

O tipo de exposição interfere na compatibilidade de herbicidas com *Metarhizium rileyi*?

The type of exposure interferes with the compatibility of herbicides with *Metarhizium rileyi*?

El tipo de exposición interfiere con la compatibilidad de los herbicidas con *Metarhizium rileyi*?

Recebido: 01/04/2020 | Revisado: 04/04/2020 | Aceito: 20/04/2020 | Publicado: 20/04/2020

Luis Gustavo Amorim Pessoa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4646-062X>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: luis.pessoa@ufms.br

Kênio Rodrigues Dutra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7307-2406>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: keniorodriguesdutra@gmail.com

Elisângela de Souza Loureiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9708-3775>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: elisangela.loureiro@ufms.br

Daimara Viviane Adão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6289-2268>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: daimaraviviane12@gmail.com

Gabrielle dos Santos Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4852-5001>

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil

E-mail: gabrielleoliveira93776@gmail.com

Pamella Mingotti Dias

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0963-9455>

Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil

E-mail: pamellamingotti@hotmail.com

Resumo

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito direto e indireto de alguns herbicidas utilizados no manejo da soja com o fungo entomopatogênico *M. rileyi*. Os herbicidas utilizados nos ensaios foram: Aramo[®], Basagran[®], Flex[®] e Glifosato[®], em doses mínimas e máximas, quando possível. Os tratamentos foram aplicados seguindo duas metodologias distintas. Primeiro os produtos foram misturados ao meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) ainda liquefeito e posteriormente foi feita a inoculação do fungo. Da segunda forma, após o meio nutritivo vertido e solidificado, foram feitas as aplicações dos herbicidas com auxílio da torre de Potter e inoculação do patógeno, o qual ocorreu de duas formas: primeiramente o produto em suas respectivas doses e posteriormente o patógeno; e o patógeno e depois os produtos. Avaliou-se o crescimento vegetativo, a produção de conídios e a germinação. Apenas os produtos Basagran[®] (dose mínima) e Flex[®] foram compatíveis com *M. rileyi*; o produto Basagran[®] na dose máxima foi moderadamente tóxico e os demais produtos e doses foram tóxicos. Não houve diferenças entre as metodologias ao classificar a toxicologia do produto.

Palavras-chave: Controle biológico; Entomopatógeno; Soja.

Abstract

Therefore, this study aimed to assess the direct and indirect effect of some herbicides used in the management of soybeans with the fungus entomopathogenic *M. rileyi*. The herbicides used in the tests were: Aramo[®], Basagran[®], Flex[®] and Glyphosate[®], a minimum and maximum, when possible doses. Experiments were conducted in two different methods, the products were first mixed with the culture medium Potato Dextrose Agar (PDA) and then still liquid inoculation of the fungus was made. The second form after the nutritive medium is being poured and solidified, the applications of fungicides with the aid of a Potter tower and pathogen inoculation, which occurred were made in two ways: first the product in their respective doses and subsequently the pathogen; and the pathogen and then the product. We evaluated germination, vegetative growth and conidia production through direct and indirect exposure of the same grout containing products. Only Basagran[®] (minimum dose) and Flex[®] products were compatible with *M. rileyi* Basagran[®] the product at the maximum dose was moderately toxic and other products and doses were toxic, these results were observed for *M. rileyi* in direct and indirect exposure to inoculation before and after application. There weren't differences between the methodologies to classify the toxicology of the product.

Keywords: Biological control; Entomopathogen; Soybean.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto directo e indirecto de algunos herbicidas utilizados en el manejo de la soja con el hongo entomopatógeno *M. rileyi*. Los herbicidas utilizados en las pruebas fueron: Aramo[®], Basagran[®], Flex[®] y Glyphosate[®], en dosis mínimas y máximas, cuando sea posible. Los tratamientos se aplicaron siguiendo dos metodologías diferentes. Primero, los productos se mezclaron con el medio de cultivo de papa-dextrosa-agar (BDA), todavía licuado y luego se inoculó el hongo. De la segunda forma, después de verter y solidificar el medio nutriente, los herbicidas se aplicaron con la ayuda de la torre de Potter y la inoculación del patógeno, lo que ocurrió de dos maneras: primero el producto en sus dosis respectivas y luego el patógeno; y el patógeno y luego los productos. Se evaluó el crecimiento vegetativo, la producción de conidios y la germinación. Solo los productos Basagran[®] (dosis mínima) y Flex[®] eran compatibles con *M. rileyi*; el producto Basagran[®] a la dosis máxima fue moderadamente tóxico y los otros productos y dosis fueron tóxicos. No hubo diferencias entre las metodologías al clasificar la toxicología del producto.

Palabras clave: Control biológico; Entomopatógeno; Soja.

1. Introdução

A soja se destaca como um dos principais cultivos brasileiros, sendo produzida em larga escala contribuindo ativamente para a economia. Na safra 2019/2020 foram produzidas 125,6 milhões de toneladas, sendo que no estado de Mato Grosso do Sul foram produzidos 9,9 milhões de toneladas (CONAB, 2020). Dentre os problemas fitossanitários da cultura destaca-se a competição proporcionada pelas plantas infestantes. Para seu manejo, há utilização de agrotóxicos principalmente na fase inicial da cultura, com uso de herbicidas, em pré e pós-emergência, visando minimizar a competição por luz, água e nutrientes (Ikeda et al., 2019).

Além do problema gerado pelas plantas infestantes outro, também importante, está relacionado ao ataque do complexo de lagartas desfolhadoras, com destaque para lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818), falsa medideira (*Chrysodeixis includens* Walker, 1857) e o complexo de *Spodoptera* - *Spodoptera eridania* Cramer (1782), *Spodoptera cosmioides* Walker (1858) e *Spodoptera frugiperda* Smith (1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (Grigolli & Grigolli, 2018).

Dentre os microrganismos que causam doenças aos insetos, os fungos entomopatogênicos são os mais importantes sendo responsáveis por cerca de 80% das enfermidades. São ferramentas importantes no Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Lopes et

al., 2018). Os microrganismos podem ocorrer naturalmente em agroecossistemas, como o da soja. *Metarhizium rileyi* (Ascomycota) (Kepler et al., 2014) é um importante entomopatógeno responsável pelo controle lepidópteros-praga de diversas culturas, existindo cerca de 30 espécies pertencentes a família Noctuidae registradas como suscetíveis a esse fungo (Ignoffo et al., 1976). Epizootias de *M. rileyi* são relatadas no Brasil, regulando populações desse grupo de lagartas em cultivos de algodão, milho e soja (Costa et al.; 2015; Lima et al.; 2015; Dias et al., 2017; 2019).

Permitir a ação de agentes de controle biológico, de maneira natural ou aplicada, é de grande importância para o MIP. Esses agentes são ferramentas importantes, utilizados como alternativa para reduzir os vários problemas causados pelo uso indiscriminado de inseticidas (Lopes et al., 2018). Quando ocorre contato entre produtos fitossanitários e agentes de controle biológico, como os fungos entomopatogênicos, pode haver inibição do crescimento vegetativo, da conidiogênese ou esporulação, além da germinação, patogenicidade e virulência (Barbosa Júnior, 2020). Esses efeitos foram observados por vários autores ao expor diferentes espécies destes microrganismos a herbicidas (Botelho e Monteiro, 2011, Fregonezi et al., 2016), sendo escassos os estudos de herbicidas sobre *M. rileyi*.

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar os efeitos da exposição direta e indireta de herbicidas sobre o fungo entomopatogênico *M. rileyi* em condições de laboratório.

2. Metodologia

A metodologia utilizada nessa pesquisa é laboratorial, de natureza qualitativa – quantitativa, por avaliar os efeitos dos diferentes tratamentos e posteriormente, classificá-los em relação aos efeitos produzidos (Pereira et al., 2018). Para tal finalidade utilizou-se o fungo *M. rileyi* (strain UFMS 03).

Inicialmente essa espécie de fungo entomopatogênico foi multiplicado em meio de cultura sabouraud (Loureiro et al. 2020). Foram aplicadas duas metodologias distintas. Primeiramente o entomopatógeno foi exposto de forma direta aos tratamentos misturados ao meio de cultura. A segunda metodologia consistiu em expor o fungo aos produtos de forma indireta, aplicando-se os mesmos produtos antes e após a inoculação do fungo (adaptada de Alves & Lopes, 2008).

Exposição Direta dos Produtos

Para os testes de compatibilidade foram utilizados herbicidas (Tabela 1).

Tabela 1. Herbicidas recomendados para o controle de plantas daninhas da cultura da soja.

Nome Comercial*	Princípio Ativo	Dosagem recomendada ha ⁻¹		
		Mínima	Única	Máxima
Aramo [®]	Tepraloxymidim	375 mL		500 mL
Basagran [®]	Bentazone	1200 mL		1600 mL
Flex [®]	Fomesafen		1000 mL	
Glifosato [®]	Glifosate	1000 mL		6000 mL

Fonte: Agrofitec, 2019.

Nesta tabela é possível observar os nas doses mínima e máxima, disponíveis para herbicidas, doses essas recomendadas para o manejo de plantas daninhas na cultura da soja.

Para avaliação do crescimento vegetativo e a produção de conídios, os herbicidas foram adicionados em 200 mL de meio de cultura (BDA), nas doses mínima e máxima recomendada (proporcionalmente ao volume do meio de cultura), para os produtos que apresentaram variação na dosagem, com o meio ainda líquido, a uma temperatura próxima a 40 °C. Em seguida, o meio foi vertido em placas de Petri (nove cm de diâmetro), devidamente esterilizadas, sendo a inoculação do fungo realizada após a sua solidificação, com alça de platina em três pontos equidistantes. Foram confeccionadas quatro placas por tratamento, totalizando 12 colônias de fungo, das quais seis colônias foram aleatoriamente apontadas, resultando assim, em seis repetições por tratamento (Alves, 1998). O Tratamento testemunha foi composto pelo meio de cultura sem adição dos produtos. Após a inoculação do fungo, as placas foram mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. para promover a incubação a 25±1 °C, fotofase de 12 horas e umidade relativa de 70±10%, por um período de sete dias.

Para a germinação dos conídios utilizada suspensão de $1,0 \times 10^6$ com mL⁻¹ de *M. rileyi*, (strain UFMS 03) a qual foi mantida em repouso por duas horas com os respectivos produtos nas doses recomendadas. Após este período foi plaqueado 1,0 mL da suspensão com auxílio de uma pipeta graduada (1 mL) em quatro placas de Petri por tratamento e espalhada com alça de Drigalsky no meio nutritivo (BDA). Após a inoculação, as placas foram identificadas e lacradas com filme PVC, e incubadas por 24 horas em câmara climatizada tipo B.O.D. a 25±1 °C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12 horas (Alves, 1998).

A metodologia descrita é a mais utilizada para verificar o efeito de produtos fitossanitários sobre agentes entomopatogênicos, servindo de parâmetro para determinação da compatibilidade ou não desses produtos a esses agentes.

Exposição Indireta dos Produtos

Após o meio de cultura (BDA) vertido e solidificado em placas de Petri (nove cm de diâmetro), os tratamentos foram pulverizados com auxílio de torre de Potter a 1,5 libras pol⁻², sendo utilizado volume de aplicação de 2 mL por placa, das seguintes formas:

- a) primeiramente os produtos nas doses mínima e máxima e, posteriormente, inoculação do patógeno, após duas horas;
- b) primeiramente inoculação do patógeno e, posteriormente, os produtos nas doses mínima e máxima, após duas horas.

A testemunha constou da inoculação do patógeno isoladamente em meio de cultura. Para o crescimento vegetativo e a produção de conídios, após a aplicação dos tratamentos, as quatro placas por tratamento foram incubadas, durante sete dias, em câmara tipo B.O.D. a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Para a germinação foi utilizada 1 mL de uma suspensão fúngica contendo $1,0 \times 10^6$ con mL^{-1} , a qual foi aplicada e espalhada com auxílio de alça de Drigalski sobre o meio nutritivo solidificado em placas de Petri (nove cm de diâmetro) antes ou após a aplicação dos produtos nas doses recomendadas. Após esse procedimento as placas de Petri foram identificadas, lacradas com filme PVC e incubadas por 24 horas em câmara climatizada tipo B.O.D. a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, sendo utilizadas quatro placas por tratamento (adaptada de Rossi-Zalaf et al., 2008).

Essa metodologia de exposição, visa verificar os possíveis efeitos dos produtos fitossanitários sobre essa espécie de fungo, simulando situações que podem ocorrer no campo, para o contato entre eles.

Parâmetros avaliados

Crescimento vegetativo e produção de conídios

As avaliações foram as mesmas em todos os métodos de exposição dos herbicidas ao entomopatogeno. Após o período de incubação foi realizada a medição do diâmetro médio das

colônias. Em seguida, com o auxílio de um estilete, essas colônias foram retiradas das placas e transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada esterilizada e espalhante adesivo (Tween 80) a 0,1%. Com a ajuda de um pincel e seguindo-se vigorosa agitação, os conídios foram retirados e desagregados das colônias. Por fim, foram feitas as diluições necessárias na suspensão fúngica original para a contagem do número de conídios em microscópio óptico, com o auxílio de câmara de Neubauer. Dessa forma avaliou-se o crescimento vegetativo e a conidiogênese na presença ou não dos produtos analisados.

Germinação de conídios

A avaliação da germinação de conídios foi a mesma independentemente do método de exposição. Após a incubação, foi feita a contagem de conídios, observando-se, aleatoriamente, 400 conídios por placa, entre aqueles germinados e não germinados (dividindo-se a placa em quatro quadrantes e contando-se 100 conídios por quadrante), estabelecendo posteriormente a porcentagem de germinação. Para análise dos dados, foi adotado o padrão do laboratório de controle biológico do Instituto Biológico de Campinas: germinação alta 80-100%, germinação média/alta 60-79%, germinação média 50-59%, germinação média/baixa 30-49% e germinação baixa 0-29% (Zappelini, Almeida & Gassen, 2005).

Tal metodologia proporciona a categorização dos resultados obtidos, melhorando a interpretação dos resultados.

Tratamento dos dados e análise estatística

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com seis repetições para crescimento vegetativo e produção de conídios e quatro repetições para germinação de conídios em 8 tratamentos (testemunha e os herbicidas nas diferentes doses).

Para análise, os dados de crescimento vegetativo, produção de conídios foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$ e aqueles referentes a germinação dos conídios foram transformados em $\arcsen(x/100)^{0,5}$, sendo submetidos a análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Além da análise estatística foi realizado, para os diferentes tipos de exposição, o cálculo do fator de compatibilidade (índice biológico= IB) proposto por Rossi-Zalaf et al.

(2008), que permite a classificação dos produtos em classes de seletividade/compatibilidade, de acordo com o efeito observado em relação aos parâmetros avaliados.

A análises sugeridas permitem, de forma segura, a avaliação do efeito dos produtos fitossanitários bem como sua categorização quanto a compatibilidade aos fungos entomopatogênicos.

3. Resultados e Discussão

Crescimento vegetativo

Ao se avaliar o crescimento vegetativo de *M. rileyi* exposto aos diferentes herbicidas, de maneira direta e indireta, verificou-se variação nesse parâmetro em relação aos tratamentos aplicados (Tabela 2).

Tabela 2. Crescimento Vegetativo (cm \pm EP) do fungo entomopatogênico *M. rileyi* na presença de diferentes herbicidas adicionados ao meio e pulverizados antes e após a inoculação.

Tratamento	1	2	3
Testemunha	2,86 \pm 0,12 aB	2,80 \pm 0,12 aB	2,90 \pm 0,12 aB
Flex [®]	2,75 \pm 0,10 aB	3,13 \pm 0,35 aB	2,85 \pm 0,12 aB
Glifosato [®] Max	0,00 \pm 0,00 aE	0,08 \pm 0,01 aE	0,03 \pm 0,00 aE
Glifosato [®] Min	1,45 \pm 0,01 aD	1,53 \pm 0,01 aD	1,05 \pm 0,01 bD
Aramo [®] Max	0,00 \pm 0,00 aE	0,06 \pm 0,01 aE	0,05 \pm 0,00 aE
Aramo [®] Min	0,19 \pm 0,00 aE	0,28 \pm 0,05 aE	0,20 \pm 0,01 aE
Basagran [®] Max	2,57 \pm 0,18 aC	2,56 \pm 0,12 aC	2,25 \pm 0,12 bC
Basagran [®] Min	4,25 \pm 0,31 aA	4,11 \pm 0,30 aA	3,73 \pm 0,31 bA
CV (%)	11,40	12,09	16,21

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si.

EP = erro padrão da média

1 - Produtos misturados ao meio.

2 - Produtos aplicados depois da inoculação.

3 - Produtos aplicados antes da inoculação.

Fonte: Pessoa, L.G.A.

Verifica-se que o herbicida Basagran[®] em dose mínima proporcionou desenvolvimento do fungo significativamente superior a testemunha. Quando em dose máxima, esse herbicida diferiu estatisticamente da testemunha, com desenvolvimento inferior, diferente do que ocorreu com o herbicida Flex[®] que não diferiu estatisticamente da

testemunha. Os demais herbicidas e doses reduziram significativamente o crescimento vegetativo de *M. rileyi* (strain UFMS 03), verificando-se inibição total do desenvolvimento do fungo nos tratamentos com Aramo[®] e Glifosato[®] nas suas doses máximas (Tabela 2).

O resultado verificado para o herbicida Basagran[®] em dose mínima pode ter ocorrido em função do sítio de ação do produto, que atua como inibidor da fotossíntese (Oliveira Júnior, 2011), processo não verificado na espécie de fungo utilizada. De acordo com Wojcienchowska, Bajan, & Kmitowa (1977), altas concentrações de linuron e monolinuron inibiram o crescimento e produção de conídios de *Isaria farinosa* (= *Paecilomyces farinosus*), *I. fumosorosea* (= *P. fumosoroseus*) e *Beauveria bassiana* (Ascomycota) enquanto em baixas concentrações eles estimularam o crescimento e desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos. De acordo com esse autor, além dessas, pode haver presença de outras substâncias na formulação dos produtos que podem ter estimulado maior esporulação dos entomopatógenos.

A compatibilidade de *B. bassiana* strain UEL 114, com agrotóxicos foi estudada por Andaló et. al. (2004) visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900) (Hemiptera: Pseudococcidae), concluíram que o herbicida Glifosato[®] reduziu significativamente o crescimento vegetativo do fungo entomopatogênico. Almeida et al. (2010) e Botelho & Monteiro (2011) estudando os efeitos deste mesmo produto (nas doses máxima e mínima) sobre *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota), utilizando os strains IBCB 348 e E9, respectivamente, verificaram que ambas as doses afetaram significativamente e de forma deletéria o crescimento vegetativo.

Ainda avaliando-se o crescimento vegetativo, com relação ao método de exposição adotado, observou-se diferença significativa apenas para os tratamentos Basagran[®] em ambas as dosagens e Glifosato[®] mínimo, onde os produtos misturados ao meio e pulverizados após a inoculação proporcionaram resultado significativamente superior a pulverização antes da inoculação do fungo (Tabela 3). Essa diferença verificada ao aplicar os produtos antes e após a inoculação pode ter ocorrido devido ao menor tempo de exposição do produto com o entomopatógeno, uma vez que a pulverização do produto foi feita duas horas após a inoculação do entomopatógeno. Silva & Neves (2005) em trabalhos semelhantes, avaliando técnicas e parâmetros utilizados em teste de compatibilidade de fungicidas com *B. bassiana*, verificaram resultados superiores obtidos no crescimento vegetativo quando o fungicida foi pulverizado 48 horas após a inoculação do fungo.

Esse tipo de teste possibilita verificar se o fungo tem ou não a capacidade de crescer na presença dos produtos fitossanitários. Como esses produtos são aplicados sobre as folhas e

insetos, como as lagartas, comem tais folhas, os produtos ficam dentro dos insetos os quais servem como meio de cultura para o crescimento do fungo. Dentro do inseto, após a penetração, o fungo irá crescer se aproveitando do seu conteúdo interno, contaminado com os produtos fitossanitários.

Produção de conídios

Na avaliação desse parâmetro, verificou-se efeito deletério da maioria dos tratamentos testados, independentemente do tipo de exposição (Tabela 3).

Tabela 3. Produção de conídios ($\times 10^8$ con $\text{mL}^{-1} \pm \text{EP}$) do fungo entomopatogênico *M. rileyi* na presença de diferentes herbicidas adicionados ao meio e pulverizados antes e após a inoculação.

Tratamento	1	2	3
Testemunha	4,58 \pm 0,23 aB	4,70 \pm 0,27 aA	4,83 \pm 0,20 aA
Flex [®]	5,16 \pm 0,31 aA	2,00 \pm 0,18 bB	1,70 \pm 0,10 bB
Glifosato [®] Max	0,00 \pm 0,00 aC	0,03 \pm 0,00 aC	0,01 \pm 0,00 aC
Glifosato [®] Min	0,51 \pm 0,01 aC	0,48 \pm 0,00 aC	0,23 \pm 0,01 aC
Aramo [®] Max	0,00 \pm 0,00 aC	0,03 \pm 0,00 aC	0,03 \pm 0,00 aC
Aramo [®] Min	0,16 \pm 0,01 aC	0,35 \pm 0,00 aC	0,23 \pm 0,01 aC
Basagran [®] Max	0,35 \pm 0,01 aC	0,45 \pm 0,00 aC	0,21 \pm 0,01 aC
Basagran [®] Min	5,88 \pm 0,31 aA	4,50 \pm 0,20 bA	4,35 \pm 0,20 bA
CV (%)	10,34	13,80	17,19

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si.

EP = erro padrão da média

1 - Produtos misturados ao meio.

2 - Produtos aplicados depois da inoculação.

3 - Produtos aplicados antes da inoculação.

Fonte: Pessoa, L.G.A.

O tratamento Basagran[®] mínimo foi significativamente superior aos demais, permitindo que fungo *M. rileyi* produzisse maior quantidade dessas estruturas, independentemente do método de exposição. Os tratamentos Glifosato[®] e Aramo[®], em suas respectivas doses, não diferenciaram estatisticamente e foram significativamente inferiores a testemunha. O tratamento Flex[®] foi superior a testemunha na produção de conídios quando o fungo *M. rileyi* (strain UFMS 03) foi exposto aos produtos de forma direta e inferior nos demais métodos de exposição (Tabela 3). Andaló et al. (2004) ao avaliarem a compatibilidade de *B. bassiana* strain UEL 114 ao herbicida Glifosato[®], observaram redução na produção de

conídios. Almeida et al. (2010) & Botelho (2011) estudando os efeitos de Glifosato® (nas doses máxima e mínima) sobre *M. anisopliae* (strains IBCB 348 e E9), verificaram que ambas as doses afetaram significativamente e de forma deletéria a produção de conídio.

Com relação ao método de exposição, observou-se que não houve diferença significativa no tratamento Flex® apenas ao aplicar-se o produto antes ou depois da inoculação. No entanto, a exposição direta proporcionou valores significativamente superiores, o mesmo ocorrendo para o tratamento Basagran® em dose mínima (Tabela 3).

Trabalhos realizados por Silva & Neves (2005), avaliando a esporulação do fungo *B. bassiana* exposto de forma direta e indireta ao inseticida endossulfan, mostraram que a esporulação foi significativamente menor quando o produto foi misturado ao meio.

De maneira geral, os resultados apresentados na presente pesquisa corroboram aos encontrados na literatura especializada, demonstrando a variação nos resultados em função do tipo de exposição dos fungos entomopatogênicos aos produtos fitossanitários.

Germinação

Nesse parâmetro, a maioria dos tratamentos não interferiu de forma significativa (Tabela 4).

Tabela 4. Germinação (% ± EP) de conídios do fungo entomopatogênico *M. rileyi* na presença de diferentes herbicidas adicionados ao meio e pulverizados antes e após a inoculação.

Tratamento	1	2	3
Testemunha	99,75 ± 10,72 aA	100,00 ± 12,29 aA	99,50 ± 10,72 aA
Flex®	90,25 ± 10,05 aA	91,75 ± 10,05 aA	90,00 ± 10,17 aA
Glifosato® Max	0,50 ± 0,17 aC	0,50 ± 0,00 aB	9,25 ± 1,01 aC
Glifosato® Min	19,75 ± 0,17 bB	5,50 ± 0,07 cB	37,75 ± 2,00 aB
Aramo® Max	95,25 ± 10,17 aA	99,50 ± 10,72 aA	86,25 ± 9,01 aA
Aramo® Min	94,74 ± 10,17 aA	95,25 ± 10,17 aA	89,50 ± 10,17 aA
Basagran® Max	100,00 ± 12,29 aA	96,50 ± 10,52 aA	82,50 ± 8,25aA
Basagran® Min	88,75 ± 10,00 aA	86,50 ± 9,01 aA	82,50 ± 8,25 aA
CV (%)	14,21	18,68	11,50

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si.

EP = erro padrão da média

1 - Produtos misturados ao meio.

2 - Produtos aplicados depois da inoculação.

3 - Produtos aplicados antes da inoculação.

Fonte: Pessoa, L.G.A.

Apenas os tratamentos Glifosato[®], nas diferentes doses, reduziu significativamente a germinação de *M. rileyi*. Os demais tratamentos foram semelhantes a testemunha, apresentando germinação alta de acordo com a classificação proposta por Zappelini, Almeida & Gassen. (2005).

Com relação ao método de exposição, diferença significativa foi verificada apenas no tratamento Glifosato[®] dose mínima, onde a exposição indireta com a pulverização dos herbicidas antes da inoculação mostrou-se significativamente superior (Tabela 4). Silva, Vargas & Barros (2011) estudando as linhagens NR441, NR 458, Sa86101 e Va9101 de *M. rileyi* inoculadas em erlenmeyers, contendo os meios de cultura SMY (sabouraud – maltose – yeast) sozinho e SMY mais glifosato (1%). Avaliaram o percentual de germinação em intervalos de 24, 48 e 72h. Em 24h ocorreu redução de 37 e 20% nos percentuais de germinação de conídios das linhagens Sa86101 e Va9101 e as linhagens NR441 e NR458 não apresentaram diferenças em relação ao controle. Em 48h não houve diferenças quanto à germinação dos conídios de NR458 e Va9101, porém a linhagem NR441 apresentou um percentual 25% superior ao controle e Sa86101, redução de 32% de germinação. Em 72 horas não se observaram efeitos do glifosato na germinação dos conídios de *M. rileyi*.

Estudos realizados por Almeida et al. (2010) e Botelho & Monteiro (2011) com o herbicida Glifosato[®] (nas doses máxima e mínima) sobre *M. anisopliae* (strains IBCB 348 e E9), verificaram que ambas as doses afetaram de forma deletéria a germinação dos conídios do entomopatígeno.

Silva & Neves (2005) ao avaliar a germinação de *B. bassiana* expondo o fungo a diferentes doses do inseticida endossulfan, por métodos diretos e indiretos. Os autores verificaram valores superiores dos métodos onde são realizadas exposições do produto de forma indireta antes e após a inoculação do fungo. Gassen et al. (2008) ao avaliarem o efeito de alguns agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre *B. bassiana*, verificaram que não houve interferência na germinação de conídios quando os agrotóxicos foram misturados ao meio de cultura, mesmo sendo verificada interferência no crescimento vegetativo e esporulação do fungo entomopatogênico.

A germinação é um dos principais eventos no ciclo de vida dos fungos, sendo essencial no processo de infecção dos insetos que é a fase inicial do ciclo da doença. Qualquer interferência negativa nessa fase, poderá inviabilizar a colonização do hospedeiro.

Índice biológico

Verificou-se variação na classificação de toxicidade dos tratamentos sobre o fungo *M. rileyi* (Tabela 5).

Tabela 5. Índice biológico e classificação da toxicidade dos herbicidas, adicionados ao meio e aplicados antes e após a inoculação, ao fungo *M. rileyi*.

Tratamento	1		2		3	
Flex [®]	102,66	C	80,01	C	70,32	C
Glifosato [®] Max	0,05	T	1,67	T	1,50	T
Glifosato [®] Min	30,59	T	30,62	T	22,84	T
Aramo [®] Max	9,53	T	11,23	T	9,70	T
Aramo [®] Min	14,10	T	17,43	T	14,24	T
Basagran [®] Max	55,52	MT	56,74	MT	46,59	MT
Basagran [®] Min	133,92	C	118,81	C	107,43	C

1 - Produtos misturados ao meio.

2 - Produtos aplicados depois da inoculação.

3 - Produtos aplicados antes da inoculação.

C – Compatível (> 66); MT - Moderadamente Tóxico (66 – 42); T – Tóxico (41 – 0)

Fonte: Pessoa, L.G.A.

Não houve efeito do método de exposição sobre a classificação toxicológica dos herbicidas e doses testados. Verificou-se que os tratamentos Basagran[®] mínimo e Flex[®] foram compatíveis com *M. rileyi*. O tratamento Basagran[®] máximo foi classificado como Moderadamente Tóxico e os demais tratamentos testados foram classificados como tóxicos ao fungo (Tabela 5).

A pulverização do produto após a inoculação do entomopatógeno é a forma mais próxima para simular as condições de campo (Silva, Neves & Santoro, 2005). Os testes in vitro realizados no presente estudo proporcionaram exposição máxima aos produtos fitossanitários testados, em condições diferentes das que ocorrem em campo, onde diversos fatores como temperatura, luz, deriva e entre outros farão com que a molécula se degrade rapidamente e não expresse todo o seu potencial deletério sobre o fungo entomopatogênico.

O herbicida Glifosato Nortox[®] foi considerado compatível com o strain AM 09, moderadamente tóxico para *B. bassiana* (strains IBCB 07 e JAB 46) e tóxico para o strain JAB 07, respectivamente (Fregonesi, Mochi & Monteiro, 2016). Andaló et al. (2004) concluíram que o herbicida Glifosato[®] foi considerado moderadamente compatível a *B. bassiana* strain UEL 114.

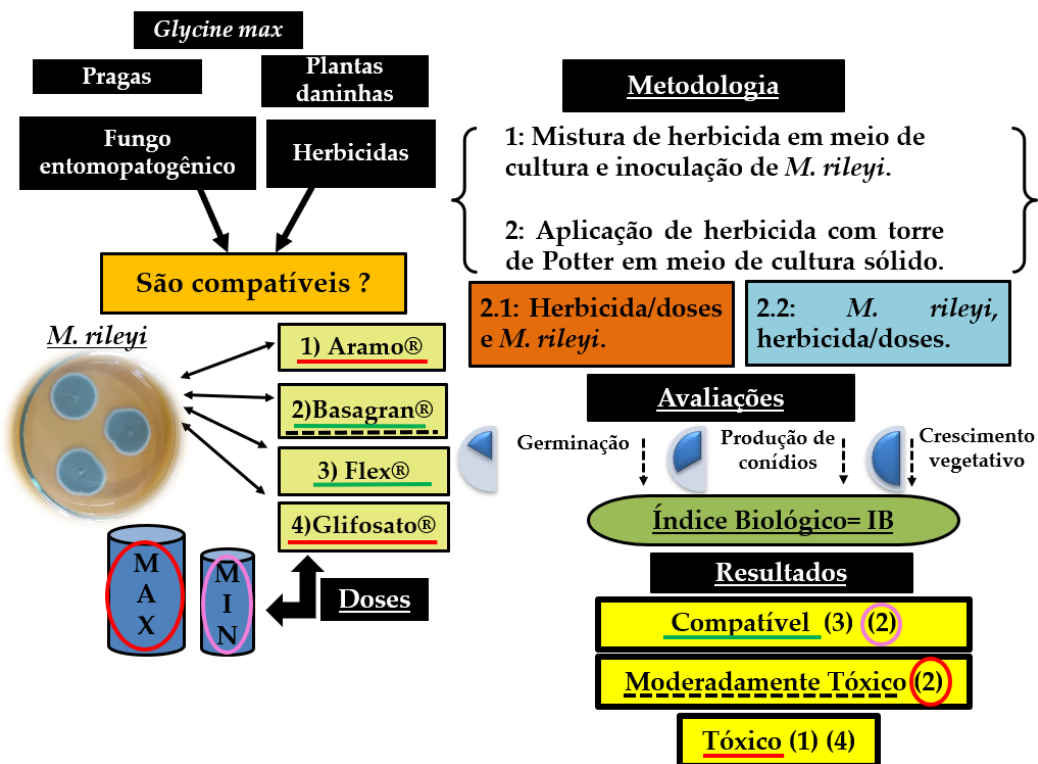
A compatibilidade do herbicida Glifosato[®] com o fungo *M. anisopliae* (strain CG 891) foi avaliada, verificando que esse produto em dose mínima foi moderadamente tóxico ao fungo entomopatogênico (Rampelotti-Ferreira et al., 2010). O herbicida Glifosato (1560 mL ha⁻¹) foi compatível com *M. anisopliae* (strain CG 168) (Silva, Neves & Santoro, 2012). Almeida et al. (2010) e Botelho & Monteiro (2011), estudando os efeitos deste mesmo produto (nas doses máxima e mínima) verificaram que ambas as doses foram incompatíveis ao fungo *M. anisopliae* (strains IBCB 348 e E9).

O herbicida Glifosato[®] atua inibindo a síntese de alguns aminoácidos que podem estar presentes no fungo e que seriam utilizados para síntese de aminoácidos como a Fenilalanina, Tirosina e Triptofano (Oliveira Júnior, 2011). A enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) é chave na via do ácido chiquímico, envolvida na biossíntese dos aminoácidos aromáticos citados anteriormente e é encontrada naturalmente, em todas as plantas, fungos e bactérias, mas estão ausentes nos animais. A EPSPS é muito sensível aos herbicidas que contêm esse ingrediente ativo em sua formulação (Ikeda et al, 2019).

O herbicida Flex[®] é um produto cujo princípio ativo atua oxidando lipídeos e proteínas e causando perda da clorofila e carotenoides (Oliveira Júnior, 2011) e como o fungo *M. rileyi* não possui clorofila em sua estrutura, esta seria uma possível explicação para a compatibilidade verificada com o entomopatógeno (Tabela 4). O mesmo autor afirma que o produto Basagran[®] atua como inibidor da fotossíntese e conseqüentemente da produção de carboidratos, este processo não é verificado em fungos entomopatogênicos.

A toxicidade verificada para o herbicida Aramo[®] (nas doses testadas) pode ter ocorrido devido ao seu princípio ativo atuar inibindo a síntese de lipídeos. Ele é um inibidor da acetil coenzima-Acarboxilase (ACCase) (Oliveira Júnior, 2011). A estrutura lipoproteica contida na membrana plasmática das células fúngicas atua como uma barreira a entrada de vários tipos de moléculas que atravessam por transporte ativo ou por difusão, ainda segundo este autor o ergosterol, componente lipídico fúngico, é o grande responsável por manter características físicas importantes na membrana plasmática como estrutura e permeabilidade. A ausência deste componente pode causar alterações na permeabilidade da membrana e conseqüentemente inibição do desenvolvimento (Thevissen et al., 2003).

Figura 1. Resumo gráfico da pesquisa.



Fonte: Pessoa, L.G.A.

Apesar de interferências terem sido verificadas ao se avaliar isoladamente os parâmetros referentes ao crescimento vegetativo e reprodutivo de *M. rileyi*, verifica-se que o tipo de exposição não influenciou na toxicidade dos produtos testados (Figura 1). Porém, novos testes devem ser realizados com outros grupos de produtos fitossanitários para verificação da compatibilidade.

4. Considerações Finais

Os herbicidas Basagran® em dose mínima e Flex® não afetaram o crescimento vegetativo de *M. rileyi*.

O herbicida Basagran® (dose mínima) não reduziu a produção de conídios de *M. rileyi*, independentemente do método de exposição, o mesmo ocorreu para o herbicida Flex® quando o produto foi misturado ao meio de cultura.

O herbicida Glifosato® (doses mínima e máxima) reduziu a germinação dos conídios de *M. rileyi*.

Não houve interferência do método de exposição dos herbicidas na classificação toxicológica do produto. Os herbicidas Basagran[®] dose mínima e Flex[®] foram compatíveis com *M. rileyi*, o herbicida Basagran[®] na dose máxima foi moderadamente tóxico e os demais herbicidas e doses foram considerados tóxicos.

Mesmo com os resultados obtidos, há necessidade de experimentos laboratoriais verificando a ação patogênica dessa espécie de fungo sobre lagartas, após a exposição aos herbicidas e em condições de campo, verificando a interferência de outros fatores como o efeito da arquitetura das plantas e condições climáticas sobre a compatibilidade.

Agradecimentos

Esse estudo foi financiando, em parte, pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), código financeiro 001, e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), código financeiro 001; Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), pelos recursos para publicar este manuscrito.

Referências

Almeida, A. M. B., Batista Filho, A., Takada, H. M., Leite, L. G., Zappelini, L. O., Wenzel, I. M., Almeida, J. E. M. & Carvalho, A. G. (2010). Susceptibilidade de *Rhynchophorus palmarum* à ação de *Metarhizium anisopliae* e compatibilidade do entomopatógeno com agrotóxicos utilizados na cultura da banana. *Arquivo Instituto Biológico*, 77(4), 661-668.

Alves, S. B. (1998). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: Fealq.

Alves, S. B. & Lopes, R. B. (2008). *Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios*. Piracicaba: Fealq.

Andaló, V., Moino Junior, A., Santa-Cecília, L. V. V. & Souza, G. C. (2004). Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Neotropical Entomology*, 33, 463-467.

Barbosa Junior, G. B. (2020). 37p. Viabilidade no uso de fungos entomopatogênicos no sistema de cultivo de soja. 2020. 37 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Chapadão do Sul: UFMS, 2020. Disponível em: <<https://ppgagronomiapcs.ufms.br/>>. Acesso em 25 de març. de 2020.

Botelho, A. A. A. & Monteiro, A. C. (2011). Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia*, 70(2), 361-369.

CONAB. (2020). *Acompanhamento da safra Brasileira. Grãos*. Boletim grãos. v. 7 - safra 2019/20 - n. 6 - Sexto levantamento. Acesso em 20 março, em <http://www.conab.gov.br>>.

Costa, E. A. D., Matallo, M. B., Almeida, J. E. M., Loureiro, E. S. & Sano, A. H. (2004). Efeito de herbicidas utilizados em cana-de-açúcar no desenvolvimento in vitro do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 14, 19-24.

Costa, V. H. D., Soares, A. M., Rodriguez, F. A. D., Zanuncio, J. C., Silva, I. M. & Valicente, F. H. (2015). *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. *Florida Entomologist*, 98(2), 796-798.

Dias, P. M., Loureiro, E. S., Amaral, F. A., Pessoa, L. G. A., Tosta, R. A. S. & Kowalski, R. L. (2017). Epizootia de *Metarhizium rileyi* (Far) em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional. In: 11^o ENEPEX UFGD- 8^o EPEX UEMS, Cassilândia, MS.

Dias, P. M., Loureiro, E. S., Pessoa, L. G. A., Mateus, M. P. B., Tosta, R. A. S., Oliveira Neto, F. M. & Devoz, G. L. R. (2019). EPIZOOTIA DE *Metarhizium rileyi* EM *Helicoverpa armigera* (lepidoptera: noctuidae) em cultivo de soja. 71 Reunião Anual da SBPC 21 - 27 de Julho de 2019. UFMS Campo Grande / MS. Anais... Campo Grande, MS.

Fregonesi, A. F., Mochi, D. A. & Monteiro, A. C. (2016). Compatibility of *Beauveria bassiana* in the laboratory for insecticides, herbicides and ripeners. *Arquivos do Instituto Biológico*, 83(e0242014), 1-8.

Gassen, M. H., Batista Filho, A., Zappelini, L. O. & Wenzel, I. M. (2008). Efeito de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre o Fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Arquivo do Instituto Biológico*, 75(3), 327-342.

Grigolli, J. F. J. & Grigolli, M. M. K. (2018, maio). Pragas da soja e seu controle. Tecnologia e Produção: Soja 2017/2018. Fundação MS. Maracaju - MS.

Ignoffo, C. M., Puttler, B., Hostetter, D. L. & Dickerson, W. A. (1976). Suscetibilidade da larva do repolho, *Trichoplusia ni*, e a lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*, para os isolados do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 28, 259-262.

Ikeda, F. S., Silva, J. N., Cavalieri, S. D. & Andrade Junior, E. R. (2019, novembro). Tolerância de cultivares de soja com e sem a tecnologia STS à aplicação de *chlorimuron-ethyl* em pré-emergência. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agrossilvipastoril, 4, 21.

Lima, A. R., Loureiro, S. L., Muchalak, F., Taira, T. L., Ferreira, F. N. & Nocchi, M. J. (2015). Ocorrência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson na *Spodoptera cosmioides* (Walk.) 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) em Chapadão do Sul-MS. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, 9(2), 57-59.

Lopes, R. B., Souza, D. A., Rocha, L. F. N., Montalva, C., Luz, C., Humber, R. A. & Faria, M. (2018). *Metarhizium alvesii* sp. nov.: a new member of the *Metarhizium anisopliae* species complex. *Journal of Invertebrate Pathology*, 151, 165-168.

Loureiro, E. S., Tosta, R. A. S., Dias, P. M., Pessoa, L. G. A., Oliveira Neto, F. M., Devoz, G. L. R. & Muchalak, F. (2020). Performance of *Metarhizium rileyi* applied on *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Journal Of Neotropical Agriculture*, 1(1), 1-16.

MAPA/AGROFIT. (2019). Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários - Consulta Aberta. Acesso em 15 janeiro, em http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

Oliveira Júnior, R. S. (2011). *Mecanismos de ação dos herbicidas*. In: Oliveira, R.S., Constantin, J. & Inoue, M. H. *Biologia e manejo de plantas daninhas*. Curitiba: Omnipax.

Pereira, A.S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1. Acesso em: 05 Abril 2020.

Rampelotti-Ferreira, F. T., Ferreira, A., Prado, H. F., Tcacenco, F. A., Grutzmacher, A. D. & Martins, J. F. S. (2010). Seletividade de agrotóxicos utilizados na cultura do arroz irrigado ao fungo *Metarhizium anisopliae*, agente de controle microbiano de *Tibraca limbativentris*. *Ciência Rural*, 40, 745-751.

Rossi-Zalaf, L. S., Alves, S. B., Lopes, R. B., Silveira Neto, S. & Tanzini, M. R. (2008). *Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças*. In: Alves, S. B.; Lopes, R. B. *Controle microbiano de pragas na América Latina*, Piracicaba: FEALQ.

Silva, R. A., Quintela, E. D., Mascarin, G. M., Barrigossi, J. A. F. & Lião, L. M. (2013). Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Scientia Agricola*, 70(3), 152-160.

Silva, R. Z., Neves, P. M. O. J. & Santoro, P.H. (2005). Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. *Ciências Agrárias*, 26(3), 305-312.

Silva, R. Z. & Neves, P. M. O. J. (2005). Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. and *in vitro* phytosanitary products. *Pest Management Science*, 61: 667-674.

Silva, S. S., Vargas, L. R. B. & Barros, N. M. (2011). Efeitos do glifosato na germinação do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi*. XIX Encontro de Jovens Pesquisadores - Universidade de Caxias do Sul, RS. Anais... Caxias do Sul, RS.

Thevissen, K., Kathelijne, K. A. Ferket, I. François, E. J. A. & Cammue, B. P. A. (2003). Interactions of antifungal plant defensins with fungal membrane components. *Peptides*, 24(11), 1705-1712.

Wojcienchowska, M., Bajan, C. & Kmitowa, E. K. (1977). The effects of carbamide herbicides, linuron and monolinuron, on three species of entomopathogenic fungi. 1. Laboratory studies. *Polish Ecological Studies*, 3(2), 29-42.

Zappelini, L. O., Almeida, J. E. M. & Gassen, M. H. (2005). Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com emulsificantes para óleo vegetal e pó molhável. *Arquivos do Instituto Biológico*, 72, 1-63.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Luis Gustavo Amorim Pessoa – 30%

Kênio Rodrigues Dutra – 20%

Elisângela de Souza Loureiro – 20%

Daimara Viviane Adão – 10%

Gabrielle dos Santos Oliveira – 10%

Pamella Mingotti Dias – 10%