Brasília. **Anais...** Brasília: SOCIEDADE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL/EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 2007, CD-ROM-ID268.

ALVES, S.B.; MOINO JUNIOR, A.; ALMEIDA, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.217-238.

ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, 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.

AZANIA, A.A.P.M.; AZANIA, C.A.M.; GRAVENA, R.; PAVANI, M.C.M.D.; PITELLI, R.A. Interferência da palha de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) na emergência de espécies de plantas daninhas da família convolvulaceae. **Planta Daninha**, Viçosa, v.20, n.1, p.207-212, 2002.

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.; TAKADA, H.M.; LAMAS, C.; RAMIRO, Z.A. Incidência do fungo entomopatogênico *Batkoa apiculata* (Entomophthorales) sobre cigarrinhas das pastagens em Pindamonhangaba, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.64 (Suplemento), p.82, 1997.

CASTRO, P.R.C.; OLIVEIRA, D.A.; PANINI, E.L. Ação do sulfometuron-metil como maturador da cana-de-açúcar. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 6., 1996, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB, 1996, p.363-369.

CASTRO, P.R.C. Fisiologia da cana-de-açúcar. In: ENCONTRO DE CANA-DE-AÇÚCAR, 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1992. p. 5-8.

COSTA, E.A.D.; MATALLO, M.B.; ALMEIDA, J.E.M.; LOUREIRO, E. DE S.; SANO, A.H. Efeito de herbicidas utilizados em cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Pesticidas: ecotoxicologia e meio ambiente**, Curitiba, v.14, p.19-24, 2004.

**COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS:** Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. 6.ed. São Paulo: Andrei, 1999, 672p.

ESTAT - **Sistema de análises estatísticas**. FCAV/Unesp. V. 2.0 (livre), 1994. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download2/softweres/estat/>

GALLO, D.; NAKANO, O., SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; DE BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2002. 649p.

HESS, F.D. Mechanism of action of inhibitors of amino acid biosynthesis. In: **Herbicide action course: summary of lectures**. West Lafayette: Purdue University, 1994. p.10-23.

LEITE, L.G.; MACHADO, L.A.; AGUILLERA, M.M.; RODRIGUES, R.C.D.; NEGRISOLI JUNIOR, A.S. Patogenicidade de *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida) contra ninfas da cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.78, n.1, p.139-148, 2003.

LOUREIRO, E. DE S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G.C. DE. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemos sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.2, p.263-269, 2002.

LORENZI, H.J.; BRUNELLI NETO, V.; OLIVEIRA, J.E. DE. Estudo do efeito do herbicida oxyfluorfen, aplicado em pré-emergência, sobre o crescimento e produtividade da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) cv. SP 71-6163. **STAB**, Piracicaba, v.12, p.25-26, 1994.

MOINO JUNIOR, 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**, Londrina, v.27, p.611-619, 1998.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO JUNIOR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n. 2, p.263-268, 2001.

OMOTO, C. Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Eds.) **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000. p.31-49.

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.

**UNICA:** cana-de-açúcar. Disponível em: [www.unica.com.br](http://www.unica.com.br). Acesso em: 15/1/2010.

VELINI, E.D.; FREDERICO, L.A.; MORELLI, J.L.; MARUBAYASHI, O.M. Avaliação dos efeitos de doses do herbicida clomazone, aplicado em pós-emergência inicial, sobre o crescimento e produtividade de soqueira de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* cv. SP 71-1406). **STAB**, Piracicaba, v.12, p.30-35, 1993.

### **CAPÍTULO 3 - TOXICIDADE DE AGROQUÍMICOS USADOS NA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR AOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *METARHIZIUM ANISOPLIAE* E *BEAUVERIA BASSIANA* NO AMBIENTE DO SOLO.**

**RESUMO** - A toxicidade dos agroquímicos sobre os fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas da cana-de-açúcar, pode ser influenciada pelo solo em que a cultura é implantada. Este trabalho teve por objetivo investigar se inseticidas, herbicidas e maturadores utilizados no manejo da cana-de-açúcar têm efeito tóxico sobre os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* no ambiente do solo. Foram utilizados os inseticidas Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) e Fipronil (Regent<sup>®</sup>), os herbicidas Diuron (Karmex<sup>®</sup>) e Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) e os maturadores Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>), Sulfometurom-metílico (Curavial<sup>®</sup>). Os fungos foram inoculados em solo argiloso e solo arenoso esterilizados, contendo os agroquímicos nas doses recomendadas, de acordo com as seguintes formas de aplicação: T1 – inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do agroquímico; T2 – inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do agroquímico; T3 – inoculação do fungo no solo 48 horas antes da aplicação do agroquímico. Avaliou-se a sobrevivência dos fungos após zero, um, quatro e sete dias de incubação a  $27 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  através do número de unidades formadoras de colônias (UFC) em placa de Petri. O inseticida à base de Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) reduziu a sobrevivência *B. bassiana* e *M. anisopliae* em ambos os tipos de solo, com menor efeito tóxico no solo argiloso, enquanto Fipronil (Regent<sup>®</sup>) pouco afetou a sobrevivência de *B. bassiana* nos dois tipos de solo. A sobrevivência de ambos os fungos foi afetada pela presença no solo de Diuron (Karmex<sup>®</sup>). Para *B. bassiana* a toxicidade foi menor no solo arenoso, sendo que para *M. anisopliae* a ação tóxica do agroquímico foi maior neste mesmo tipo de solo. Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) reduziu a sobrevivência de ambos os fungos nos dois tipos de solo, com menor efeito tóxico no solo argiloso. Os maturadores Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) e Sulfometurom-metílico (Curavial<sup>®</sup>) promoveram a redução das populações dos fungos em ambos os solos, observando-se maior efeito tóxico no solo arenoso. Os resultados mostraram que

os agroquímicos utilizados no manejo da cultura da cana-de-açúcar têm ação tóxica para *M. anisopliae* e *B. bassiana*, em ambos os tipos de solo, mas a toxicidade é menor no solo argiloso. Os fungos diferiram quanto a sensibilidade aos agroquímicos, cujo efeito tóxico foi maior quando a adição no solo ocorreu em momentos próximos a inoculação dos fungos.

**Palavras-chave:** entomopatógenos, controle microbiano, herbicida, inseticida, maturador, solos argiloso e arenoso.

### CHAPTER 3 - TOXICITY OF AGROCHEMICALS USED IN THE CULTURE OF SUGARCANE TO *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* IN SOIL ENVIRONMENT

**ABSTRACT** - The toxicity of agrochemicals for the entomopathogenic fungi used in biological control of sugarcane pests can be affected by the soil where the culture is implanted. This research had the objective to investigate whether insecticides, herbicides and ripeners used in the handling of sugar cane have toxic effects on the fungus *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the soil environment. Were used the insecticides Aldicarbe (Temik®) and Fipronil (Regent®), the herbicides Diuron (Karmex®) and Clomazone+Ametryne (Sinerge®), and the ripeners Ethyl trinexapac (Moddus®) and Sulfometurom-methyl (Curavial®). The fungi were inoculated in clay soil and sandy soil sterile, containing the chemical agrochemicals in the recommended dosages, observing the forms of application: T1 - inoculation of the fungus in soil 1 hour prior to agrochemical application, T2 - inoculation of the fungus in soil 1 hour after agrochemical application, T3 - inoculation of the fungus in the soil 48 hours prior agrochemical application. We evaluated the survival of fungi after zero, one, four and seven days of incubation at  $27 \pm 0.5$  °C by the number of colonies forming units (CFU) in Petri dishes. The insecticide Aldicarbe (Temik®) reduced the survival of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in both soil types, with less toxic effect on the clay soil. The survival of both species was affected by the presence of Diuron (Karmex®) in soil. For *B. bassiana* toxicity was lower in the sandy soil, and for *M. anisopliae* toxic action of the agrochemical was higher in the same soil. Clomazone+Ametryne (Sinerge®) reduced the survival of both fungi in two soil types, with less toxic effect on the clay soil. The ripeners Ethyl trinexapac (Moddus®) and Sulfometurom-methyl (Curavial®) promoted the reduction of populations of fungi in both soils, with a higher toxic effect in the sandy soil. The results showed that the agrochemicals used in handling of sugar cane have toxic action in *M. anisopliae* and *B. bassiana* in both soil types, but the toxicity is lower in

clay soil. The fungi differed in sensitivity to agricultural chemicals whose toxic effect was greater when the addition in the soil occurred at times near the inoculation of fungi.

**Key words:** entomopathogenic, microbial control, herbicide, insecticide, ripener, sand and clay soils.

## 1. INTRODUÇÃO

O solo é um sistema vivo onde ocorrem vários processos biológicos, sendo que os microrganismos desempenham um papel importante na manutenção desse e de outros ecossistemas, como componentes fundamentais das cadeias alimentares e dos ciclos biogeoquímicos. Dentre estes, incluem-se a formação e estruturação de solos, a decomposição da matéria orgânica, a ciclagem de nutrientes e a formação dos gases componentes da atmosfera terrestre (ZILLI et al., 2003).

A utilização de grandes áreas e quantidades expressivas de insumos agrícolas pode afetar a qualidade do solo, sendo as práticas utilizadas questionadas pela comunidade científica quanto à sustentabilidade dos agroecossistemas. O termo qualidade do solo relaciona-se às propriedades biológicas, físicas e químicas do solo, essenciais para manter a produtividade agrícola a longo prazo e com o mínimo possível de impacto negativo (TÓTOLA & CHAER, 2002).

O estado de São Paulo é o maior produtor brasileiro de cana-de-açúcar com uma área cultivada de aproximadamente 3 milhões de hectares. As aplicações de herbicidas na cultura visam facilitar as operações de controle de plantas daninhas, diminuindo as competições por água, luminosidade e nutrientes, melhorando a produção agrícola. Entretanto, suas moléculas podem diminuir as populações de microrganismos benéficos, pois alguns destes agroquímicos podem influenciar diretamente na microbiota do solo (ANDRÉA, 2006).

Devido a competição da cultura com as plantas daninhas uma das alternativas utilizadas para aumento de sacarose é a aplicação de maturadores vegetais, prática que tem se tornado cada vez mais comum no setor sucroalcooleiro (GHELLER, 2001).

Para o controle de pragas usam-se inseticidas químicos. Contudo, a maioria dos insetos de importância para a cultura são pragas de solo como a cigarrinha da raiz [*Mahanarva fimbriolata*, Stal (Hemiptera: Cercopidae)] o cerambicídeo da raiz [*Migdolus fryanus*, Westwood (Coleoptera: Vesperidae)], o bicudo da cana-de-açúcar

[*Sphenophorus levis*, Vaurie (Coleoptera: Curculionidae)] e larvas de escarabeídeos. Esses insetos são de difícil controle por meio de inseticidas químicos o que abre oportunidade para a introdução de novos métodos como o controle microbiano (LEITE et al., 2003).

Os fungos entomopatogênicos estão presentes no solo integrando um ecossistema complexo, com grande variedade de microrganismos importantes para a produção agrícola e têm sido aplicados para o controle de algumas pragas, destacando-se o *M. anisopliae* capaz de promover o controle biológico de forma natural ou quando aplicado nos cultivos agrícolas (MOCHI et al., 2005).

Vários trabalhos conduzidos com a finalidade de analisar a ação dos agroquímicos sobre os fungos entomopatogênicos, encontraram efeito tóxico (ALVES, et al., 1992; POPRAWSHI & MAJCHOWICZ, 1995; NEVES et al., 2001; BATISTA FILHO et al., 2001 e LOUREIRO et al., 2002). No entanto, a maioria desses estudos foi realizada adicionando os agroquímicos ao meio de cultura sintético usado para o crescimento dos fungos. O solo é um ambiente heterogêneo que dificulta a distribuição dos agroquímicos, podendo retê-los parcialmente adsorvidos a alguns de seus componentes, restringindo assim sua ação tóxica (MOCHI et al, 2005). Desse modo, é possível que o efeito tóxico verificado nos ensaios com meio de cultura sintético não se repita quando o agroquímico se encontra no solo.

Portanto, este trabalho teve por objetivo verificar se os inseticidas, herbicidas e maturadores usados na cultura da cana-de-açúcar tem efeito tóxico sobre os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* nas condições do ambiente do solo.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Fungos e agroquímicos utilizados**

Foram utilizados os isolados E9 de *Metarhizium anisopliae* e IBCB66 de *Beauveria bassiana* mantidos na coleção do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Produção Vegetal da FCAV – UNESP, Campus de Jaboticabal/SP.

Os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo o meio de cultura de batata, dextrose e ágar (BDA), acondicionados em estufa à  $27^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , em ausência de luz, durante doze dias.

Obtidas as colônias fúngicas, foram preparadas suspensões de conídios em uma mistura (1:1) de solução de NaCl a 0,89% (p v<sup>-1</sup>) e solução de Tween 80<sup>®</sup> à 0,1% (v v<sup>-1</sup>). Após vigorosa agitação em agitador elétrico de tubos, as suspensões foram padronizadas na concentração de  $2,7 \times 10^7$  conídios mL<sup>-1</sup> (LANZA et al., 2009), com auxílio da câmara de Neubauer.

Os inseticidas, herbicidas e maturadores, com diferentes ingredientes ativos, foram utilizados segundo as respectivas doses recomendadas (DR) pelos fabricantes, e preparados em volumes adequados aos ensaios (Tabela 1).

Tabela 1. Inseticidas, herbicidas e maturadores usados na cultura da cana-de-açúcar e avaliados quanto a toxicidade aos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no ambiente do solo.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Grupo químico	Dose recomendada
<b>Inseticidas</b>			
Regent 800 WG <sup>1</sup>	Fipronil	Pirazol	200 g ha <sup>-1</sup>
Temik 150	Aldicarbe	Metilcarbamato oxima	1,5 kg ha <sup>-1</sup>
<b>Herbicidas</b>			
Karmex	Diuron	Uréia substituídas	3,2 L ha <sup>-1</sup>
Sinerge	Clomazone+Ametrina	Isoxazolidionas	5,0 L ha <sup>-1</sup>
<b>Maturadores</b>			
Curavial	Sulfometurom-metílico	Sulfoniluréia	20 g ha <sup>-1</sup>
Moddus	Etil-trinexapac	Dioxociclohexano-Carboxilato de etila	1,0 L ha <sup>-1</sup>

Fonte: Compêndio de defensivos agrícolas, 1999. <sup>1</sup>Não foi usado no ensaio experimental com *M. anisopliae*.

Esses agroquímicos foram escolhidos por terem sido classificados como tóxico aos fungos em experimentos conduzidos em meio de cultura no laboratório (Capítulo 2).

## 2.2 Solo

Foram utilizados dois tipos de solos coletados nas profundidades de 0 a 20 cm, em matas de preservação ambiental existentes em propriedades agrícolas, como segue: A) Latossolo Vermelho textura argilosa [53% de argila, 18% de silte e 29% de areia], coletado em propriedade agrícola no Distrito de Lusitânia, Município de Jaboticabal, SP (21° 07' 04" S; 48° 16' 44" W), com as seguintes características químicas: pH (CaCl<sub>2</sub>) 6,0; matéria orgânica = 27 g.dm<sup>-3</sup>; P (resina) = 24 mg dm<sup>-3</sup>; K = 4,4 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca = 116 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg = 48 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al = 18 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB = 168,5 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; T = 186,4 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V = 90%; B) Argissolo Vermelho Amarelo textura arenosa média (15% de argila, 7% de silte e 78% de areia), coletado em propriedade agrícola do Município de Monte Alto, SP (21° 21' 02" S; 48° 31' 17" W) apresentando as seguintes características químicas: pH (CaCl<sub>2</sub>) 5,0; matéria orgânica = 27 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; P (resina) = 10 mg dm<sup>-3</sup>; K = 3,2 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca = 35 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg = 12 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H+Al = 47 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; SB = 50,2 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; T = 97,2 mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V = 52%. Os solos foram secos em temperatura ambiente, destorroados e peneirados em peneira com malha de 1mm. Em seguida, foram armazenados em sacos de plástico até a utilização. A capacidade de saturação de água de cada tipo de solo foi determinada antes da execução dos experimentos.

## 2.3 Montagem dos ensaios experimentais e avaliação da sobrevivência dos fungos

Para cada tratamento foram utilizadas quatro placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo 80 gramas de solo. Em toda a extensão da face interna da tampa de cada placa foram fixados, com fita adesiva, dois palitos de madeira para facilitar as trocas gasosas. Em seguida, as placas foram envolvidas por dupla camada de papel de embrulho e autoclavadas a 121°C e 1 Kgf cm<sup>-2</sup> por 1 hora.

Sob câmara de fluxo laminar os solos receberam água destilada esterilizada até atingir 65% da capacidade de campo. Em seguida, permaneceram em repouso durante 1 hora para estabilização. Decorrido esse tempo, aplicou-se os fungos e agroquímicos

nas seguintes formas: Tratamento 1) adicionou-se 2 mL de suspensão de *M. anisopliae* ou de *B. bassiana* na superfície do solo e após 1 hora adicionou-se um dos agroquímicos na superfície do solo; Tratamento 2) adicionou-se um dos agroquímicos na superfície do solo e após 1 hora foi adicionada a suspensão *M. anisopliae* ou de *B. bassiana* na superfície do solo; Tratamento 3) adicionou-se 2 mL de suspensão de *M. anisopliae* ou de *B. bassiana* na superfície do solo e após 48 horas foi adicionado um dos agroquímicos na superfície do solo. Para cada tratamento fez-se um controle, que consistiu da adição de 2 mL da suspensão fúngica e água destilada esterilizada na quantidade correspondente a cada agroquímico. As placas assim preparadas foram pesadas e permaneceram em estufa a  $27 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  no escuro, até o final do ensaio.

A avaliação da sobrevivência dos fungos foi realizada por meio da determinação do número de unidades formadoras de colônias (UFC grama de solo úmido<sup>-1</sup>) nos períodos de 0, 1, 4 e 7 dias de incubação. Antes de cada avaliação as placas foram pesadas e se constatada perda de água este conteúdo foi repostado usando-se água destilada esterilizada. Em seguida, uma amostra de 1,0g de solo (composta de 15 sub amostras de solo úmido), foi colhida na superfície de cada placa e suspensa em 9mL de solução (1:1) de NaCl a 0,89% (p v<sup>-1</sup>) e Tween 80<sup>®</sup> a 0,1% (v v<sup>-1</sup>). A partir da suspensão obtida foram feitas diluições seriadas e das diluições adequadas foram semeados 0,1mL em placas de Petri contendo o meio de JOUSSIER & CATROUX (1976), modificado pela supressão do suco de legumes e oxgall, e incubadas em estufa a  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$  no escuro por um período de 5 dias.

## **2.4 Análise estatística**

Para cada tratamento foram feitas quatro repetições. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para a execução das análises foi usado o programa ESTAT (1997).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O inseticida à base de Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) afetou a sobrevivência de *B. bassiana* em ambos os solos. Porém, observou-se que no solo arenoso a sobrevivência do fungo foi menor que no solo argiloso, principalmente nos tratamentos onde a inoculação foi feita uma hora antes (T1) ou uma hora após (T2) a adição do inseticida, sendo estes os tratamentos que mais afetaram a sobrevivência de *B. bassiana* nos dois tipos de solo (Figura 1)

Tal resultado está congruente com os obtidos por SANTOS e MONTEIRO (1994) que obtiveram drástica redução da população total de fungos do solo logo após a aplicação de Aldicarbe. Em estudo conduzido em meio de cultura TAMAI et al. (2002) verificaram que inseticidas pertencentes ao mesmo grupo químico mostraram-se muito tóxicos para *B. bassiana*.

No entanto, a presença de Fipronil (Regent<sup>®</sup>) muito pouco afetou a sobrevivência do fungo em ambos os tipos de solo, pois apenas quando a inoculação no solo arenoso foi realizada uma hora após a adição do inseticida (tratamento T2), observou-se uma pequena redução da população de *B. bassiana* (Figura 1).

ALMEIDA et al. (2000) aplicaram Fipronil+*B. bassiana* no sulco de plantio da cana-de-açúcar e verificaram que houve aumento da eficiência do controle de *M. fimbriolata*. Os autores afirmaram que esta pode ser uma estratégia eficiente no controle de pragas na cana-de-açúcar, não influenciando a sobrevivência do entomopatógeno.

A sobrevivência de *M. anisopliae* foi negativamente afetada pelo inseticida à base de Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>) em ambos os solos. No solo argiloso o efeito tóxico foi menor e não houve influência da forma de aplicação, pois não se verificou diferença significativa entre os tratamentos T1, T2 e T3, mas sim destes quando comparados com a testemunha. No solo arenoso, o efeito tóxico do inseticida foi maior, reduzindo significativamente a sobrevivência do fungo, notadamente nos tratamentos onde a inoculação foi feita uma hora antes (T1) ou uma hora após (T2) a adição do inseticida (Figura 2).

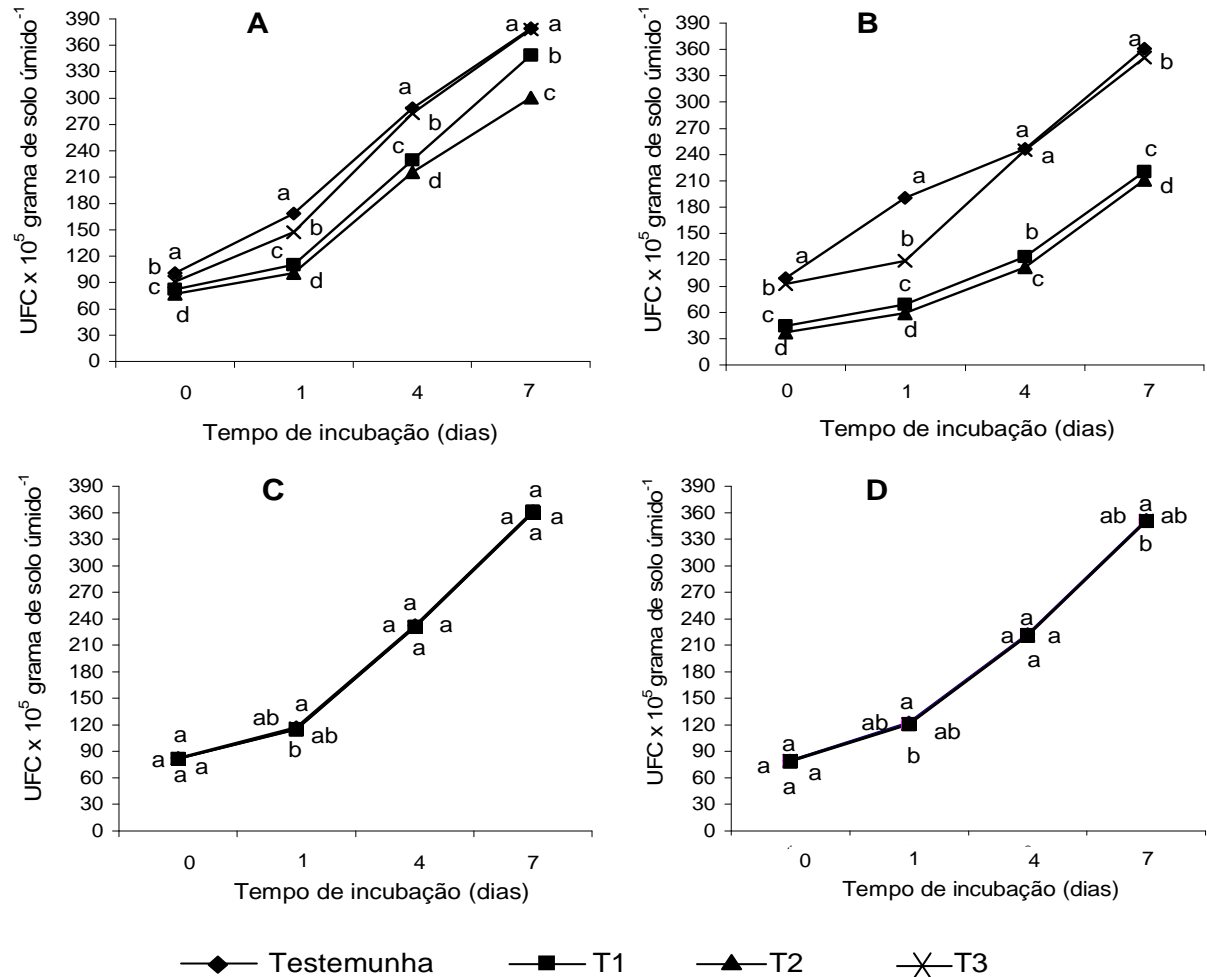


Figura 1. Sobrevivência de *Beauveria bassiana* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos inseticidas químicos Aldicarbe (Temik®) (A e B, respectivamente) e Fipronil (Regent®) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do inseticida T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do inseticida T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do inseticida. Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ).

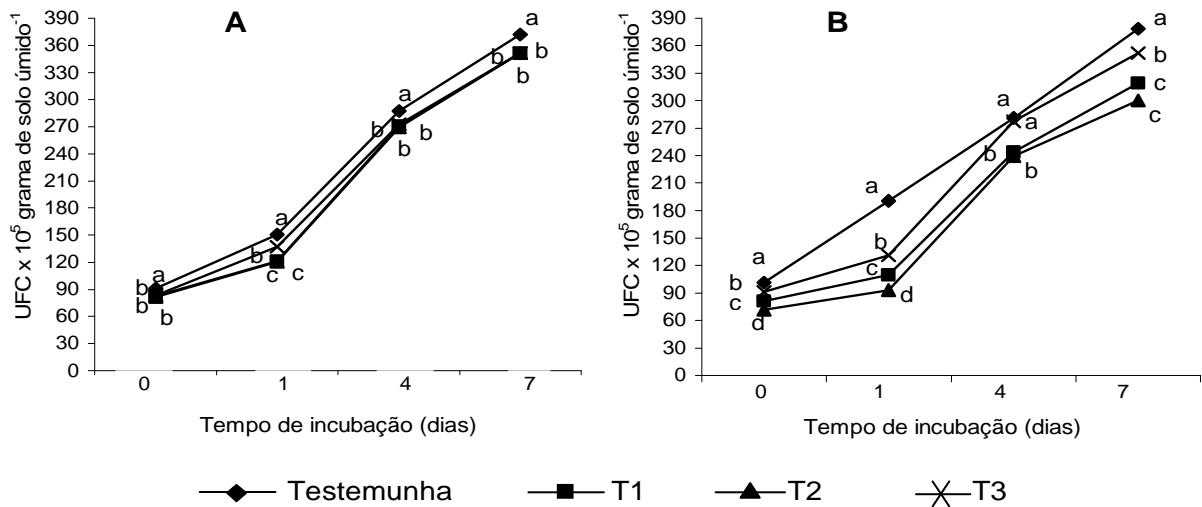


Figura 2. Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* inoculado em solo argiloso (A) e solo arenoso (B) adicionados do inseticida químico Aldicarbe (Temik<sup>®</sup>), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do inseticida T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do inseticida T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do inseticida. Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ).

A presença do herbicida formulado à base de Diuron (Karmex<sup>®</sup>) no solo influenciou a sobrevivência de *B. bassiana*, com menor efeito negativo no solo arenoso onde se verificou pequena redução da população, apenas quando o fungo foi inoculado no solo uma hora após a adição do herbicida (T2). No solo argiloso a ação tóxica foi maior, pois houve redução significativa da sobrevivência em todos os tratamentos, com destaque para o tratamento T2 onde ocorreu a menor população do fungo ao longo do período de avaliação (Figura 3). ANDALÓ et al. (2004) observaram diminuição significativa do crescimento e produção de conídios de *B. bassiana* quando realizaram experimentos *in vitro* com os herbicidas Diuron e Glifosato.

ROQUE (2000) afirmou que o principal fator responsável pela redução da fitotoxicidade de Diuron é a adsorção. PAL et al. (1985) verificaram que em solos com grande teor de argila, matéria orgânica e capacidade de troca catiônica, o herbicida fica mais adsorvido nos colóides do solo, já em solos arenosos o efeito é contrário.

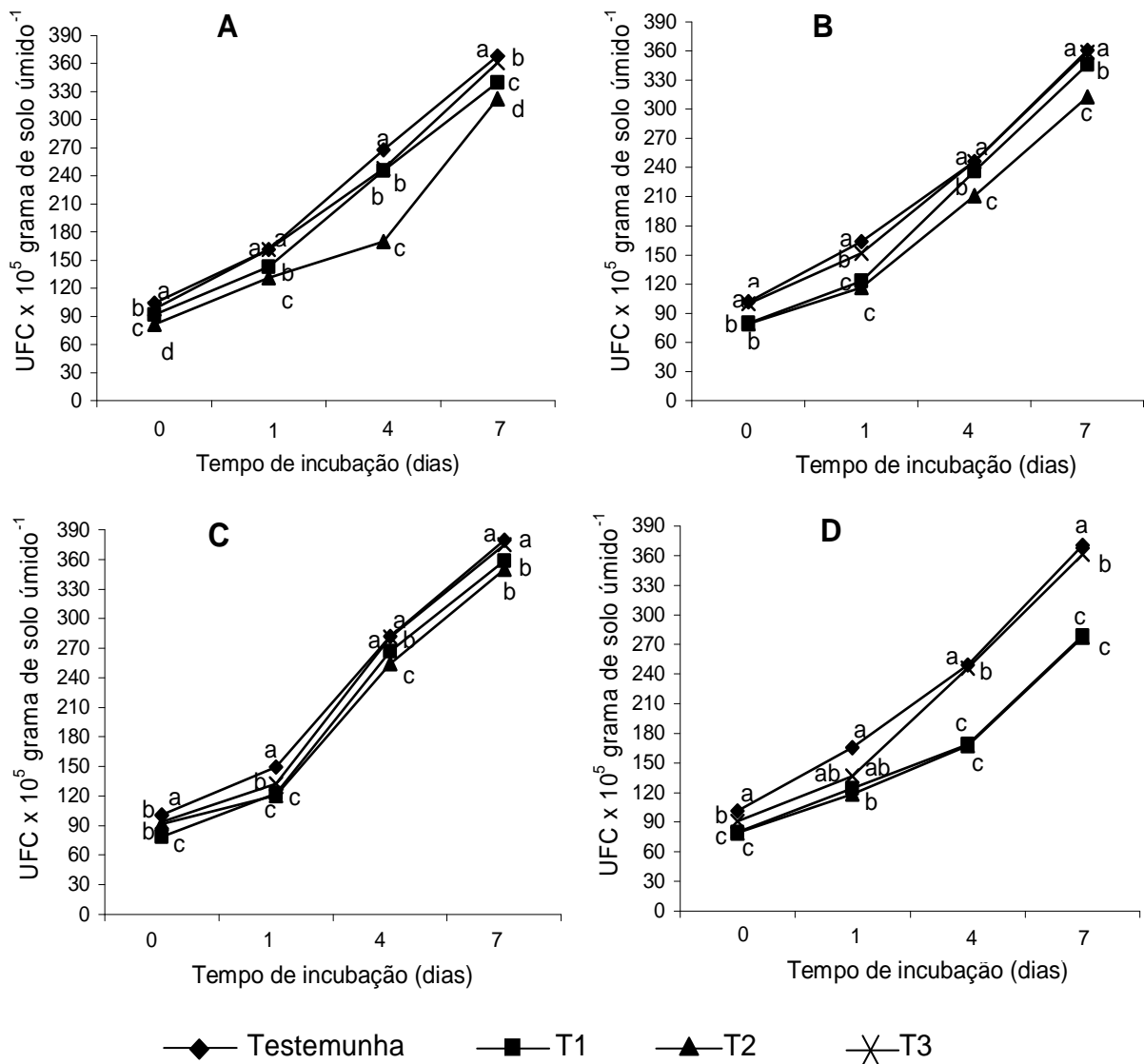


Figura 3. Sobrevivência de *Beauveria bassiana* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos herbicidas químicos Diuron (Karmex<sup>®</sup>) (A e B, respectivamente) e Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do herbicida químico T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do herbicida químico T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do herbicida químico. Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ).

No entanto, neste trabalho a maior sobrevivência de *B. bassiana* foi obtida no solo arenoso. TIXIER et al. (2000) observaram que os fungos *B. bassiana*, *Cunninghamella elegans* e *Mortierella isabellina* são eficientes degradadores de Diuron, embora, segundo os autores, as transformações do herbicida realizada pelos fungos sejam, na maioria das vezes, incompletas.

O efeito de Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) foi praticamente inverso ao do herbicida anterior. No solo argiloso observou-se pequena diminuição da sobrevivência, enquanto no solo arenoso houve acentuada redução da população do fungo. Tal resultado deveu-se possivelmente ao pouco contato do agroquímico com o entomopatógeno no solo argiloso, pois segundo CUMMING et al. (2002), fica adsorvido na superfície dos colóides deste solo.

Em ambos os solos os tratamentos com a inoculação do fungo uma hora antes (T1) ou uma hora após (T2) a adição do herbicida foram os que mais afetaram a sobrevivência de *B. bassiana* (Figura 4).

Ao avaliarem a influencia de Ametrina sobre *M. anisopliae* em solo areno-argiloso, MOCHI et al. (2005) verificaram que a atividade respiratória do fungo não foi afetada pelo herbicida.

*M. anisopliae* se mostrou bastante susceptível a ação tóxica dos herbicidas no solo. Diuron (Karmex<sup>®</sup>) e Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) afetaram a sobrevivência do fungo nos dois tipos de solo, mas principalmente no solo arenoso onde ocorreram as maiores reduções da população de *M. anisopliae*.

No solo argiloso o efeito tóxico foi menor, e em ambos os solos os maiores efeitos foram verificados quando o fungo foi inoculado uma hora antes (T1) ou uma hora após (T2) a adição dos herbicidas (Figura 4).

Os maturadores químicos adicionados ao solo tiveram efeito negativo na sobrevivência de *B. bassiana*. Sulfometurom metílico (Curavial<sup>®</sup>) reduziu acentuadamente a população do fungo no solo arenoso, quando a inoculação foi feita uma hora antes (T1) ou uma hora após (T2) a adição do maturador.

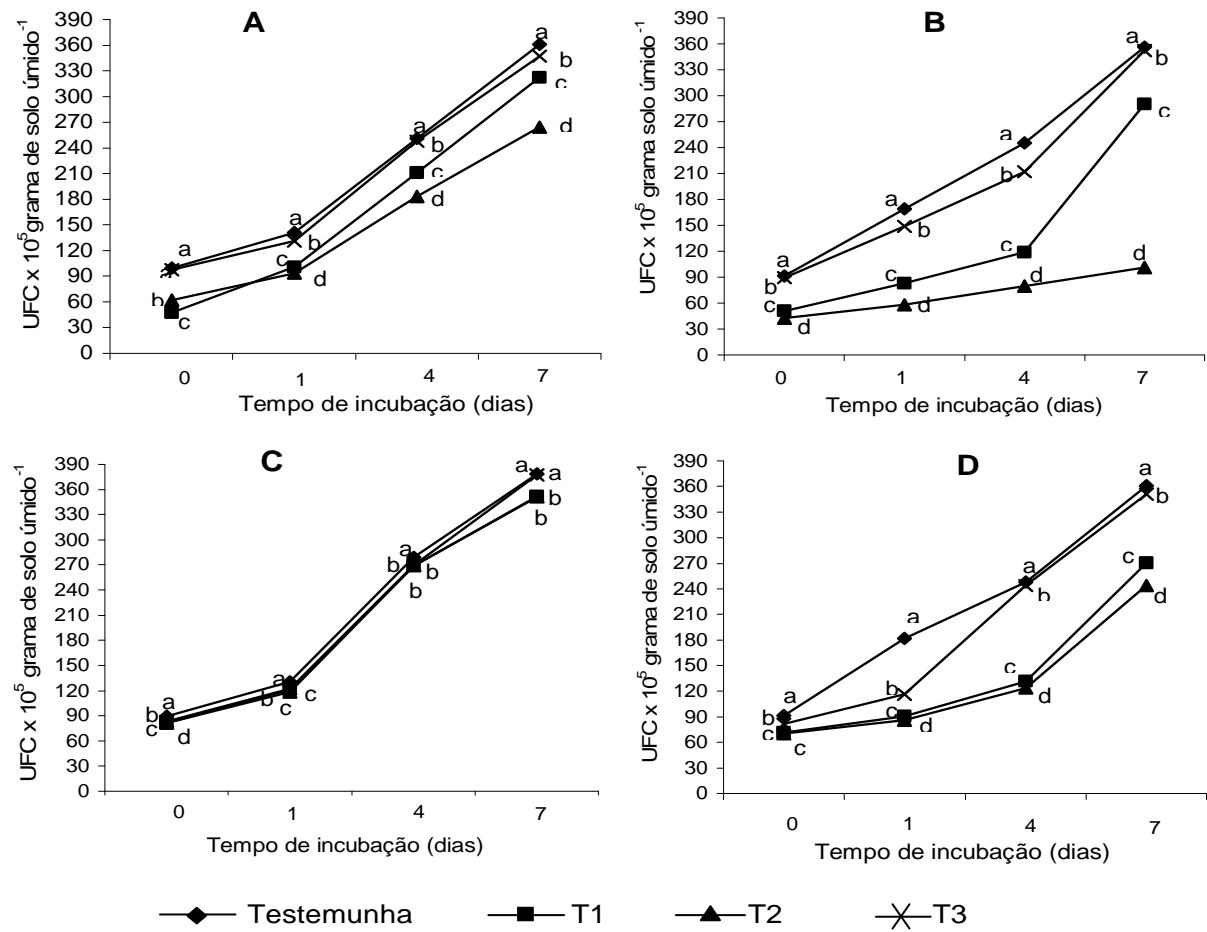


Figura 4. Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos herbicidas químicos Diuron (Karmex<sup>®</sup>) (A e B, respectivamente) e Clomazone+Ametrina (Sinerge<sup>®</sup>) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do herbicida, T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do herbicida, T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do herbicida. Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% (p<0,05).

No solo argiloso houve menor efeito tóxico sobre o fungo quando aplicado o maturador Sulfometurom-metílico (Curavial<sup>®</sup>), e após sete dias de incubação apenas no tratamento T2 ocorreu uma redução acentuada da sobrevivência (Figura 5).

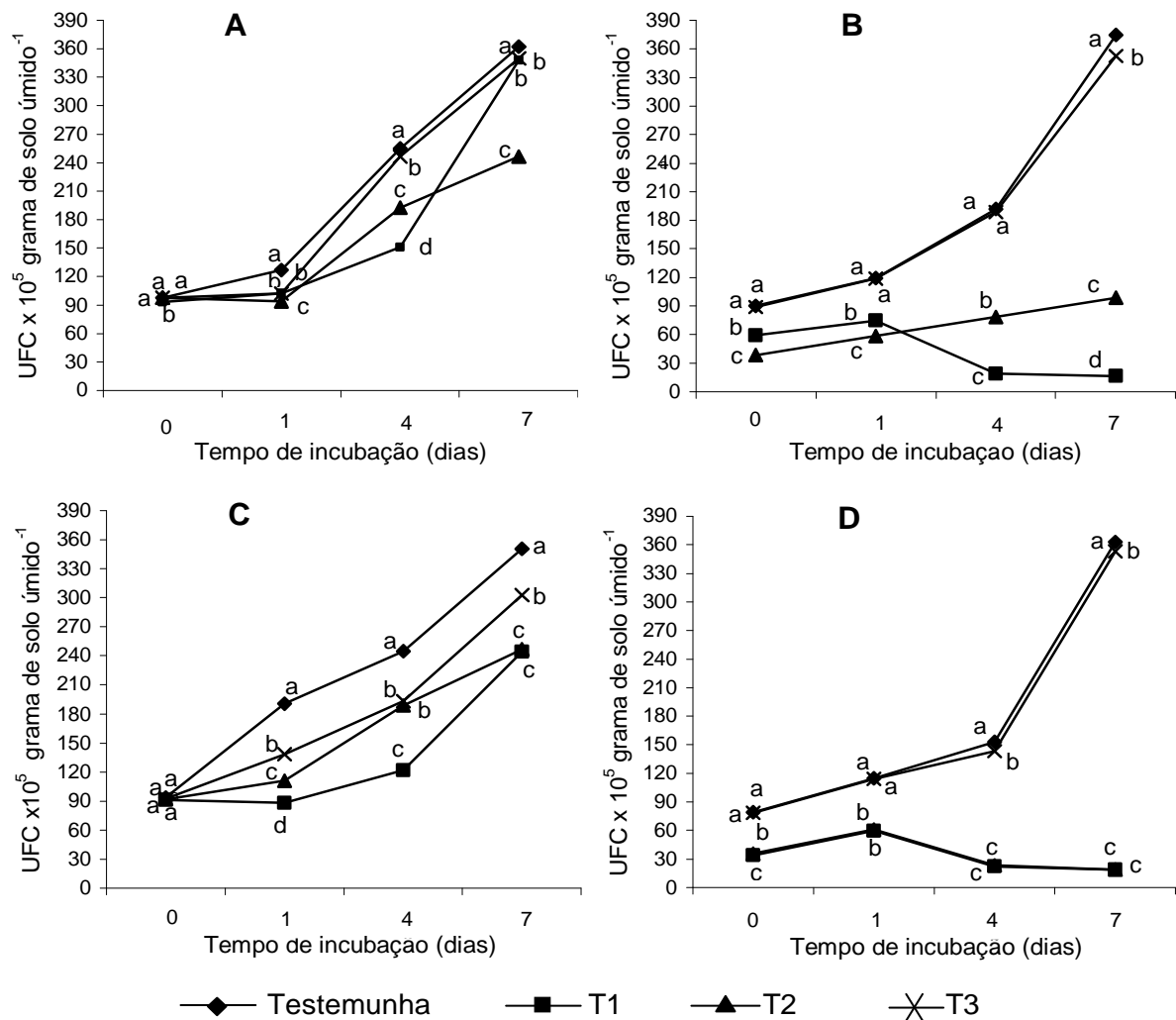


Figura 5. Sobrevivência de *Beauveria bassiana* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos maturadores químicos Sulfometurom metílico (Curavial<sup>®</sup>) (A e B, respectivamente) e Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do maturador; T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do maturador; T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do maturador. Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ).

Efeito semelhante foi observado com a adição ao solo de Etil-trinexapac (Moddus®) que reduziu substancialmente a sobrevivência de *B. bassiana* nos tratamentos T1 e T2 no solo arenoso, e também afetou negativamente a população no solo argiloso, nas três formas de aplicação, mas ocasionando menor redução da população do fungo (Figura 6).

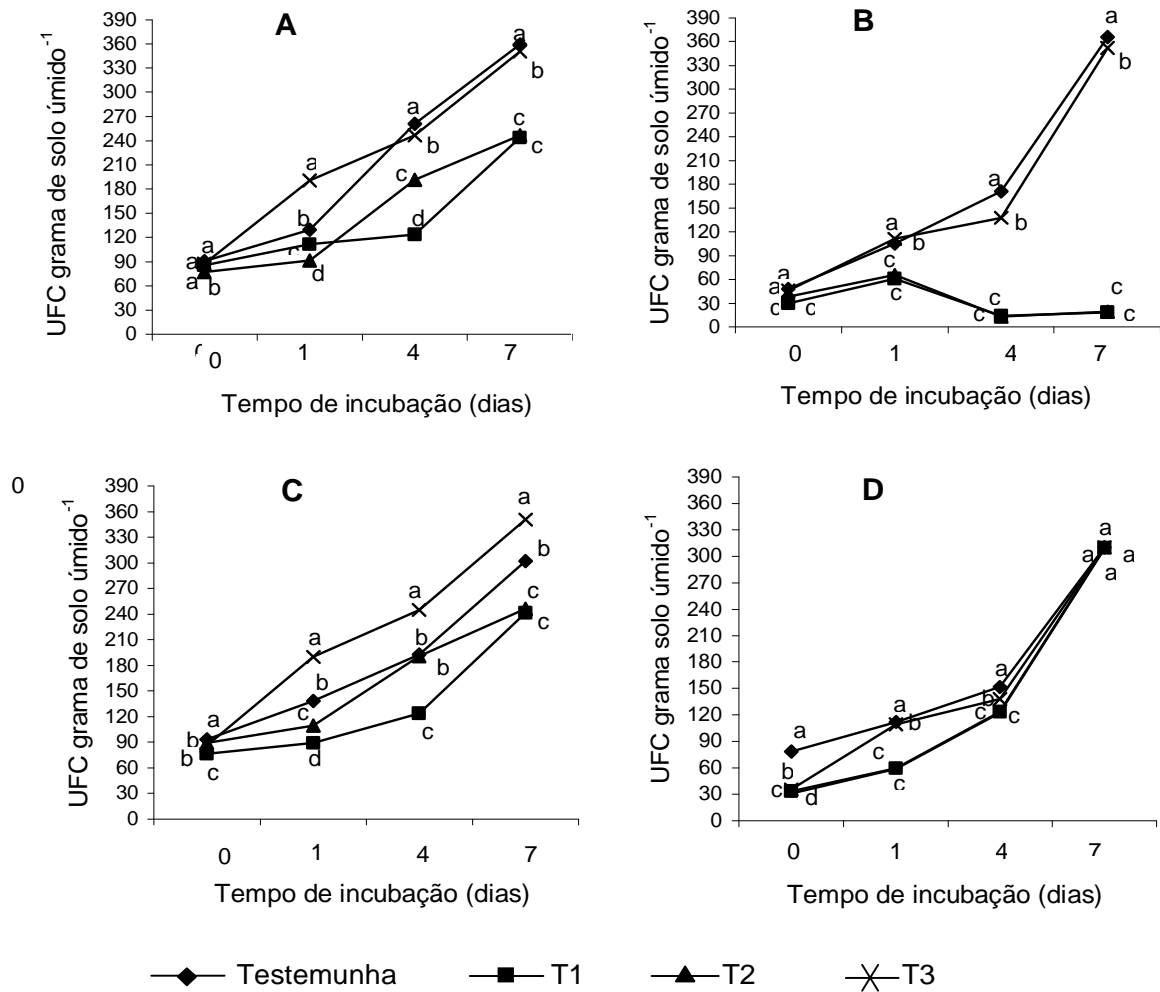


Figura 6. Sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* inoculado em solo argiloso e solo arenoso adicionados dos maturadores químicos Sulfometurom metílico (Curavial) (A e B, respectivamente) e Etil-trinexapac (Moddus) (C e D, respectivamente), nas seguintes formas de aplicação: T1 - inoculação do fungo no solo 1 hora antes da aplicação do maturador; T2 - inoculação do fungo no solo 1 hora após a aplicação do maturador; T3 - aplicação do fungo no solo 48 horas após a aplicação do maturador. Médias seguidas de mesma letra em cada tempo de incubação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ).

Para *M. anisopliae*, a ação dos maturadores no solo foi bastante similar àquela verificada para *B. bassiana*. O efeito causado por Sulfometurom metílico (Curavial<sup>®</sup>) nos solos arenoso e argiloso e por Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) no solo argiloso, é praticamente o mesmo observado para *B. bassiana* nos respectivos solos. Apenas no solo arenoso a adição de Etil-trinexapac (Moddus<sup>®</sup>) não causou redução da população de *M. anisopliae* em nenhum dos tratamentos, após sete dias de incubação (Figura 6).

Há pouquíssimos trabalhos na literatura investigando a ação de inseticidas e herbicidas para fungos entomopatogênicos no solo, e não foram encontrados trabalhos envolvendo maturadores. Pelos resultados desta investigação foi possível verificar que, a exceção do efeito do inseticida Fipronil (Regent<sup>®</sup>) sobre *B. bassiana* nos dois tipos de solo, a ação tóxica dos agroquímicos reduziu a sobrevivência de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, tanto no solo argiloso como no arenoso. A susceptibilidade dos entomopatógenos aos agroquímicos variou bastante em ambos os solos, sugerindo que o ambiente edáfico possa interferir na ação tóxica. Em experimentos conduzidos em meio de cultura no laboratório os agroquímicos utilizados neste trabalho foram classificados como tóxicos aos fungos (Capítulo 2), mas no solo esta toxicidade foi bastante atenuada.

De acordo com LANZA et al. (2009) o tipo de solo influencia a sobrevivência de fungos entomopatogênicos. Este estudo mostrou que também teve influência na ação tóxica para os fungos. Na maioria das vezes, a sobrevivência foi maior no solo argiloso. O conteúdo de argila e a maior quantidade de matéria orgânica deste solo, que têm capacidade de adsorver substâncias químicas, provavelmente causou a retenção de moléculas dos agroquímicos reduzindo o efeito tóxico sobre os fungos. Por outro lado, a porosidade do solo arenoso certamente facilita a migração e distribuição dos agroquímicos, favorecendo a ação tóxica.

O efeito tóxico foi maior quando os fungos foram aplicados no solo uma hora antes ou depois da adição dos agroquímicos, situação em que ficaram expostos a ação dos agroquímicos por maior tempo. Este fato revela que a exposição dos entomopatógenos aos agroquímicos deve ser a menor possível, para não comprometer sua ação no controle de pragas da cana-de-açúcar.

#### 4. CONCLUSÕES

Os inseticidas, herbicidas e maturadores utilizados no manejo da cultura da cana-de-açúcar, avaliados neste trabalho, têm ação tóxica para *M. anisopliae* e *B. bassiana*, tanto no solo argiloso como no arenoso, mas os fungos diferiram quanto a sensibilidade aos agroquímicos. A ação tóxica foi menor no solo argiloso em comparação ao arenoso, e em ambos os solos o efeito tóxico foi maior quando os fungos foram aplicados no solo em momentos próximos a adição dos agroquímicos.

#### 5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B.; ALMEIDA, L.C. Controle de *Heterotermes tenuis* (Hagen) (Isoptera: Rhinotermitidae) e *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) com inseticida fipronil associado ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em isca atrativa na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.67, n.2, p.235-241, 2000.

ANDRÉA, M.M. Estudos dos efeitos dos agroquímicos no ambiente: Atuação pioneira do laboratório de agroquímicos do instituto biológico. **Jornal do Conselho Regional de Biologia-1ª região**, São Paulo, v.140, p.7-11, 2006.

ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, 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.

ALVES, S.B.; MOINO JUNIOR, A.; VIEIRA, S.A. Ação tóxica de alguns defensivos agrícolas sobre entomopatógenos. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.18, p.161-170, 1992.

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.

**COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS:** Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola. 6.ed. São Paulo: Andrei, 1999, 672p.

CUMMING, J. P.; DOYLE, R.B.; BROWN, P.H.. Clomazone dissipation in four Tasmanian topsoils. **Weed Science.**, v. 50, n. 3, p. 405-409, 2002.

ESTAT - **Sistema de análises estatísticas.** FCAV/Unesp. V. 2.0 (livre), 1994. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download2/softweres/estat/>

GHELLER, A. C. A. Resultados da aplicação de maturadores vegetais em cana-de-açúcar, variedades RB72454 e RB835486 na região de Araras, SP. In: Jornada Científica da UFSCar, 4, 2001, São Carlos. **Resumos...** 2001.

JOUSSIER, D.; CATROUX, G. Mise au point d'un milieu de culture pour le denombrement de *Beauveria tenella* dans le sols. **Entomophaga**, Paris, v.21, n.3, p.223-225, 1976.

LANZA, L.M.; MONTEIRO, A.C.; MALHEIROS, E.B. Sensibilidade de *Metarhizium anisopliae* à temperatura e umidade em três tipos de solos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.1, p.6-12, 2009.

LEITE, L.G.; MACHADO, L.A.; AGUILLERA, M.M.; RODRIGUES, R.C.D.; NEGRISOLI JUNIOR, A.S. Patogenicidade de *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida) contra ninfas da cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.78, n.1, p.139-148, 2003.

LOUREIRO, E. DE S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G.C. DE. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemos sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31,n.2, p.263-269, 2002.

MOCHI, D. A., MONTEIRO, A. C., BARBOSA, J. C. Action of pesticides to *Metarhizium anisopliae* in soil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 961-971, 2005.

NEVES, P.M.O.J. HIROSE, E.; TCHUIO, P.T.; MOINO JUNIOR, A. Compatibily of entomopathogenic fungi with neonicotinoid inseticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.2, p.263-268, 2001.

PAL, S.; CHOWDHURY, A.; MITRA, S.R. Fate and behaviour of diruon in the soils cooch behar and kalyani, West Benagl, **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.55, n.12, p.747-750, 1985.

POPRAWSHI, J.T.; MAJCHOWICZ, I. Effect of herbicides on in vitro vegetative growth and sporulation of entomopathogenic fungi. **Crop Protection**, Guildford, v.14, n.1, p.81-87, 1995.

ROQUE,M.R.A. **Isolamento, Caracterização e Ecologia de Acinetobacterbaumannii Degradadora do Herbicida Diuron**. 2000. 119p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

SANTOS, T.M.C.; MONTEIRO, R.T.R. Número de microrganismos e atividade da Urease na presença de aldicarbe e endosulfan no solo. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v.51, n.1, p.123-130, 1994.

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, São Paulo, v.69, n.3, p.89-96, 2002.

TIXIER, C.; BOGAERTS, P.; SANCELME, M.; BONNEMOY, F.; TWAGILIMANA, L.; CUER, A.; BOHATIER, J.; VESCHANBRE, H. Fungal biodregadation of a phenylurea herbicide, diuron: structure and toxicity of metabolites. **Pest Management Science**, v.56, p.455-462, 2000.

TÓTOLA, M.R.; CHAER, G.M. Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo. In: ALVAREZ VENEGAS, V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F. de; MELLO, J.W.V. de; COSTA, L.M. da. (Ed.). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, 2002. p.195-276.

ZILLI, J.E.; RUMJANEK, N.G.; XAVIER, G.R.; COUTINHO, H.L.C.; NEVES, M.C.P. Diversidade Microbiana como indicador de qualidade do solo. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, v.20, n. 3, p.391-411, 2003.