

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DAIANE LUCKMANN**

**COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COMERCIAIS A  
FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E SELETIVIDADE A  
*Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE)**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO**

**2013**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DAIANE LUCKMANN**

**COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COMERCIAIS A  
FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E SELETIVIDADE A  
*Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE)**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO**

**2013**

DAIANE LUCKMANN

**COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COMERCIAIS A  
FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS E SELETIVIDADE A  
*Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Campus* Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo de Gouveia  
Co-Orientadores: Prof. Dr<sup>a</sup>. Michele Potrich; Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva.

PATO BRANCO

2013

Catálogo na Fonte por Elda Lopes Lira CRB9/1295

L941c Luckmann, Daiane

Compatibilidade de produtos naturais comerciais a fungos entomopatogênicos e seletividade a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) / Daiane Luckmann. - 2013.  
88 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Alfredo de Gouveia  
Coorientador: Michele Potrich  
Coorientador: Everton Ricardi Lozano da Silva

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco / PR, 2013.  
Bibliografia: f. xxx- xxy

1. *Beauveria bassiana*. 2. *Isaria* sp. 3. *Trichogramma pretiosum* I. Gouvea, Alfredo de, orient. II. Potrich, Michele coorient. III Silva, Everton Ricardi Lozano da Silva, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Título.

CDD (22.ed.)630



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná.  
Câmpus Pato Branco  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



### TERMO DE APROVAÇÃO


Título da Dissertação n.º 067

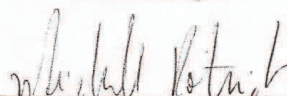
**Compatibilidade de produtos naturais comerciais a fungos entomopatogênicos e seletividade a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**  
por

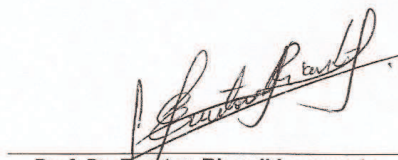
**Daiane Luckmann**

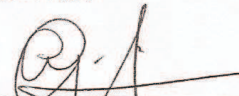
Dissertação apresentada às quatorze horas do dia vinte e dois de fevereiro de dois mil e treze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho. **A.P.R.O.V.A.D.O.**

Banca examinadora:


  
Prof. Dr. José Eduardo Marcondes  
de Almeida  
Instituto Biológico

  
Prof.ª Dr.ª Michele Potrich  
UTFPR/DV

  
Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da  
Silva  
UTFPR/DV

  
Prof. Dr. Alfredo de Gouvêa  
UTFPR/DV  
Orientador

Visto da Coordenação:

  
Prof. Dr. André Brugnara Soares  
Coordenador do PPGAG

Dedico este trabalho a minha filha,  
Eduarda, a pessoa que mais amo!!  
Sou um cadeado e você filha é a  
minha chave!!!

*Te amo!!!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e força durante toda a minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Alfredo de Gouveia pela orientação, pelos ensinamentos, pela sua amizade e confiança.

Aos Professores do programa de Pós – Graduação em Agronomia, como os quais dividiram seus conhecimentos.

Aos meus pais Lauro e Nilse, por tudo ....Pelo amor incondicional, pelo apoio, pelos estímulos e força sempre e, por acreditarem em mim. Pela educação e ensinamentos para vida e por tudo que fizeram por mim. EU AMO VOCÊS. Obrigada pai e mãe!!

Ao meu companheiro e esposo Marcelo, pela paciência, compreensão, apoio, por acreditar em mim por assumir o papel de mãe nos momentos de ausência. Obrigado por tudo. AMO VOCÊ!!

A minha filha, Eduarda, por todos os meus momentos de ausência, por ser esta pessoinha maravilhosa. TI AMO FILHA!!

Aos meus irmãos Fábio e Greice e (cunhada, cunhado e sobrinhos) pelo apoio, incentivo, são poucas as palavras, mas quero que sabiam que AMO TODOS VOCÊS!!

A família do meu esposo (sogro, sogra e cunhadas), pela ajuda nas horas essenciais, pela confiança e apoio.

Agradeço a “turma” do laboratório que me auxiliaram na montagem dos experimentos Carla, Diéli, Barbara, Thiego, Thiago, Lísia, Fernando, Matheus, Lucas, Aline, Sidinei, pelo companheirismo, convivência, risadas, e acima de tudo pela amizade conquistada. Sem vocês nenhuma destas páginas estaria completa!!

A minha amiga de vários anos Mariana Pizzatto, mesmo estando longe sempre me incentivando e apoiando. Obrigado por tudo Mari!!

A colega de mestrado Andreia Villani, pela amizade e companheirismo.

Aos colegas de mestrado e companheiros de viagem Darci, Kelly, Marcelo, Ana e Cristiano, pelas risadas, brincadeiras, e acima de tudo pelo companheirismo.



À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (*Campus Dois Vizinhos* e *Campus Pato Branco*) pela disponibilização de toda a infraestrutura.

À CAPES pela concessão da bolsa.

AGRADECIMENTO EM ESPECIAL a Prof. Dr<sup>a</sup>. Michele Potrich e ao Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva, por todo empenho, sabedoria, compreensão e, acima de tudo, pela confiança que depositaram em mim, pela orientação, pelos ensinamentos, pela amizade e por acreditarem em mim, não sei como agradecer, vocês são pessoas admiráveis. Vocês são as pessoas chaves desta dissertação, eu deixo aqui meu MUITOOOO mais MUITO OBRIGADO!!

E a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução dessa Dissertação.



As nuvens mudam sempre de posição, mas são sempre nuvens no céu. Assim devemos ser todo dia, mutantes, porém leais com o que pensamos e sonhamos: lembre-se, tudo se desmancha no ar, menos os pensamentos. Paulo Beleki.

## RESUMO

LUCKMANN, Daiane. Compatibilidade de produtos naturais comerciais a fungos entomopatogênicos e seletividade a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). f. 83. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

No sistema alternativo de produção, a utilização de agentes de controle biológico pode ocorrer conjuntamente com o uso de produtos naturais. Contudo, as informações a respeito do efeito de produtos naturais sobre agentes de controle biológico são escassas. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a compatibilidade dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Isaria* sp. com produtos naturais utilizados no sistema alternativo de produção, bem como a seletividade destes ao parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Para isto foram utilizados os isolados *B. bassiana* e *Isaria* sp. e, os produtos naturais Topneem, Baicao, Orobor<sup>®</sup>, Compostonat e Rotenat, nas concentrações recomendada pelo fabricante (CR), na metade ( $\frac{1}{2}$ CR) e no dobro desta (2CR). Para a avaliação da compatibilidade entre os produtos naturais e os fungos entomopatogênicos foram analisados os parâmetros: germinação, unidades formadoras de colônia (UFC), crescimento vegetativo e número de conídios por colônia. A associação dos produtos naturais com os fungos (*B. bassiana* e *Isaria* sp.) foi avaliada quanto a patogenicidade sobre lagartas de 3<sup>o</sup> instar de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), na concentração de  $1,0 \times 10^8$  con./mL. Foi avaliada diariamente a mortalidade de *A. kuehniella*, por um período de 10 dias. Para avaliar a seletividade dos produtos naturais a *T. pretiosum* estes foram pulverizados sobre ovos de *A. kuehniella* disponibilizados para o parasitismo por *T. pretiosum*. Para isto foram realizados dois testes: (a) com chance de escolha, avaliando-se a porcentagem de ovos parasitados por *T. pretiosum* quando este pode escolher entre ovos pulverizados com o produto ou pulverizados com a testemunha; e (b) sem chance de escolha, que consistiu em pulverizar os ovos de *A. kuehniella* com os produtos naturais previamente ou posteriormente ao parasitismo. Avaliou-se o número de ovos parasitados, porcentagem de emergência, longevidade e duração do período ovo-adulto. Verificou-se que para o fungo *Isaria* sp. a germinação foi afetada apenas pelo produto Compostonat. As UFCs não foram afetadas pelo produto Rotenat. Para a produção de conídios os produtos Topneem, Rotenat e Baicao reduziram este parâmetro. Já para o fungo *B. bassiana* a germinação de conídios foi reduzida apenas pelo Orobor<sup>®</sup>. Os produtos Orobor<sup>®</sup> e Baicao reduziram o diâmetro de colônia. Para a produção de conídios por colônia, todos os produtos reduziram este parâmetro. No entanto, os produtos não afetaram a patogenicidade dos fungos sobre *A. kuehniella*. Para a seletividade a *T. pretiosum* os produtos Baicao e Topneem afetaram negativamente o parasitismo para o teste com chance de escolha, como para o teste sem chance de escolha. Para a emergência apenas o produto Baicao afetou este parâmetro. Conclui-se que os produtos naturais testados, apesar de interferirem sobre alguns parâmetros biológicos dos fungos *Isaria* sp. e *B. bassiana*, se mostraram compatíveis em todas as concentrações. Os produtos naturais Orobor<sup>®</sup> e Topneem são seletivos ao parasitoide *T. pretiosum*. Já o produto

natural Baicao foi classificado como levemente nocivo quanto à toxicidade a adultos do parasitoide.

**Palavras-chave:** *Beauveria bassiana*. *Isaria* sp. Parasitoide.

## ABSTRACT

LUCKMANN, Daiane. Compatibility of natural products to commercial entomopathogenic fungi and selectivity *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). f. 83. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2013.

In alternative system for production, the use of biological control agents may occur together with the use of natural products. However, information about the effect of natural products on biological control agents are scarce. The objective of this study was to evaluate the compatibility of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Isaria* sp. with natural products used in alternative system of production as well as the selectivity of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). For this we used the strains *B. bassiana* and *Isaria* sp. and natural products Topneem, Baicao, Orobor<sup>®</sup>, Compostonat and Rotenat at concentrations recommended by the manufacturer (CR), half ( $\frac{1}{2}$  CR) and double this one (2CR). To evaluate the compatibility between natural products and entomopathogenic fungi were analyzed parameters: germination, colony forming units (CFU), vegetative growth and number of conidia per colony. The association of natural products with fungi (*B. bassiana* and *Isaria* sp.) was evaluated for pathogenicity on the 3rd instar larvae of *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in a concentration of  $1.0 \times 10^8$  con./mL. was evaluated daily mortality of *A. kuehniella*, for a period of 10 days. To evaluate the selectivity of natural products to *T. pretiosum* these were sprayed on eggs of *A. kuehniella* available for parasitism by *T. pretiosum*. For this two tests were performed: (a) free choice, by assessing the percentage of eggs parasitized by *T. pretiosum* when it can choose from eggs sprayed with the product or sprayed with the witness, and (b) no choice, which consisted of spraying the eggs of *A. kuehniella* with natural products previously or subsequently to parasitism. We evaluated the number of eggs parasitized, percentage of emergence, longevity and duration of the egg-adult. It was found that for the fungus *Isaria* sp. germination was affected only by the product Compostonat. The UFCs were not affected by the product Rotenat. For conidia production Topneem products, Rotenat and Baicao reduced this parameter. As for the fungus *B. bassiana* conidial germination was reduced by only Orobor<sup>®</sup>. Orobor<sup>®</sup> products and Baicao reduced the diameter of the colony. For conidia production per colony, all products have reduced this parameter. However, the products did not affect the pathogenicity of the fungus on *A. kuehniella*. Selectivity for the *T. pretiosum* products and Baicao Topneem negatively affected parasitism for the free-choice test, how to test no choice. For emergency only product Baicao affected this parameter. It is concluded that natural products tested, although on some biological parameters interfere fungi *Isaria* sp. and *B. bassiana*, proved compatible in all concentrations. Natural products Orobor<sup>®</sup> and Topneem are selective to the parasitoid *T. pretiosum*. Already Baicao the natural product was classified as slightly harmful for toxicity to the parasitoid adults.

**Keywords:** *Beauveria bassiana*. *Isaria* sp. Parasitoid.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01** -Mortalidade de *Anagasta kuehniella* tratada com água destilada, produto natural e a associação do produto natural com fungo entomopatogenico *Beauveria bassiana* na concentração recomendada. Temp.  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotofase e U.R. de  $70 \pm 10\%$ . ..... 44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1:</b> Produtos naturais utilizados, composição e concentração recomendada, conforme dados fornecidos pelo fabricante. ....	10
<b>Tabela 2.2:</b> Classificação da toxicidade de produtos sobre fungos entomopatogênicos. ....	13
<b>Tabela 2.3:</b> Classificação de Índice Biológico de produtos sobre fungos entomopatogênicos. ....	13
<b>Tabela 2.4:</b> Médias ( $\pm$ EP) de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), Germinação, Diâmetro de Colônias e Número de Conídios por Colônias do fungo entomopatogênico <i>Isaria</i> sp., pulverizados com produtos naturais em diferentes concentrações. Temp. $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ . ....	16
<b>Tabela 2.5:</b> Toxicidade (T), Índice Biológico (IB) e classificação dos produtos naturais quanto a compatibilidade com <i>Isaria</i> sp. ....	19
<b>Tabela 2.6:</b> Porcentagem de mortalidade média de lagartas de <i>Anagasta kuehniella</i> , tratadas com o isolado IBCB 369 <i>Isaria</i> sp., e a associação do fungo com produtos naturais na concentração recomendada. Temp. $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ . ....	21
<b>Tabela 3.1:</b> Produtos naturais utilizados, composição e concentração recomendada, conforme dados fornecidos pelo fabricante. ....	31
<b>Tabela 3.2:</b> Classificação da toxicidade de produtos sobre fungos entomopatogênicos. ....	34
<b>Tabela 3.3:</b> Classificação do Índice Biológico de produtos sobre fungos entomopatogênicos. ....	34
<b>Tabela 3.4:</b> Médias ( $\pm$ EP) de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), Germinação, Diâmetro de Colônias e Número de Conídios por Colônias do fungo entomopatogênico <i>Beauveria bassiana</i> , pulverizado com produtos naturais em diferentes concentrações. Temp. $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , 12 h de fotofase e U.R. de $75 \pm 10\%$ . ....	37
<b>Tabela 3.5:</b> Toxicidade (T) e Índice Biológico (IB) e classificação dos produtos naturais quanto à compatibilidade a <i>Beauveria bassiana</i> . ....	41
<b>Tabela 3.6:</b> Porcentagem média ( $\pm$ EP) de mortalidade confirmada de lagartas de <i>Anagasta kuehniella</i> , tratadas com o isolado IBCB 268 de <i>B. bassiana</i> , e a associação do fungo com produtos naturais na concentração recomendada. Temp. $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ . ....	42
<b>Tabela 4.1:</b> Produtos naturais utilizados, composição e concentração recomendada, conforme dados fornecidos pelo fabricante. ....	55
<b>Tabela 4.2:</b> Porcentagem de ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> parasitados por <i>Trichogramma pretiosum</i> , com chance de escolha entre ovos pulverizados com produtos naturais ou testemunha (temp. $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e 14h de fotofase). ....	58
<b>Tabela 4.3:</b> Número de ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> parasitados por <i>Trichogramma pretiosum</i> , pulverizados com produtos naturais previa ou posteriormente ao parasitismo (temp. $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e 14h de fotofase). ....	60

<b>Tabela 4.4:</b> Porcentagem de adultos de <i>Trichogramma pretiosum</i> emergidos de ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> pulverizados com produtos naturais, previamente ou posteriormente ao parasitismo (temp. $26 \pm 2$ C e 14h de fotofase).....	62
<b>Tabela 4.5:</b> Longevidade de fêmeas e machos de <i>Trichogramma pretiosum</i> emergidos de ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> pulverizados com produtos naturais previamente e posteriormente ao parasitismo (temp. $26 \pm 2$ C e 14h de fotofase).....	63
<b>Tabela 4.6:</b> Período ovo-adulto de fêmeas e machos de <i>Trichogramma pretiosum</i> emergidos de ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> pulverizados com produtos naturais previamente e posteriormente ao parasitismo (temp. $26 \pm 2$ C e 14h de fotofase).....	64



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>4</b>
<b>2 CAPÍTULO I – COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO <i>Isaria</i> sp. (WIZE) BROWN&amp; SMITH</b> .....	<b>7</b>
2.1 RESUMO.....	7
2.2 ABSTRACT .....	7
2.3 INTRODUÇÃO .....	8
2.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	9
2.4.1 Obtenção do Fungo e Produtos Naturais Comerciais .....	9
2.4.2 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico <i>Isaria</i> sp.....	10
2.4.3 Teste de Patogenicidade de <i>Isaria</i> sp. associado aos produtos naturais comerciais Sobre <i>Anagasta kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) .....	13
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
2.5.1 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico <i>Isaria</i> sp.....	15
2.5.2 Teste de Patogenicidade Sobre <i>Anagasta kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) .....	20
2.6 CONCLUSÕES .....	22
2.7 REFERÊNCIAS .....	23
<b>3CAPÍTULO II - COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICOS <i>Beauveria bassiana</i> (BALS.) VUILLEMIN</b> .....	<b>28</b>
3.1 RESUMO.....	28
3.2 ABSTRACT:.....	28
3.3 INTRODUÇÃO .....	29
3.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	30
3.4.1 Obtenção do Fungo e Produtos Naturais Comerciais .....	31
3.4.2 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico <i>B. bassiana</i> .....	32
3.4.3 Teste de Patogenicidade de <i>Beauveria bassiana</i> Associado aos produtos naturais Comerciais Sobre <i>Anagasta kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) .....	34
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
3.5.1 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico <i>B. bassiana</i> .....	36
3.5.2 Teste de Patogenicidade de <i>Beauveria bassiana</i> Associado aos produtos naturais Comerciais Sobre <i>Anagasta kuehniella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) .....	41
3.6 CONCLUSÕES .....	45
3.7 REFERÊNCIAS .....	47
<b>4 CAPÍTULO III - SELETIVIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COMERCIAIS a</b>	

<b><i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)</b> .....	52
4.1 RESUMO.....	52
4.2 ABSTRACT .....	52
4.3 INTRODUÇÃO .....	53
4.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	54
4.4.1 Aquisição dos Ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> e Adultos de <i>Trichogramma pretiosum</i> .....	54
4.4.2 Obtenção de Produtos Naturais .....	55
4.4.3 Preparação dos Bioensaios e Pulverização dos Produtos Naturais .....	55
4.4.4 Teste com Chance de Escolha .....	55
4.4.5 Teste sem Chance de Escolha .....	56
4.4.5.1 Pulverização pré-parasitismo .....	56
4.4.5.2 Pulverização pós-parasitismo.....	57
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
4.5.1 Teste com Chance de Escolha .....	58
4.5.2 Teste sem Chance de Escolha: Pulverização Pré e Pós - Parasitismo .....	59
4.6 CONCLUSÕES .....	65
4.7 REFERÊNCIAS .....	66
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>69</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Os alimentos mais saudáveis e livres de contaminações por produtos sintéticos estão ganhando cada vez mais espaço nas feiras e nas prateleiras dos supermercados. No entanto, a produção requer um cuidado minucioso, em especial nos sistemas alternativos de produção que fazem uso de uma série de produtos naturais (ou alternativos) para o controle de pragas e doenças, além da utilização de agentes de controle biológico.

Os produtos conhecidos como naturais são, normalmente, oriundos de extratos vegetais e misturas feitas pelo próprio produtor ou de produtos vendidos em lojas especializadas para este tipo de sistema de produção. Devido à variedade de substâncias que os compõem, possuem diversos princípios ativos, mesmo assim, são considerados menos tóxicos ao homem e à outros animais, quando comparados aos produtos convencionais, além de serem facilmente degradados, deixando menos resíduos nos alimentos e ambiente.

Os sistemas alternativos de produção também se destaca o controle biológico, que segundo Parra et al., (2002), é um fenômeno natural que consiste na regulação do número de plantas e animais por inimigos naturais, os quais se constituem nos agentes de mortalidade biótica. Entre os agentes de controle biológico, os fungos entomopatogênicos, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Isaria* sp. (Wise) Brown & Smith se destacam, sendo encontrados no campo atacando diversas ordens de insetos (GALLO et al., 2002; ALVES, 1998). Outro agente biológico que vem ganhando destaque em programas de controle biológico é o dos parasitoides, em especial do gênero *Trichogramma*, que tem têm sido utilizado em diversas culturas (ZUCHI; MONTEIRO, 1997; PARRA et al., 2002), O caso mais relevante de controle biológico aplicado com a utilização de *Trichogramma* no Brasil refere-se ao uso de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (PARRA et al., 2002).

Ocorre que, os agricultores, que trabalham com sistemas alternativos de produção, muitas vezes aplicam fungos entomopatogênicos e na sequência produtos naturais para o controle de pragas e doenças. Apesar de algumas pesquisas já terem sido realizadas sobre a compatibilidade destes agentes, novos

estudos e produtos surgem no mercado a cada ano e os testes de compatibilidade tornam-se necessários para o sucesso destas técnicas de controle. Depieri; Martinez; Menezes, (2005) avaliaram uma formulação comercial de óleo emulsionável de neem (*Azadirachta indica*) (Meliaceae), extrato aquoso de sementes e extrato aquoso de folhas de neem sobre *B. bassiana* e observaram que os extratos de sementes e de folhas mostraram-se menos prejudiciais que o óleo emulsionável. Zorzetti et al., (2012) relatam que o extrato etanólico de folhas de *A. indica* não afetou a germinação, unidades formadoras de colônias e o crescimento vegetativo do fungo *B. bassiana*.

Mertz et al., (2010) avaliaram a compatibilidade *in vitro* e *in vivo*, utilizando os produtos comerciais Agro-mos<sup>®</sup>, Ecolife<sup>®</sup> e Dalneem<sup>®</sup> e extratos das plantas cúrcuma (*Curcuma longa*) (Zingiberaceae), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) e citronela (*Cymbopogon nardus*) (Poaceae) sobre *B. bassiana*. Segundo os autores, os produtos comerciais afetaram os parâmetros crescimento vegetativo, germinação e produção de conídios, já os extratos de plantas reduziram a viabilidade do fungo *in vitro*, mas se mostraram compatíveis com o fungo. No teste *in vivo*, os extratos de citronela (1%, 5% e 10%), cúrcuma (1%) e capim-limão (1%, 5%, 10%, e 15%), quando em contato com o fungo *B. bassiana*, não interferiram na virulência do fungo sobre a mortalidade de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Segundo Rossi-Zalaf et al.,(2008) acreditam que a associação entre os agentes de controle pode aumentar a eficácia dos produtos e dos agentes biológicos envolvidos, reduzindo assim os resíduos de agrotóxicos e contribuindo para o manejo adequado de pragas resistentes, podendo assim obter um controle mais eficaz das populações de insetos praga. Apesar disso Ferreira, (2011), poucos trabalhos avaliando a compatibilidade *in vitro* e *in vivo* de entomopatógenos com produtos químicos sintéticos, incluindo também produtos a base de plantas inseticidas, têm sido relatados.

Entretanto, a aplicação de produtos naturais nos sistemas alternativos de produção pode não ser totalmente segura, não apenas para os fungos, mas também para os parasitoides, matando-os ou afetando positivamente ou negativamente seus parâmetros biológicos como o parasitismo, emergência de adultos, longevidade e período ovo-adulto. Neste sentido, Oliveira; Pratissoli; Bueno, (2003) avaliaram o efeito do produto comercial a base de *A. indica* (NIM-I-GO

Agrydine S.A.), em diferentes concentrações, e observaram redução do parasitismo de *T. pretiosum* e, a redução da longevidade das fêmeas que efetuaram o parasitismo em até 50%, na maior concentração (400mL/20L de calda). Silva (2010), testou os produtos Pironin, Biogermex, Ecolife<sup>®</sup>, Extrato de Crisântemo, Planta Clean, Mattam Plus, Natural Neem, Supermagro, Calda Sulfocálcica e Bion<sup>®</sup> pulverizados sobre ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) no pré e pós-parasitismo e, em diferentes fases do desenvolvimento de *T. pretiosum*. Estes autores verificaram que o Extrato de Crisântemo e a Calda Sulfocálcica reduziram o número de ovos parasitados quando aplicados no pré-parasitismo, enquanto os demais produtos não afetaram nenhum dos outros parâmetros avaliados.

As informações do efeito de produtos naturais sobre agentes de controle biológico ainda são escassas, sendo, portanto, necessários estudos para avaliar o efeito destes produtos sobre fungos entomopatogênicos e parasitoides. Estas interações, entre os agentes de controle biológico e produtos naturais, podem acontecer pelo fato dos produtos naturais inviabilizarem o fungo ou pela interferência nos parâmetros biológicos deste. O mesmo também ocorre com os parasitoides, que podem morrer ao entrar em contato com os produtos naturais, podem ser repelidos afetando diretamente o parasitismo ou podem ter seus parâmetros afetados, o que também comprometeria direta ou indiretamente o parasitismo e, conseqüentemente, o controle dos insetos-praga. Esses efeitos podem ser minimizados através da seleção de produtos naturais, que não causem efeitos negativos sobre estes agentes. Com isso, avaliou-se compatibilidade de produtos naturais e os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *Isaria* sp., e a seletividade destes produtos a *T. pretiosum*.

## 2 CAPÍTULO I – COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Isaria* sp. (WIZE) BROWN & SMITH

### 2.1 RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a compatibilidade de produtos naturais comerciais com o fungo entomopatogênico *Isaria* sp. Foram utilizados os produtos Baicao, Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat e Compostonat, nas concentrações recomendadas pelos fabricantes (CR), na metade ( $\frac{1}{2}$ CR) e no dobro desta (2CR). Para a avaliação da compatibilidade foram analisados os parâmetros: Germinação, Unidades Formadoras de Colônia (UFC), Crescimento Vegetativo e a Produção de Conídios por colônias e, os cálculos de compatibilidade foram realizados por meio dos índices de toxicidade e índice biológico. A associação dos produtos naturais e *Isaria* sp. foi avaliada quanto a patogenicidade do fungo sobre lagartas de 3<sup>o</sup> instar de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) na concentração de  $1,0 \times 10^8$  con./mL. A mortalidade foi avaliada diariamente por um período de 10 dias. Verificou-se que o produto Orobor<sup>®</sup> provocou redução nas UFCs e no diâmetro de colônias, enquanto os produtos Topneem, Rotenat e Baicao reduziram as UFCs e o número de conídios por colônias. Já Compostonat reduziu as UFCs, germinação e o diâmetro de colônias. De acordo com a toxicidade e o índice biológico os produtos naturais foram compatíveis com o fungo *Isaria* sp. Apesar dos produtos naturais interferirem sobre alguns parâmetros biológicos do fungo *Isaria* sp, não afetaram negativamente a patogenicidade deste para *A. kuehniella*, sendo compatíveis em todas as concentrações.

Palavras-chaves: Seletividade. Controle Biológico. Controle Associado.

### 2.2 ABSTRACT

This study aimed to assess the compatibility of natural products trade with the entomopathogenic fungus *Isaria* sp. We used the products Baicao, Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat and Compostonat at concentrations recommended by the manufacturers (CR), half ( $\frac{1}{2}$  CR) and at double this (2CR). To evaluate the compatibility parameters were analyzed: Germination, colony forming units (CFU), Vegetative Growth and Production of conidia by colonies and compatibility calculations were performed using the indices of toxicity and biological index. The association of natural products and *Isaria* sp. was evaluated as the pathogenicity of the fungus on the 3rd instar larvae of *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in a concentration of  $1.0 \times 10^8$  con. / mL. Mortality was assessed daily for a period of 10 days. It was found that the product Orobor<sup>®</sup> caused reduction in CFUs and the diameter of colonies, while products Topneem, Rotenat and Baicao reduced and the number of CFUs per spore colonies. Already Compostonat reduced the UFCs, germination and colony diameter. According to the toxicity and biological index natural products were consistent with the fungus *Isaria* sp. Despite the natural

products interfere on some biological parameters of the fungus *Isaria* sp, did not affect the pathogenicity of this to *A. kuehniella*, being supported at all concentrations.

Keywords: Selectivity. Biological Control. Associated control.

## 2.3 INTRODUÇÃO

A busca por estratégias ecológicas para o controle de pragas e doenças nos sistemas de produção tendem a conciliar as necessidades de manter a propriedade agrícola rentável com o equilíbrio ecológico (FERNANDES; LEITE; MOREIRA, 2008). Durante esse processo do sistema, as culturas estão suscetíveis ao ataque de pragas e doenças, sendo, portanto, necessária a intervenção com a utilização de produtos para o controle das mesmas. Neste modelo de sistema alternativo de produção opta-se pela utilização de produtos chamados de alternativos ou naturais (PENTEADO, 2007; FERNANDES; LEITE; MOREIRA, 2008). Estes produtos recebem esta denominação por serem oriundos de produtos ou agentes da natureza e serem alternativos ao modelo de produtos sintéticos, convencionalmente, utilizados.

No mercado existem diversos produtos naturais que apresentam grande importância no controle de pragas, entre eles citam-se os produtos naturais Compostonat, Rotenat e Neempro apresentam ação inseticida sobre *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (ANDRADE, 2010; ANDRADE et al., 2012), Pironim (a base de neem) apresenta potencial para controle sobre *Vatiga manihotae* (Drake) (Hemiptera: Tingidae) (BELLON, 2010), ainda, o óleo de neem apresenta efeito sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (FERREIRA, 2011).

Além dos produtos naturais, os fungos entomopatogênicos possuem grande importância para o controle de pragas, e dentre estes fungos, destaca-se o gênero *Isaria* (= *Paecilomyces*), que reúne diversas espécies (ALVES, 1998). Tal fungo tem se mostrado potencial no controle para diversas pragas como a formiga cortadeira *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae) (LOUREIRO; MONTEIRO, 2005), *B. tabaci* (CABANILLAS; JONES, 2009; POTRICH et al., 2011) e *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) (XU; ALI; HUANG, 2011).



Os agricultores que trabalham com sistemas alternativos de produção, muitas vezes, aplicam fungos entomopatogênicos concomitantemente aos produtos naturais para o controle de diferentes pragas e doenças. A ação dos produtos fitossanitários ou naturais, sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das concentrações utilizadas. Estes produtos podem atuar inibindo o crescimento vegetativo, a conidiogênese e a esporulação dos micro-organismos, e até causar mutações genéticas, fatores que podem levar a diminuição da virulência à determinada praga (ALVES et al. 1998). Assim, os testes de compatibilidade tornam-se necessários para o sucesso destas técnicas de controle.

Neste sentido Landa; Bohata, (1999) constataram que dois inseticidas, derivados do neem, não afetaram o crescimento e germinação de conídios do fungo *Paecilomyces fumosoroseus* (= *Isaria* sp.) . No entanto, Marques; Monteiro; Pereira, (2004) constataram que o óleo de neem inibiu o crescimento e esporulação do fungo entomopatogênico *Paecilomyces farinosus*. Verifica-se que os resultados apresentam variações, de acordo com o produto utilizado e o fungo testado. Além disso, novos produtos naturais são lançados a cada ano no mercado e a necessidade de avaliar os efeitos destes produtos sobre organismos não alvos, torna-se essencial, para conhecer os possíveis efeitos que estes produtos podem causar sobre os fungos entomopatogênicos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade de produtos naturais comerciais sobre o fungo entomopatogênico *Isaria* sp.

## 2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

### 2.4.1 Obtenção do Fungo e Produtos Naturais Comerciais

O fungo utilizado foi *Isaria* sp., isolado IBCB 367, fornecido pelo Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico de São Paulo, Campinas SP. A partir do inóculo conservado em freezer, o isolado foi reativado e multiplicado, em meio BDA (Batata Dextrose Ágar) pelo método de placa cheia. Este foi mantido durante oito dias em câmara climatizada tipo B.O.D., à temperatura de 26 °C e 12 h de fotofase, para crescimento. Posteriormente, o fungo foi raspado do meio de cultura, com o auxílio de espátula, e transferido para eppendorf esterilizado, por um período máximo de 10 dias (ALVES et al., 1998).

Para a realização dos bioensaios foram usados produtos naturais certificados para o cultivo de diferentes culturas, utilizado e comercializado para a agricultura orgânica (Tabela 2.1). Os produtos foram avaliados nas concentrações recomendada pelo fabricante (CR), na metade ( $\frac{1}{2}$  CR) e no dobro desta (2 CR).

**Tabela 2.1:** Produtos naturais comerciais utilizados no experimento, recomendação de uso, composição e concentração recomendada, conforme dados fornecidos pelo fabricante.

Produto	Uso	Composição	Conc.
Orobor <sup>®</sup>	FF	Óleo da casca de laranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) enriquecido com elementos essencial Boro e Nitrogênio	0,005 L/1000 L
Baicao	FF	Raiz de Timbó ( <i>Derris</i> sp.)	0,0015 L/1000 L
Topneem	INS FUN e BAC	Óleo de neem (folhas, torta de sementes, e óleo), rotenona (timbó), piretro natural (crisântemo), extrato pirolenhoso (eucalipto), alho ( <i>Allium sativum</i> ), alamanda ( <i>Allamanda blanchetti</i> ), maravilha ( <i>Mirabilis Jalapa</i> ), cinamomo ( <i>Melia azedarach</i> ) e pimenta do reino ( <i>Piper nigrum</i> )	0,01L/ 1000 L
Compostonat	INS	Neem, timbó ( <i>Derris</i> sp.), gerânio ( <i>Pelargonium hortorum</i> ), pimenta longa ( <i>Piper hispidinervium</i> ) e outros extratos	1 L/ 1000 L
Rotenat	INS	Extrato de <i>Derris</i> sp e ácidos graxos, principio ativo rotenona	1 L / 6 L

Conc.= Concentração Recomendada

FF= Fertilizante Foliar; INS= Inseticida; FUN=Fungicida; BAC=Bactericida;

#### 2.4.2 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico *Isaria* sp.

Os parâmetros biológicos avaliados foram Germinação, Unidades Formadoras de Colônia (UFC), Crescimento Vegetativo e Produção de Conídios.

Para avaliar a germinação foi preparado meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar, à base de batata (200 g), dextrose (20 g), ágar (15 g) e 1000 mL de água destilada) e, vertido em placas de Petri contendo uma lâmina para microscopia ao fundo.

Após a solidificação do BDA, com o auxílio de um micropipetador automático, foram inoculados em sua superfície 100 µL da suspensão do fungo *Isaria* sp. contendo  $1,0 \times 10^6$  con./mL, espalhado-se sobre o meio de cultura com o auxílio de uma alça de Drygalski. Em seguida, foi feita a pulverização dos produtos naturais nas diferentes concentrações utilizando-se de um aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a um compressor de ar da marca Fanem<sup>®</sup>, sob pressão constante de  $1,2 \text{ Kgf.cm}^{-1}$ . Foram aplicados 250 µL dos produtos naturais comerciais, nas concentrações estudadas em cada repetição. Este procedimento de pulverização foi realizado para todos os bioensaios. Para cada tratamento foram preparadas cinco placas, sendo cada placa/lâmina considerada uma repetição.

As placas contendo as lâminas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D. à temperatura de  $26 \text{ °C} \pm 1\text{°C}$ , UR:  $70\% \pm 10\%$  e 12 h de fotofase, por 16 h e, após este período, as lâminas foram retiradas para realizar a contagem do número de conídios germinados e não germinados, com auxílio do microscópio óptico Tecnival<sup>®</sup>, com objetiva de 400 vezes de aumento. Para todos os tratamentos a testemunha constou de uma suspensão oriunda de água destilada esterilizada com tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%) e pulverizada sobre o fungo. A germinação dos conídios foi calculada por porcentagem pela equação

$$P = \frac{(CG)}{(CG + CNG)} \times 100$$

onde  $P$  = Porcentagem de Germinados,  $CG$  = Conídios Germinados e  $CNG$  = Conídios não Germinados.

As unidades formadoras de colônia (UFC) foram avaliadas inoculando-se 100 µL da suspensão do fungo ( $1,0 \times 10^3$  con./mL) sobre a superfície do meio de cultura de BDA solidificado, em placas de Petri, sendo cinco placas por tratamento. Em seguida, os produtos foram pulverizados e acondicionados em câmara climatizada, durante seis dias nas mesmas condições descritas anteriormente. Posteriormente, foram quantificadas as UFCs, conforme metodologia descrita por Silva; Neves; Santoro, (2005).

Para avaliar o crescimento vegetativo, o fungo foi inoculado, com o auxílio de uma alça de platina, em três pontos na superfície do meio de cultura BDA, em placas de Petri, sendo utilizadas cinco placas para cada tratamento. A pulverização dos produtos foi feita após 24 h, a fim de evitar a remoção dos conídios. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo BOD nas mesmas condições descritas anteriormente. Após sete dias foram realizadas duas medidas perpendiculares em cada colônia, obtendo-se o diâmetro médio (SILVA; NEVES; SANTORO, 2005).

Depois de avaliar o diâmetro médio das colônias, as mesmas foram recortadas e transferidas, individualmente, para um tubo de vidro de fundo chato esterilizado contendo 10 mL de água destilada esterilizada com tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%). A suspensão foi agitada em vórtex durante dois minutos, para o desprendimento dos conídios e, em seguida, estes foram quantificados em câmara de Neubauer.

Para a produção de conídios/cm<sup>2</sup> foi calculada pelas fórmulas  $A = \pi r^2$ , onde  $A$  = área,  $r^2$  = raio das colônias, e  $CC = \frac{NC}{Área}$  onde,  $CC$  = Conídios/cm<sup>2</sup>,  $NC$  = Número de conídios por colônia.

Para todos os parâmetros, os dados foram analisados quanto à variância e comparados pelo teste Tukey, com 5% de significância no programa Bioestat 5.0<sup>®</sup> (AYRES et al., 2007).

O cálculo do fator de compatibilidade entre os tratamentos e o fungo foi obtido pela equação proposta por Alves; Moino Jr; Almeida, (1998):

$$T = \frac{20(VG) + 80(ESP)}{100}$$

$T$  = valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para a classificação do produto,  $ESP$  = porcentagem de esporulação (produção de conídios) com relação à testemunha,  $VG$  = porcentagem de crescimento vegetativo (diâmetro de colônia) com relação à testemunha.

Os valores calculados do  $T$  ( $p=0,05$ ) foram comparados com os limites estabelecidos por Alves; Moino Jr; Almeida (1998), (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2:** Classificação da toxicidade de produtos fitossanitários sobre fungos entomopatogênicos.

Valor de T	Classificação do Produto
0 a 30	Muito Tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente Tóxico
> 60	Compatível

O índice biológico foi calculado pela equação proposta por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al.,(2008):

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}$$

sendo que: **IB** = Índice Biológico; CV= porcentagem do crescimento vegetativo (diâmetro de colônia) da colônia após sete dias, em relação à testemunha; ESP = porcentagem da esporulação (produção de conídios) das colônias após sete dias, em relação à testemunha; GER = porcentagem de germinação dos conídios após 16 h, visto que os valores de CV, ESP e GER foram previamente corrigidos em relação às respectivas testemunhas.

Os valores calculados do IB (p=0,05) foram comparados com os limites estabelecidos por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al.,(2008) (Tabela 2.3).

**Tabela 2.3:** Classificação de Índice Biológico de produtos fitossanitários sobre fungos entomopatogênicos.

Valor de IB	Classificação do Produto
0 – 41	Tóxico
42 – 66	Moderadamente Tóxico
> 66	Compatível

#### 2.4.3 Teste de Patogenicidade de *Isaria* sp. Associado aos Produtos Naturais Comerciais Sobre *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

Para esta etapa, o fungo foi inoculado, com o auxílio de uma alça de platina, em três pontos na superfície do meio de cultura BDA e, após 24 h, os produtos naturais foram pulverizados utilizando-se de um aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a um compressor de ar da marca Fanem<sup>®</sup>, sob pressão constante de 1,2 Kgf.cm<sup>-1</sup>. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo BOD à temperatura de 26 °C ± 1°C, 70 ± 10% e 12 h de fotofase, por 10 dias.

Após dez dias o fungo foi raspado com auxílio de uma espátula e colocado em tubos de vidro de fundo chato, com 10 mL de água esterilizada contendo tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%), procedendo-se as diluições seriadas para contagem em câmara de Neubauer (ALVES; MORAES, 1998), a fim de padronizar em  $1,0 \times 10^8$  conídios/ml. As lagartas de *A. kuehniella*, de terceiro ínstar, foram obtidas da criação do Laboratório de Controle Biológico da UTFPR - *Campus Dois Vizinhos*.

Os tratamentos utilizados foram: 1= *Isaria* sp. pulverizado Orobor ; 2= Orobor; 3= *Isaria* sp. pulverizado Topneem; 4= Topneem; 5= *Isaria* sp. pulverizado Baicao; 6= Baicao; 7= *Isaria* sp. pulverizado Rotenat ; 8= Rotenat; 9= *Isaria* sp. pulverizado Compostonat; 10= Compostonat; 11= Testemunha água destilada esterilizada + Tween; 12= Testemunha *Isaria* sp. Foram preparadas as caldas dos diferentes produtos naturais (Tabela 2.1) na concentração recomendada pelo fabricante.

Para a condução dos bioensaios, 20 lagartas de *A. kuehniella* foram imersas em um mL da suspensão do tratamento, em um recipiente de 100 mL, sendo agitado por um minuto. As lagartas foram transferidas para placas de Petri, contendo dieta artificial esterilizada para *A. kuehniella*, e acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D. à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, totalizando 80 lagartas por tratamento. Avaliou-se a mortalidade diariamente até o décimo dia.

Para os tratamentos com a presença do fungo os insetos mortos foram colocados em placa de petri contendo um papel filtro umedecido formando uma câmara úmida, que foi acondicionada em câmara climatizada tipo B.O.D. à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h, para confirmação do agente causal.

Os dados foram analisado quanto à variância e comparado às médias pelo teste Tukey, com 5% de significância no programa Bioestat 5.0<sup>®</sup> (AYRES et al., 2007).

## 2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.5.1 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico *Isaria* sp.

Para o parâmetro UFCs observou-se que o produto Rotenat, nas concentrações avaliadas, não provocou redução significativa quando comparados a testemunha (Tabela 2.4). Por outro lado, os produtos Orobor<sup>®</sup>, Topneem e Compostonat, em todas as concentrações avaliadas reduziram o número de UFCs em relação à testemunha, diferindo significativamente desta, assim, o produto Orobor<sup>®</sup> na concentração 2CR reduziu 81,46 %, na CR 71,73%, e na ½ CR reduziu 68,57%, já o produto Topneem na concentração CR reduziu em 75,10%, na ½ CR 62,04%, e na 2 CR reduziu em 53,36%, já o produto Compostonat na concentração ½ CR reduziu em 76,12%, na CR 63,97%, e na 2 CR reduziu em 46,02% (Tabela 2.4). De acordo com Stulp et al., (2011) o produto Orobor<sup>®</sup> apresenta efeito no controle das doenças ocasionadas pelos fungos *Clasdosporium* spp., *Trichoderma* spp. e Giberela ou Fusariose da espiga, em sementes de trigo, destacando o possível efeito inibidor de fungos.



**Tabela 2.4:** Médias ( $\pm$  EP) de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), Germinação, Diâmetro de Colônia e Número de Conídios por Colônia do fungo entomopatogênico *Isaria* sp., pulverizados com produtos naturais em diferentes concentrações. Temp.26  $\pm$  1°C, 12 h de fotofase e U.R. de 70  $\pm$  10%.

Trat. <sup>1</sup>	Unidades Formadoras de Colônias		Germinação		Diâmetro de Colônias		Número de conídios por Colônias		Conídios/cm <sup>2</sup>	
	(%) variação*	(%) variação*	(%) variação*	(%) variação*	(cm)	(%) variação*	10'	(%) variação*	10'	(%) variação*
<b>Orobor®</b>	0	196,0 $\pm$ 34,46 a	-	92,7 $\pm$ 1,75 a	-	3,2 $\pm$ 0,09 b	-	52,8 $\pm$ 5,72 a	-	6,3 $\pm$ 0,57 a
	½ CR	61,6 $\pm$ 16,62 b	- 68,57	92,5 $\pm$ 2,42 a	- 0,21	3,4 $\pm$ 0,03 ab	6,27	37,6 $\pm$ 4,20 a	- 29,65	3,9 $\pm$ 0,45 b
	CR	55,4 $\pm$ 13,72 b	- 71,73	93,3 $\pm$ 0,92 a	0,60	3,5 $\pm$ 0,03 a	7,55	46,0 $\pm$ 4,51 a	- 13,36	4,8 $\pm$ 0,59 ab
	2 CR	32,4 $\pm$ 11,25 b	- 83,46	93,0 $\pm$ 0,81 a	0,34	3,3 $\pm$ 0,05 ab	3,92	43,1 $\pm$ 5,14 a	- 18,35	4,8 $\pm$ 0,63 ab
<i>p</i> =	0,0004		0,9879		0,0328		0,1656		0,0243	
<b>Topneem</b>	0	196,0 $\pm$ 34,46 a	-	92,7 $\pm$ 1,75 a	-	3,2 $\pm$ 0,09 b	-	52,8 $\pm$ 5,72 ab	-	6,3 $\pm$ 0,57 a
	½ CR	74,4 $\pm$ 11,47 b	- 62,04	94,8 $\pm$ 0,81 a	2,25	3,5 $\pm$ 0,03 a	8,45	61,6 $\pm$ 6,39 a	16,64	6,3 $\pm$ 0,67 a
	CR	48,8 $\pm$ 15,44 b	- 75,10	92,4 $\pm$ 1,88 a	- 0,34	3,5 $\pm$ 0,02 a	8,25	40,0 $\pm$ 5,26 bc	- 24,19	4,1 $\pm$ 0,59 b
	2 CR	91,4 $\pm$ 10,10 b	- 53,36	94,3 $\pm$ 0,37 a	1,70	3,5 $\pm$ 0,05 a	9,85	26,3 $\pm$ 3,97 c	- 50,23	2,5 $\pm$ 0,32 b
<i>p</i> =	0,0008		0,5347		0,0027		0,0004		0,0001	
<b>Rotenat</b>	0	196,0 $\pm$ 34,46 a	-	92,7 $\pm$ 1,75 a	-	3,2 $\pm$ 0,09 a	-	52,8 $\pm$ 5,72 a	-	6,3 $\pm$ 0,57 a
	½ CR	112,8 $\pm$ 19,15 a	- 42,44	86,7 $\pm$ 3,26 a	- 6,40	3,4 $\pm$ 0,08 a	3,96	47,4 $\pm$ 5,89 ab	- 10,25	5,0 $\pm$ 0,61 ab
	CR	122,2 $\pm$ 8,60 a	- 37,65	90,8 $\pm$ 2,13 a	- 2,07	3,5 $\pm$ 0,06 a	5,37	59,4 $\pm$ 7,37 a	12,47	6,0 $\pm$ 0,74 a
	2 CR	127,5 $\pm$ 34,65 a	- 34,94	85,9 $\pm$ 6,67 a	- 7,36	3,5 $\pm$ 0,05 a	7,55	33,5 $\pm$ 4,34 b	- 36,51	3,4 $\pm$ 0,41 b
<i>p</i> =	0,0899		0,5862		0,0459		0,0227		0,0054	
<b>Baicao</b>	0	196,0 $\pm$ 34,46 a	-	92,7 $\pm$ 1,75 a	-	3,2 $\pm$ 0,09 a	-	52,8 $\pm$ 5,72 a	-	6,3 $\pm$ 0,57 a
	½ CR	122,0 $\pm$ 21,43 ab	- 37,65	95,0 $\pm$ 1,50 a	2,44	3,3 $\pm$ 0,06 a	11,39	31,4 $\pm$ 3,43 b	- 40,42	3,3 $\pm$ 0,45 b
	CR	85,6 $\pm$ 13,54 b	- 56,32	93,6 $\pm$ 1,15 a	1,00	3,4 $\pm$ 0,04 a	6,78	57,2 $\pm$ 5,18 a	8,35	6,2 $\pm$ 0,30 a
	2 CR	99,5 $\pm$ 6,98 b	- 49,23	77,2 $\pm$ 17,22 a	- 16,70	3,5 $\pm$ 0,04 a	7,81	47,3 $\pm$ 4,55 ab	- 10,29	4,9 $\pm$ 0,56 ab
<i>p</i> =	0,0156		0,5428		0,0795		0,0041		0,0005	
<b>Compostonat</b>	0	196,0 $\pm$ 34,46 a	-	92,7 $\pm$ 1,75 a	-	3,2 $\pm$ 0,09 b	-	52,8 $\pm$ 5,72 a	-	6,3 $\pm$ 0,57 a
	½ CR	46,8 $\pm$ 12,00 b	- 76,12	78,7 $\pm$ 1,74 ab	- 15,05	3,6 $\pm$ 0,03 a	7,17	56,8 $\pm$ 8,52 a	7,57	5,5 $\pm$ 0,86 a
	CR	70,6 $\pm$ 19,48 b	- 63,97	63,1 $\pm$ 9,77 b	- 31,90	3,4 $\pm$ 0,01 ab	8,70	39,8 $\pm$ 3,62 a	- 24,52	4,2 $\pm$ 0,40 a
	2 CR	105,8 $\pm$ 9,86 b	- 46,02	81,7 $\pm$ 5,07 ab	- 11,90	3,5 $\pm$ 0,05 a	7,55	51,3 $\pm$ 6,77 a	- 2,83	5,4 $\pm$ 0,78 a
<i>p</i> =	0,0011		0,0428		0,0009		0,2897		0,185	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada concentração em cada produto testado, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, significativo a  $p < 0,05$ .

<sup>1</sup>Tratamentos: ½CR = Metade da concentração recomendada; CR = Concentração recomendada; 2CR = Dobro da concentração recomendada.

\*Equação: [(Média do Tratamento/ média Testemunha) x 100] - 100.

O produto Topneem é indicado pelo fabricante como fungicida (MFRURAL, 2011), sendo que o mesmo afetou negativamente o parâmetro UFCs. Formentini, (2009) observou que quando pulverizado o produto Dalneem (produto a base de neem), nas concentrações CR e 2CR, este provocou a redução significativa de 5,7% e 12,3%, respectivamente nas UFCs do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin. O produto Pironim, também a base de neem, nas concentrações ½ CR e CR reduziram significativamente em 29,59% e 28,28%, respectivamente as UFCs do fungo *M. anisopliae* (MAMPRIM, 2011).

Baicao, nas concentrações CR e 2CR, reduziu o número de UFCs, diferindo significativamente da testemunha. No entanto, não há na literatura, trabalhos que acometem o efeito deste produto sobre fungos entomopatogênicos.

Os produtos Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat e Baicao não afetaram a germinação de conídios nas três concentrações estudadas, não diferindo significativamente da testemunha. No entanto, o produto Compostonat afetou a germinação dos conídios, na concentração CR (63,1%), reduzindo em 31,90% em relação à testemunha (Tabela 2.4).

Em trabalho desenvolvido por Marques; Monteiro; Pereira, (2004) estes verificaram que o óleo de *A. indica*, em diferentes concentrações, causou redução na germinação de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. farinosus*. Já Araujo-Júnior; Marques; Oliveira (2009) verificaram que o produto Neemseto (produto a base de óleo de neem) comprometeu a germinação do fungo *M. anisopliae*.

Para o parâmetro diâmetro de colônia observou-se que os produtos Baicao e Rotenat, nas concentrações avaliadas, reduziram significativamente o diâmetro de colônia quando comparado ao diâmetro de colônias da testemunha (Tabela 2.4). Contudo, os produtos naturais Topneem, Orobor<sup>®</sup> e Compostonat, em diferentes concentrações, estimularam o crescimento das colônias. Resultado semelhante foi encontrado para o produto Pironim<sup>®</sup> (nas concentrações ½ CR, CR e 2CR) sobre o fungo *M. anisopliae* que estimulou o desenvolvimento das colônias (MAMPRIM, 2011).

Moino Jr; Alves, (1998) sugerem que o micro-organismo, num mecanismo de resistência fisiológica, pode metabolizar os princípios tóxicos do ingrediente ativo dos produtos, utilizando as moléculas resultantes desse processo, liberadas no meio de cultura, como nutrientes secundários, promovendo seu

crescimento vegetativo e a conidiogênese. Também, afirmam que o fungo, numa atividade comparável ao que ocorre com seres vivos em geral, utilize todo seu esforço reprodutivo quando em presença de um princípio tóxico que altera seu ambiente, e prejudica o seu desenvolvimento, resultando assim, em maior crescimento vegetativo e conidiogênese.

Landa; Bohata, (1999) constataram que não houve efeito no crescimento vegetativo do fungo *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) Brown & Smith quando estudaram sua compatibilidade com dois inseticidas derivados de neem. Já Marques; Monteiro; Pereira, (2004) observaram que quando misturado o óleo de neem emulsionado no meio de cultura (BDA) em diferentes concentrações, o mesmo inibiu o crescimento do fungo entomopatogênico *P. fumosoroseus*.

Para o parâmetro número de conídios por colônia constatou-se que os produtos Orobor<sup>®</sup> e Compostonat, nas concentrações avaliadas, não provocaram diferença significativa quando comparado ao número de conídios por colônia da testemunha (Tabela 2.4).

O produto Topneem, na concentração  $\frac{1}{2}$  CR, estimulou a produção de conídios com aumento de 16,64% em relação à testemunha. No entanto, a concentração 2CR reduziu a produção de conídios com redução de 50,23%, diferindo significativamente da testemunha (Tabela 2.4). Ação verificada com o produto Dalneem a 4%, composto por óleo de neem, que inibiu a produção de conídios de *B. bassiana* em 93,65% e a germinação em 100% (MERTZ et al., 2010).

Ainda, verificou-se que os produtos Baicao e Rotenat, nas concentrações  $\frac{1}{2}$  CR e 2 CR, reduziram a produção de conídios em relação a testemunha (Tabela 2.4).

O produto Orobor<sup>®</sup>, na concentração CR, diferiu significativamente da testemunha, mas não diferindo das demais concentrações. O produto Topneem, reduziu a produção média de conídios/cm<sup>2</sup>, nas concentrações CR e 2CR. Por sua vez, Rotenat reduziu a produção média de conídios/cm<sup>2</sup>, na concentração 2CR (Tabela 2.4). Já, o produto Baicao na concentração  $\frac{1}{2}$  CR, diferiu significativamente da testemunha, afetando a produção média de conídios/cm<sup>2</sup>. Observou-se ainda que o produto Compostonat não apresentou efeito significativo na produção média de conídios/cm<sup>2</sup> em relação à testemunha, para as três concentrações testadas (Tabela 2.4).

De acordo com a toxicidade (Alves; Moino Jr; Almeida, 1998) e o índice biológico proposto por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al., (2008), os produtos naturais testados, indiferente da concentração, são compatíveis com o fungo entomopatogênico *Isaria* sp., classificando os produtos naturais como compatíveis com o fungo *Isaria* sp. (Tabela 2.5). Os dois índices utilizados diferem apenas na inserção do valor de germinação de conídios na fórmula do índice biológico (IB), proposto por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al., (2008). Assim, como o resultado da toxicidade foi forma semelhante, a classificação toxicológica se manteve.

**Tabela 2.5:** Toxicidade (T), Índice Biológico (IB) e classificação dos produtos naturais quanto a compatibilidade com *Isaria* sp.

Tratamentos	Conc.	T <sup>1</sup>	Classificação <sup>1</sup>	IB <sup>2</sup>	Classificação <sup>2</sup>
<b>Orobor®</b>	½ CR	77,54	Compatível	90,18	Compatível
	CR	90,83	Compatível	97,87	Compatível
	2 CR	86,11	Compatível	93,99	Compatível
<b>Topneem</b>	½ CR	85,00	Compatível	88,65	Compatível
	CR	82,30	Compatível	93,45	Compatível
	2 CR	61,79	Compatível	83,21	Compatível
<b>Rotenat</b>	½ CR	92,60	Compatível	96,82	Compatível
	CR	88,95	Compatível	92,31	Compatível
	2 CR	72,31	Compatível	87,12	Compatível
<b>Baicao</b>	½ CR	69,95	Compatível	88,22	Compatível
	CR	91,97	Compatível	93,13	Compatível
	2 CR	93,33	Compatível	97,58	Compatível
<b>Compostonat</b>	½ CR	92,51	Compatível	84,49	Compatível
	CR	82,13	Compatível	95,16	Compatível
	2 CR	99,25	Compatível	97,94	Compatível

<sup>1</sup>Valores de T, segundo (Alves; Moino Jr; Almeida, 1998), entre 0 e 30= muito tóxico; 31 e 45= tóxico; entre 46 e 60 = moderadamente tóxico; maiores que 61= Compatível.

<sup>2</sup>Valores de IB, segundo (Alves et al., (2007), Rossi-Zalaf et al., (2008)), entre 0 e 41= Tóxico, 42 e 66= Moderadamente Tóxico, > 66= Compatível.

Estes testes em laboratório são vantajosos, pois expõem ao máximo o patógeno sobre a atividade do produto, contudo é importante que essa compatibilidade também seja feita em condições de campo, para verificar a eficiência desta, mesmo que o contato entre eles seja menor. Assim, quando o tratamento é compatível *in vitro*, há fortes evidências da sua seletividade, em condições de campo. No entanto, uma alta toxicidade *in vitro* nem sempre significa que o mesmo vai acontecer no campo (ALVES; MOINO JR; ALMEIDA, 1998).

Deve-se ressaltar a importância de se avaliar a germinação, uma vez que é a partir da germinação que os fungos conseguem chegar a aberturas naturais

ou membranas no corpo do inseto, penetrar e colonizar, provocando a mortalidade. Além disso, os conídios germinados tornam-se mais expostos e mais vulneráveis à ação dos produtos naturais. Assim, se ocorrer inibição da germinação a eficiência de controle de insetos será comprometida, tanto em aplicações ou se o fungo estiver naturalmente presente no agroecossistema e entrar em contato com o produto (HIROSE et al., 2001; SILVA; NEVES; SANTORO, 2005).

Ainda ressalta-se a dificuldade de discussão dos dados, uma vez que não há trabalhos que avaliem os efeitos de produtos naturais sobre *Isaria* sp. Nota-se que a comparação dos resultados é comprometida, devido as diferentes técnicas obtidas pelos autores, principalmente no método de contato entre o fungo e o produto, pois normalmente os produtos são acrescentados ao meio de cultura. Segundo Silva; Neves; Santoro, (2005) a técnica de pulverização do produto alternativo sobre o fungo é a mais adequada, pois simula o que ocorre no campo, sendo possível saber os efeitos destes produtos sobre o ecossistema.

#### 2.5.2 Teste de Patogenicidade Sobre *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos (*Isaria* sp. cultivada em contato com os produtos) e a testemunha fungo (*Isaria* sp. sem contato com os produtos), evidenciando assim a inocuidade destes produtos sobre a capacidade do fungo provocar doença nos insetos (Tabela 2.6). Contudo, não foram encontrados na literatura, trabalhos que avaliam a patogenicidade do fungo entomopatogênico *Isaria* sp. cultivado em contato com produtos naturais.

**Tabela 2.6:** Mortalidade (%) de lagartas de *Anagasta kuehniella*, tratadas com *Isaria* sp., isolado IBCB 367 e a associação do fungo com produtos naturais comerciais na concentração recomendada. Temp.  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , U.R. de  $70 \pm 10\%$  e 12 h de fotofase.

Tratamentos	Mortalidade
Testemunha Água	21,0 $\pm$ 6,40 b
Orobor	67,0 $\pm$ 7,18 a
Testemunha Fungo	48,7 $\pm$ 14,34 ab
Fungo + Orobor	35,0 $\pm$ 5,40 ab
<i>p</i>	0,0212
Testemunha Água	21,0 $\pm$ 6,40 a
Topneem	36,0 $\pm$ 8,32 a
Testemunha Fungo	48,7 $\pm$ 14,34 a
Fungo + Topneem	23,7 $\pm$ 6,88 a
<i>p</i>	0,1437
Testemunha Água	21,0 $\pm$ 6,40 a
Baicao	12,0 $\pm$ 4,61 a
Testemunha Fungo	48,7 $\pm$ 14,34 a
Fungo + Baicao	38,7 $\pm$ 15,59 a
<i>p</i>	0,2040
Testemunha Água	21,0 $\pm$ 6,40 a
Rotenat	21,0 $\pm$ 3,41 a
Testemunha Fungo	48,7 $\pm$ 14,34 a
Fungo + Rotenat	35,0 $\pm$ 4,56 a
<i>p</i>	0,1057
Testemunha Água	21,0 $\pm$ 6,40 a
Compostonat	42,0 $\pm$ 13,11a
Testemunha Fungo	48,7 $\pm$ 14,34 a
Fungo + Compostonat	26,2 $\pm$ 4,26 a
<i>p</i>	0,2509

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Observou-se que na mortalidade média de *A. kuehniella* provocada pelos produtos, o produto Orobor<sup>®</sup> diferiu significativamente da testemunha, ocasionando 67% de mortalidade, onde a testemunha apresentou 21% de mortalidade. Segundo Almeida; Goldfarb; Gouveia, (1999), o extrato da casca de *Citrus vulgaris* (laranja) (mesmo principio ativo de Orobor<sup>®</sup>) tem potencial inseticida comprovado contra adultos de *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae). Ainda, extratos e óleo essencial de *Citrus sinensis* (laranja) controlaram o caruncho-do-feijão *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) (ZEWDE; JEMBERE, 2010).

Entretanto, quando aplicados os produtos naturais Topneem, Baicao, Rotenat e Compostonat sobre *A. kuehniella* os mesmos não diferiram significativamente da testemunha. Já, Andrade et al. (2012) relatam que os produtos Compostonat e Rotenat controlaram a população de pulgões *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Ainda, segundo Filgueiras et al. (2011), o extrato de *Derris*

*amazonica* Killip (timbó) (mesmo princípio ativo do Baicao e Rotenat) também controla pulgão *Myzus persicae* (Sulzer).

No entanto, os produtos Topneem, Baicao, Rotenat e Compostonat não apresentam potencial de controle à *A. kuehniella*. Este fato pode estar relacionado ao pH alcalino presente no trato digestório da maior parte dos Lepidopteros (NATION, 2002 *apud*, ROSSI et al., 2009), o que pode ter afetado o potencial do produto. O pH do trato digestório pode ter afetado a patogenicidade do fungo, sendo que, houve baixa taxa de mortalidade para o fungo.

No entanto, os resultados deste trabalho demonstra o potencial de utilização conjunta do fungo com os produtos em programas de controle biológico, para o controle de pragas.

## 2.6 CONCLUSÕES

Os produtos naturais são compatíveis em todas as concentrações, com o fungo entomopatogênico *Isaria* sp.

No teste de patogenicidade os produtos naturais não afetaram a ação do fungo sobre a *A. kuehniella*.



## 2.7 REFERÊNCIAS

AYRES, Manuel, et al. **BioEstat**: aplicação estatística nas áreas das ciências biomédicas. Belém, 2007.

ALMEIDA, Francisco de Assis C., GOLDFARB, Ana Costa, GOUVEIA, Josivanda Palmeira G. de. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus spp.* Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v.1, p.13-20, 1999.

ALVES, Sérgio Batista. Fungos entomopatogênicos. In: \_\_\_\_\_. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, p.289-381,1998.

ALVES, Sérgio Batista, et al. Técnicas de laboratório. In: \_\_\_\_\_. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, p.289-381,1998.

ALVES, Sérgio Batista; MORAES, Sérgio A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: Alves S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2. ed., p. 765-778, 1998.

ALVES, Sérgio Batista; MOINO JR, Alcides; ALMEIDA, José Eduardo M. **Produtos fitossanitários e entomopatogênicos**. In: ALVES, S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos. 2. ed., Piracicaba: FEALQ, cap. 8, p. 217-238, 1998.

ALVES, Sérgio Batista; et al. Novo índice biológico para classificação de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. In: X SICONBIOL, 2007, Brasília. **Anais do X Siconbiol**, Brasília, 2007.

ANDRADE, Lígia Helena de. **Efeitos de formulações de inseticidas botânicos e óleos essenciais sobre a biologia e comportamento de *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), em algodoeiro**. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

ANDRADE, Lígia Helena de, et al. Effects of botanical insecticides on the instantaneous population growth rate of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in cotton. **Acta Scientiarum Agronomy**, vol. 34, n.2, p. 119-124, 2012.

ARAUJO JUNIOR, José M. de; MARQUES, Edmilson J.; OLIVEIRA, José V. de. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de

Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.)(Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v.38, p.520-525, 2009.

BELLON, Patrícia Paula. **Controle alternativo do percevejo de renda (*Vatiga manihotae*) (DRAKE) (MEMIPTERA: TINGIDAE) na cultura da mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ)**. 2010. 45 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 2010.

CABANILLAS, H. Enrique; JONES, Walker A. Pathogenicity of *Isaria* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae) against the sweet potato whitefly B biotype, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Crop Protection**, v. 28, p. 333–337, 2009.

DEPIERI, Rogério A.; MARTINEZ, Suelin S.; MENEZES JR., Ayres O. Compatibility of the Fungus *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill.(Deuteromycetes) with Extracts of Neem Seeds and Leaves and the Emulsible Oil. **Neotropical Entomology**, p.601-606, 2005.

FERNANDES, Maria Carmo Araújo; LEITE, Eliane Condo B.; MOREIRA, Viviane Ernandes; **Defensivos Alternativos**. Niterói: Programa Rio Rural, 2008.

FERREIRA, Fátima Teresinha R. **Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e a sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2011. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.

FILGUEIRAS, Camila Cramer et al. Bioactivity of aqueous extracts of *Clibadium sylvestre* (Aubl.) Baill. And *Derris amazonica* Killip on the aphid *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae). **Ciência agrotecnica**, vol.35, n.6, pp. 1059-1066, 2011.

FORMENTINI, Marina Andressa. **Efeito *in vitro* de produtos fitossanitários alternativos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin**. 2009. 52 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Cascavel, 2009.

GALLO, Domingos; et al., **Entomologia Agrícola**, v.10. Piracicaba: FEALQ, 2002.

HIROSE, Edson, et al. Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. And *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.

**Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.44, p.409-423, 2001.

LANDA, Z.; BOHATA, A. Compatibility of entomogenous fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with natural insecticides based on azadirachtin and neem oil. **Collection of Scientific Papers – Series for Crop Sciences**, Ceske Budejovice, v.16, n.2, p.99-106, 1999.

LOUREIRO, Elisângela de Souza, MONTEIRO, Antonio Carlos. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **R. Árvore, Viçosa-MG**, v.29, n.4, p.553-561, 2005.

MAMPRIM, Ana Paula. **Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.** 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2011.

MARQUES, Renata Paro; MONTEIRO, Antonio Carlos; PEREIRA, Gener Tadeu. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**. v. 34, p.1675-1680, 2004.

MERTZ, Natalia Ramos et al. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **BioAssay**. 2010.

MFRURAL Disponível:  
<http://www.mfrural.com.br/detalhe.asp?cdp=51762&nmoca=top-neem-inseticida-natural>. Acesso em: 08 mar 2011.

MOINO JUNIOR, Alcides; ALVES, Sérgio Batista. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no Comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, p.611-619, 1998.

OLIVEIRA, Renato Cassol de; PRATISSOLI, Dirceu; BUENO, A.F. Efeito de *Azadirachata indica* (NIM) sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anasgasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Revista Ecosistema**, v. 28. P.75-78, 2003.

PARRA, José Roberto Postali, et al. Controle biológico: Terminologia. In: **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

PENTEADO, Silvio Roberto. **DEFENSIVOS ALTERNATIVOS E NATURAIS** 3.ed. Livros Via Orgânica: Campinas, SP, 2007.

POTRICH, Michele, et al. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1783-1792, 2011.

ROSSI, Guilherme Duarte, et al. Enzimas digestivas do bicho-mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Ciência agrotecnica**, v. 33, p. 1871-1876, 2009.

ROSSI-ZALAF, L. S.; et al. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p.279-302. In ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (26d). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba, FEALQ, 414p, 2008.

SILVA, Roberta Zani da; NEVES, Pedro Manuel de Oliveira Janeiro; SANTORO, Patricia Helena. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 305-312, 2005.

SILVA, Everton Ricardi Lozano da. **Efeito de produtos alternativos sobre *Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki* e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2010. 117 f. Tese (Doutorado em Agronomia)– Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

STULP, Jullian Luis, et al. Ação de Óleo Essencial de Laranja em diferentes concentrações e do fungicida químico Carboxim + Thiram sobre a germinação e incidência de doenças em sementes de trigo (*Triticum aestivum*). **Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia**, 2011.

XU, Di; ALI, Shaukat; HUANG, Zhen. Insecticidal activity influence of 20-Hydroxyecdysone on the pathogenicity of *Isaria fumosorosea* against *Plutella xylostella*. **Biological Control**, v.56, p. 239–244, 2011.

ZEWDE, Dawit Kidane; JEMBERE, Bekelle. Evaluation of Orange Peel *Citrus Sinensis* (L) as a Source of Repellent, Toxicant and Protectant against *Zabrotes Subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Mekelle University**, v. 2 (1): 61-75, 2010.

ZORZETTI, Janaina et al. Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 2849-2862, 2012.

ZUCCHI, Roberto A.; MONTEIRO, R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. ***Trichogramma e o Controle Biológico***. Piracicaba: FEALQ, p.41-66, 1997.

### 3 CAPÍTULO II - COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILLEMIN

#### 3.1 RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a compatibilidade de produtos naturais com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. Foram utilizados os produtos Baicao, Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat e Compostonat nas concentrações recomendadas pelos fabricantes (CR), na metade ( $\frac{1}{2}$ CR) e no dobro desta (2CR). Para a avaliação da compatibilidade foram analisados os parâmetros: germinação, unidades formadoras de colônia (UFCs), crescimento vegetativo e a produção de conídios por colônias. A compatibilidade foi avaliada através dos índices de toxicidade e índice biológico. A associação dos produtos naturais e *B. bassiana* também foi avaliada quanto à patogenicidade sobre lagartas de 3<sup>o</sup> instar de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) na concentração de  $1,0 \times 10^8$  conídios/ml. A mortalidade foi avaliada diariamente por um período de 10 dias. Verificou-se que a germinação de conídios de *B. bassiana* foi reduzida apenas pelo produto Orobor<sup>®</sup>. As UFCs não foram afetadas pelos produtos. O diâmetro de colônia foi reduzido quando em contato com os produtos Orobor<sup>®</sup> e Baicao. Para a produção de conídios por colônia, todos os produtos reduziram este parâmetro. Quanto à toxicidade Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat, Baicao e Compostonat nas diferentes concentrações são compatíveis com o fungo *B. bassiana*. De acordo com o índice biológico, os produtos naturais foram classificados como compatíveis com o fungo *B. bassiana*. Nenhum dos produtos afetou a patogenicidade do fungo sobre *A. kuehniella*. Os produtos naturais testados apresentam parâmetros de compatibilidade com *B. bassiana*, em condições de laboratório, que possibilitam a utilização em associação com este fungo.

Palavras-chaves: Controle Biológico. Patogenicidade. Índice Biológico.

#### 3.2 ABSTRACT:

This study aimed to assess the compatibility of natural products with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. We used the products Baicao, Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat and Compostonat concentrations recommended by the manufacturers (CR), half ( $\frac{1}{2}$  CR) and at double this (2CR). To evaluate the compatibility parameters were analyzed: germination, colony forming units (CFUs), vegetative growth and conidia production by colonies. Compatibility was assessed by rates of toxicity and biological index. The association of natural products and *B. bassiana* was also evaluated for pathogenicity against larvae of 3rd instar *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) at a concentration of  $1.0 \times 10^8$  conidia / ml. Mortality was assessed daily for a period of 10 days. It was found that the germination of conidia of *B. bassiana* was reduced only by Orobor<sup>®</sup> product. The CFUs were not affected by products. The colony diameter was reduced when in contact with the products Baicao and Orobor<sup>®</sup>. For conidia production per colony, all

products have reduced this parameter. As for toxicity, Orobor<sup>®</sup>, Topneem, Rotenat, Baicao and Compostonat in different concentrations and are compatible with the fungus *B. bassiana*. According to the biological index, the natural products have been classified as compatible with the fungus *B. bassiana*. None of the products affected the pathogenicity of the fungus on *A. kuehniella*. Natural products have tested parameters compatible with *B. bassiana* in laboratory conditions, which enable use in association with this fungus.

Key words: Biological Control. Pathogenicity. Biological Index.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O modelo produtivo preconizado por muito tempo no Brasil exigiu modernização nas técnicas de cultivo, principalmente na olericultura. Com o uso generalizado de produtos fitossanitários químicos sintéticos nas mais diferentes condições ambientais, muitos problemas começaram a ser diagnosticados, tais como a ocorrência de patógenos, pragas e plantas invasoras resistentes a esses produtos (LIMA et al., 1998; GERHARDSON, 2002; CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003; SANSONE et al., 2005; BATTA, 2007). Em virtude da procura por alimentos saudáveis e livres de contaminações, os cultivos alternativos de produção têm ganhado cada vez mais espaço, em especial os sistemas orgânicos, que fazem uso de uma série de produtos naturais ou alternativos para o controle de pragas e doenças.

Dentre as alternativas de controle de insetos-praga destacam-se os produtos naturais, em especial os produtos a base de neem, como os que apresentam ação inseticida comprovada sobre *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) (VICENTINI; FARIA; OLIVEIRA, 2001), *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae) (GONÇALVES, et al., 2001) e *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (BOIÇA JÚNIOR et al., 2005).

Além dos produtos naturais, os fungos entomopatogênicos possuem importância para o controle de pragas, com destaque para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, patogênico a uma variedade de insetos (LORD 2001), o qual tem se apresentado patogênico a diversas pragas, como *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) (POTRICH et al., 2006), cascudinho de aviários *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) (ROHDE et al., 2006), *Lipaphis*



*erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) (ARAUJO-JUNIOR; MARQUES; OLIVEIRA, 2009), *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (PIRES et al., 2010), *B. tabaci* (POTRICH et al., 2011), *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) (RONDELLI et al., 2012) e *Aleurodicus dispersus* (Homoptera, Aleurodidae) (HUANG; ALI; REN, 2013).

Contudo, os agricultores que trabalham com sistemas alternativos de produção muitas vezes aplicam fungos entomopatogênicos e, na sequência, produtos naturais para o controle de pragas e doenças. Além disso, pode ocorrer o contato dos referidos produtos com os fungos que ocorrem naturalmente no ambiente. Apesar de vários estudos já terem sido realizados sobre a compatibilidade de produtos naturais e fungos entomopatogênicos, novos produtos naturais surgem no mercado a todo o momento e os testes de compatibilidade tornam-se necessários para o sucesso destas técnicas de controle.

Testes de compatibilidade e seletividade de produtos alternativos com micro-organismos expõem os agentes de controle a todos os possíveis efeitos que possam sofrer quando aplicados em associação (ALVES; LOPES, 2008). Os produtos devem ser seletivos tanto aos fungos que ocorrem naturalmente quanto aos que são introduzidos, a fim de conservar sua viabilidade para o controle de insetos (HIROSE et al., 2001).

Vários trabalhos já foram desenvolvidos com o intuito de avaliar a compatibilidade de produtos alternativos e/ou naturais sobre fungos entomopatogênicos, como os realizados com extrato aquoso de sementes e de folhas de neem (DEPIERI; MARTINEZ MENEZES, 2005; MAMPRIM, 2011, ZORZETTI et al., 2012), óleo de neem (MARQUES; MONTEIRO; PEREIRA, 2004; ARAUJO-JUNIOR; MARQUES; OLIVEIRA, 2009), extratos de meliáceas (FERREIRA, 2011), produtos alternativos comerciais (FORMENTINI, 2009; MERTZ et al., 2010; MAMPRIM, 2011).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a compatibilidade de produtos naturais comerciais sobre o fungo entomopatogênico *B. bassiana* e a patogenicidade desta associação a *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae).

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS



Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

### 3.4.1 Obtenção do Fungo e Produtos Naturais Comerciais

O fungo utilizado foi *B. bassiana*, isolado IBCB 210, fornecido pelo Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico de São Paulo, Campinas SP. A partir do inóculo conservado em freezer, o fungo foi reativado e multiplicado, em meio BDA (Batata Dextrose Ágar) pelo método de placa cheia. Este foi mantido durante oito dias em câmara climatizada tipo B.O.D., à temperatura de 26 °C e 12 h de fotofase, para crescimento. Posteriormente, o fungo foi raspado do meio de cultura, com o auxílio de espátula, e transferido para eppendorf esterilizado, por um período máximo de 10 dias (ALVES et al., 1998).

Para a realização dos bioensaios foram usados produtos naturais certificados no cultivo de diferentes culturas, utilizado e comercializado para a agricultura orgânica (Tabela 3.1). Os produtos foram avaliados nas concentrações recomendada pelo fabricante (CR), na metade ( $\frac{1}{2}$  CR) e no dobro desta (2 CR).

**Tabela 3.1:** Produtos naturais comerciais utilizados no experimento, recomendação de uso, composição e concentração recomendada, conforme dados fornecidos pelo fabricante.

Produto	Uso	Composição	Conc.
Orobor <sup>®</sup>	FF	Óleo da casca de laranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) enriquecido com elementos essencial Boro e Nitrogênio.	0,005 L/1000 L
Baicao	FF	Raiz de Timbó ( <i>Derris sp.</i> )	0,0015 L/1000 L
Topneem	INS FUN e BAC	Óleo de neem (folhas, torta de sementes, e óleo), rotenona (timbó), piretro natural (crisântemo), extrato pirolenhoso (eucalipto), alho ( <i>Allium sativum</i> ), alamanda ( <i>Allamanda blanchetti</i> ), maravilha ( <i>Mirabilis Jalapa</i> ), cinamomo ( <i>Melia azedarach</i> ) e pimenta do reino ( <i>Piper nigrum</i> )	0,01L/ 1000 L
Compostonat	INS	Neem, timbó ( <i>Derris sp.</i> ), gerânio ( <i>Pelargonium hortorum</i> ), pimenta longa ( <i>Piper hispidinervium</i> ) e outros extratos	1 L/ 1000 L
Rotenat	INS	Extrato de <i>Derris sp</i> e ácidos graxos, principio ativo rotenona	1 L / 6 L

Conc.= Concentração Recomendada

FF= Fertilizante Foliar; INS= Inseticida; FUN=Fungicida; BAC=Bactericida;

### 3.4.2 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico *B. bassiana*.

Os parâmetros biológicos avaliados foram germinação, unidades formadoras de colônia (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios.

Para avaliar a germinação foi preparado meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar), à base de batata (200 g), dextrose (20 g), ágar (15 g) e 1000 mL de água destilada e, vertido em placas de Petri contendo uma lâmina para microscopia ao fundo. Para cada tratamento foram preparadas cinco placas/lâminas, sendo cada placa considerada uma repetição. Após a solidificação do BDA, com o auxílio de um micropipetador automático, foram inoculados em sua superfície 100  $\mu$ L da suspensão do fungo, contendo  $1,0 \times 10^6$  con./mL, espalhando-se sobre o meio de cultura com o auxílio de uma alça de Drygalski.

Em seguida, foi realizada a pulverização do produto natural, utilizando-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a um compressor de ar da marca Fanem<sup>®</sup>, sob pressão constante de  $1,2 \text{ Kgf.cm}^{-1}$ . Foram aplicados 250  $\mu$ L dos produtos naturais comerciais, nas concentrações estudadas em cada repetição. Este procedimento de pulverização foi realizado para todos os bioensaios. As placas contendo as lâminas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D., à temperatura de  $26 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e 12 h de fotofase, por 16 h e, após este período, as lâminas foram retiradas para realizar a contagem do número de conídios germinados e não germinados, com auxílio do microscópio óptico Tecnival<sup>®</sup>, com objetiva de 40 vezes de aumento. Para todos os tratamentos, a testemunha constou de uma suspensão oriunda de água destilada esterilizada com tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%), sendo pulverizada sobre o fungo. A germinação dos conídios foi calculada por porcentagem, pela equação:

$$P = \frac{(CG)}{(CG + CNG)} \times 100$$

onde  $P$  = Porcentagem de Germinados  $CG$  = Conídios Germinados e  $CNG$  = Conídios não Germinados.

As unidades formadoras de colônia (UFC) foram avaliadas inoculando-se 100  $\mu$ L da suspensão do fungo ( $1,0 \times 10^3$  con./mL) sobre a superfície do meio de cultura de BDA solidificado, em placas de Petri, sendo cinco placas por tratamento. Em seguida, os produtos foram pulverizados e acondicionados em câmara

climatizada tipo B.O.D., à temperatura de  $26 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e 12 h de fotofase, durante seis dias nas mesmas condições descritas anteriormente. Posteriormente, foram quantificadas as UFCs, conforme metodologia descrita por Silva; Neves; Santoro (2005).

Para avaliar o crescimento vegetativo, o fungo foi inoculado, com o auxílio de uma alça de platina, em três pontos na superfície do meio de cultura BDA, em placas de Petri, sendo utilizadas cinco placas para cada tratamento. A pulverização dos produtos foi feita após 24 h, a fim de evitar a remoção dos conídios. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo BOD nas mesmas condições descritas anteriormente. Após sete dias foram realizadas duas medidas perpendiculares em cada colônia, obtendo-se o diâmetro médio (SILVA; NEVES; SANTORO, 2005).

Depois de avaliar o diâmetro médio das colônias, as mesmas foram recortadas e transferidas, individualmente, para um tubo de vidro de fundo chato esterilizado contendo 10 mL de água destilada esterilizada com tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%). A suspensão foi agitada em vórtex durante dois minutos, para o desprendimento dos conídios e, em seguida, estes foram quantificados em câmara de Neubauer.

Para a produção de conídios/cm<sup>2</sup> foi calculada pelas fórmulas  $A = \pi r^2$ , onde  $A$  = área,  $r^2$  = raio das colônias, e  $CC = \frac{NC}{\text{Área}}$  onde,  $CC$  = Conídios/cm<sup>2</sup>,  $NC$  = Número de conídios por colônia.

Para todos os parâmetros, os dados foram analisados quanto à variância e comparados pelo teste Tukey, com 5% de significância no programa Bioestat 5.0<sup>®</sup> (AYRES et al., 2007).

A compatibilidade entre os produtos naturais e *B. bassiana* foi calculada pelo fator de compatibilidade e índice biológico. O fator de compatibilidade foi obtido pela equação proposta por Alves, Moino Jr, Almeida (1998):

$$T = \frac{20(VG) + 80(ESP)}{100}$$

$T$  = valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para a classificação do produto,  $ESP$  = porcentagem de esporulação (produção de conídios) com relação à testemunha,  $VG$  = porcentagem de crescimento vegetativo (diâmetro de colônia) com relação à testemunha.

Os valores calculados do T ( $p=0,05$ ) foram comparados com os limites estabelecidos por Alves; Moino Jr; Almeida, (1998), (Tabela 3.2).

**Tabela 3.2:** Classificação da toxicidade de produtos fitossanitários sobre fungos entomopatogênicos.

Valor de T	Classificação do Produto
0 a 30	Muito Tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente Tóxico
> 60	Compatível

O índice biológico foi obtido pela equação proposta por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al.,(2008):

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}$$

sendo que: **IB** = Índice Biológico; CV= porcentagem do crescimento vegetativo (diâmetro de colônia) da colônia após sete dias, em relação à testemunha; ESP = porcentagem da esporulação (produção de conídios) das colônias após sete dias, em relação à testemunha; GER = porcentagem de germinação dos conídios após 16 h, visto que os valores de CV, ESP e GER foi previamente corrigidos em relação às respectivas testemunhas.

Os valores calculados do IB ( $p=0,05$ ) foram comparados com os limites estabelecidos por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al.,(2008) (Tabela 3.3).

**Tabela 3.3:** Classificação do Índice Biológico de produtos fitossanitários sobre fungos entomopatogênicos.

Valor de IB	Classificação do Produto
0 – 41	Tóxico
42 – 66	Moderadamente Tóxico
> 66	Compatível

### 3.4.3 Teste de Patogenicidade de *Beauveria bassiana* Associado aos Produtos Naturais Comerciais Sobre *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

O fungo *B. bassiana* foi inoculado, com o auxílio de uma alça de platina, em três pontos na superfície do meio de cultura BDA e, após 24 h, os produtos naturais foram pulverizados como o auxílio de um aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a um compressor de ar da marca Fanem<sup>®</sup>, sob pressão

constante de  $1,2 \text{ Kgf.cm}^{-1}$ . As placas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo BOD à temperatura de  $26 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  e 12 h de fotofase, por 10 dias.

Após dez dias o fungo foi raspado com uma espátula esterilizada e colocado em tubos de vidro de fundo chato, com 10 mL de água esterilizada contendo tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%), procedendo-se as diluições seriadas para contagem dos conídios em câmara de Neubauer (ALVES; MORAES, 1998), a fim de padronizar em  $1,0 \times 10^8$  com./ml. As lagartas de *A. kuehniella*, de terceiro ínstar, foram obtidas da criação do Laboratório de Controle Biológico da UTFPR - *Campus Dois Vizinhos*.

Os tratamentos utilizados foram: 1 = *B. bassiana* pulverizado Orobor; 2 = Orobor; 3 = *B. bassiana* pulverizado Topneem; 4 = Topneem; 5 = *B. bassiana* pulverizado Baicao; 6 = Baicao; 7 = *B. bassiana* pulverizado Rotenat; 8 = Rotenat; 9 = *B. bassiana* pulverizado Compostonat; 10 = Compostonat; 11 = Testemunha (água destilada esterilizada); 12 = Testemunha com fungo (*B. bassiana*). As caldas dos diferentes produtos naturais (Tabela 3.1) foram preparadas na concentração recomendada pelo fabricante.

Para a condução dos bioensaios, 20 lagartas de *A. kuehniella* foram imersas em um mL da suspensão do tratamento, em um recipiente de 100 mL, sendo agitado por um minuto. As lagartas foram transferidas para placas de Petri, contendo dieta artificial esterilizada para *A. kuehniella*, e acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D. à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, totalizando 80 lagartas por tratamento. Avaliou-se a mortalidade diariamente até o décimo dia.

Para os tratamentos com fungo os insetos mortos foram colocados em placa de Petri contendo um papel filtro umedecido ao fundo, formando uma câmara úmida, que foi acondicionada em câmara climatizada tipo B.O.D. à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 h, para confirmação do agente causal.

Os dados foram analisados quanto à variância e comparados pelo teste Tukey, com 5% de significância no programa Bioestat 5.0<sup>®</sup> (AYRES et al., 2007).

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.5.1 Avaliação da Compatibilidade de Produtos Naturais Comerciais com Fungo Entomopatogênico *B. bassiana*.

O parâmetro unidade formadora de colônias (UFC) não foi afetado pelos produtos naturais comerciais, nas diferentes concentrações avaliadas (Tabela 3.4).

Em resultados obtidos por Formentini (2009), o produto Dalneem (produto a base de neem), nas concentrações  $\frac{1}{2}$  CR, CR e 2CR, provocou redução significativa nas UFCs do fungo *B. bassiana*. No presente estudo, os produtos Topneem e Compostonat também apresentam em sua formulação neem, que possui como principal princípio ativo a *azadiractina* (MENEZES, 2005), no entanto, apresentando resultados divergentes dos obtidos por Formentini (2009). Esta divergência nos resultados pode estar relacionada aos diferentes concentrações de *azadiractina* contida nestes produtos.

**Tabela 3.4:** Médias ( $\pm$  EP) de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs), Germinação, Diâmetro de Colônias e Número de Conídios por Colônias do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, pulverizado com produtos naturais comerciais em diferentes concentrações. Temp.26  $\pm$  2 °C, 12 h de fotofase e U.R. de 75  $\pm$  10%.

Tratamentos	Unidades Formadoras de Colônias		Germinação		Diâmetro de Colônias		Número de conídios por Colônias		Conídios/cm <sup>2</sup>	
	Con <sup>1</sup>	(%) variação*	(%)	(%) variação*	(cm)	(%) variação*	x10 <sup>7</sup>	(%) variação*	x10 <sup>7</sup>	(%) variação*
<b>Oroboi®</b>	0	371,2 $\pm$ 55,15 a	-	94,0 $\pm$ 1,43 a	2,8 $\pm$ 0,06 a	-	25,3 $\pm$ 1,32 b	-	4,1 $\pm$ 0,82 b	-
	½ CR	333,6 $\pm$ 16,24 a	- 10,12	82,6 $\pm$ 4,33 b	- 12,17	2,5 $\pm$ 0,05 b	- 8,77	22,0 $\pm$ 2,14 b	4,3 $\pm$ 0,38 b	- 1,21
	CR	288,4 $\pm$ 36,05 a	- 22,30	75,0 $\pm$ 5,42 b	- 20,21	2,6 $\pm$ 0,04 ab	- 6,49	35,0 $\pm$ 4,03 a	6,5 $\pm$ 0,38 a	58,63
	2 CR	342,2 $\pm$ 15,58 a	- 7,81	79,0 $\pm$ 7,24 b	- 15,57	2,6 $\pm$ 0,04 ab	- 6,25	21,3 $\pm$ 1,85 b	3,9 $\pm$ 0,37 b	- 3,16
p=	0,5676	0,0894	0,0194	0,0015	0,0028					
<b>Topneem</b>	0	371,2 $\pm$ 55,15 a	-	94,0 $\pm$ 1,43 a	2,8 $\pm$ 0,06 a	-	25,3 $\pm$ 1,32 bc	-	4,1 $\pm$ 0,23 b	-
	½ CR	319,2 $\pm$ 21,83 a	- 3,82	94,0 $\pm$ 0,27 a	0,12	2,6 $\pm$ 0,04 a	- 4,31	23,2 $\pm$ 2,52 c	4,1 $\pm$ 0,45 b	1,21
	CR	270,0 $\pm$ 42,05 a	- 12,66	94,0 $\pm$ 0,73 a	- 0,1	2,7 $\pm$ 0,08 a	- 0,59	40,5 $\pm$ 8,22 ab	6,0,14	63,26
	2 CR	302,8 $\pm$ 27,03 a	- 26,99	93,2 $\pm$ 0,80 a	- 0,89	2,7 $\pm$ 0,05 a	- 0,53	41,5 $\pm$ 2,39 a	64,08	65,20
p=	0,3471	0,8784	0,5073	0,002	0,0049					
<b>Rotenat</b>	0	371,2 $\pm$ 55,15 a	-	94,0 $\pm$ 1,43 a	2,8 $\pm$ 0,06 a	-	25,3 $\pm$ 1,32 b	-	4,1 $\pm$ 0,23 ab	-
	½ CR	325,2 $\pm$ 9,83 a	- 14,00	93,4 $\pm$ 0,55 a	- 0,66	2,8 $\pm$ 0,06 a	1,19	35,6 $\pm$ 2,62 a	5,6 $\pm$ 0,44 a	38,19
	CR	308,8 $\pm$ 51,86 a	- 27,26	95,0 $\pm$ 0,71 a	0,90	2,7 $\pm$ 0,09 a	- 1,78	26,8 $\pm$ 3,02 ab	6,11	12,16
	2 CR	294,6 $\pm$ 13,28 a	- 18,42	92,0 $\pm$ 1,4 a	- 2,29	2,7 $\pm$ 0,04 a	- 1,19	23,2 $\pm$ 3,21 b	- 8,22	- 6,08
p=	0,5474	0,3066	0,8458	0,0102	0,0468					
<b>Baicao</b>	0	371,2 $\pm$ 55,15 a	-	94,0 $\pm$ 1,43 a	2,8 $\pm$ 0,06 a	-	25,3 $\pm$ 1,32 ab	-	4,1 $\pm$ 0,23 ab	-
	½ CR	357,0 $\pm$ 44,69 a	- 12,39	97,0 $\pm$ 0,80 a	3,07	2,6 $\pm$ 0,08 ab	- 4,16	40,0 $\pm$ 6,51 a	58,14	71,53
	CR	324,2 $\pm$ 16,09 a	- 16,81	96,0 $\pm$ 0,46 a	1,9	2,4 $\pm$ 0,06 b	- 12,5	17,4 $\pm$ 3,20 b	- 30,94	- 12,16
	2 CR	271,0 $\pm$ 29,14 a	- 20,63	96,5 $\pm$ 0,28 a	2,00	2,4 $\pm$ 0,08 b	- 12,35	25,9 $\pm$ 4,55 ab	2,57	36,25
p=	0,3124	0,1332	0,0044	0,0101	0,0151					
<b>Compostonat</b>	0	371,2 $\pm$ 55,15 a	-	94,0 $\pm$ 1,43 a	2,8 $\pm$ 0,06 a	-	25,3 $\pm$ 1,32 ab	-	4,1 $\pm$ 0,23 a	-
	½ CR	367,0 $\pm$ 36,00 a	- 1,13	94,4 $\pm$ 1,67 a	0,35	2,8 $\pm$ 0,15 a	- 1,19	23,0 $\pm$ 2,85 b	- 9,02	0,97
	CR	306,0 $\pm$ 25,45 a	- 17,56	86,8 $\pm$ 7,17 a	- 7,70	2,7 $\pm$ 0,11 a	- 1,78	41,2 $\pm$ 8,11 a	63	64,72
	2 CR	322,2 $\pm$ 33,73 a	- 13,20	89,6 $\pm$ 1,84 a	- 4,70	2,7 $\pm$ 0,05 a	- 1,19	33,5 $\pm$ 2,71 ab	32,19	38,19
p=	0,5746	0,5323	0,9508	0,027	0,0377					

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para cada produto testado, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, significativo a  $p < 0,05$ .

<sup>1</sup>Concentrações dos produtos: ½CR = Metade da concentração recomendada; CR = Concentração recomendada; 2CR = Dobro da concentração recomendada.

\*Equação: [(Média do Tratamento/ média Testemunha) x 100] -100.



O produto Orobor<sup>®</sup> foi o único a reduzir significativamente a germinação dos conídios de *B. bassiana*, nas três concentrações aplicadas, com percentual de 82,6 %, 75,5% e 79,0% de germinação, para ½ CR, CR, 2CR, respectivamente comparados à testemunha (Tabela 3.4).

A germinação de conídios de *B. bassiana* não foi afetada pelo produto Topneem. Marques; Monteiro; Pereira (2004) também verificaram que óleo de neem, em diferentes concentrações, não afetou a germinação dos conídios dos fungos *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*. Por outro lado, Mertz et al., (2010) verificaram que os produtos comerciais Dalneem nas concentrações 0,25, 0,50, 1, 2 e 4 % afetaram negativamente a germinação do fungo *B. bassiana*.

Os produtos Rotenat, Baicao e Compostonat não afetaram a germinação de conídios de *B. bassiana*. Entretanto, não há na literatura, trabalhos que acometem o efeito destes produtos sobre fungos entomopatogênicos.

Com relação ao parâmetro diâmetro de colônia o produto natural comercial Orobor<sup>®</sup> na concentração ½ CR, quando pulverizado sobre o fungo *B. bassiana*, reduziu o diâmetro de colônias em 8,77%, diferindo significativamente da testemunha. Já o produto Baicao reduziu o diâmetro de colônias quando pulverizado nas concentrações CR e 2CR em 12,5% e 12,35%, respectivamente, diferindo significativamente de testemunha.

Verificou-se que quando Topneem, Rotenat e Compostonat foram pulverizados sobre *B. bassiana*, nas diferentes concentrações, afetaram positivamente o diâmetro de colônias deste fungo (Tabela 3.4). Mamprim, (2011) observou que o produto Forth (produto a base de rotenona), nas concentrações ½ CR, CR e 2CR não reduziram o diâmetro de colônias do fungo *M. anisopliae* apresentando diâmetro médio de 2,45, 2,37 e 2,34 cm, respectivamente, no entanto, o produto Topneem apresenta em sua composição a rotenona o mesmo princípio ativo que o produto Forth.

Resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos obtidos por Araujo-Júnior; Marques; Oliveira, (2009), os quais verificaram que o produto Neemseto (produto a base de neem), nas concentrações 0,125, 0,25 e 0,5% não afetaram o diâmetro de colônias do isolado CG 001 de *B. bassiana*.

O número de conídios por colônia de *B. bassiana* não foi afetado quando pulverizado o produto natural Orobor<sup>®</sup>, nas concentrações ½ CR e 2CR, não diferindo da testemunha. O produto Topneem, na concentração ½ CR e CR, também



não afetou a produção de conídios, no entanto, quando pulverizado na concentração 2CR provocou um estímulo nesta produção.

Alguns estudos com produtos a base de neem, interferem negativamente na produção de conídios, como verificado por Hirose et al., (2001), que relataram que o óleo de neem a 2 % inibiu em 45,27% a germinação de conídios de *B. bassiana*, em 36,63% o diâmetro de colônias e a conidiogênese em 84,93%. Da mesma forma, Mertz et al., (2010) verificaram que o produto Dalneem a 4%, inibiu a germinação do fungo *B. bassiana* em 100%, o diâmetro de colônia em 37,67% e a conidiogênese em 93,65%.

Os resultados apresentados por estes autores quanto à produção de conídios, germinação e diâmetro de colônias foram divergentes aos obtidos neste trabalho, sendo que os autores observaram influência negativa dos produtos sobre a produção de conídios, germinação e no diâmetro de colônia e no presente trabalho os mesmos não foram afetados. Talvez esta divergência se deva aos diferentes concentrações de azadiractina contida nos produtos, além de outros compostos que são misturados nos produtos. Outro fator que pode influenciar são as diferenças metodológicas encontradas nos trabalhos, devido as diferentes técnicas obtidas pelos autores, principalmente no método de contato entre o fungo e o produto, pois na maioria dos trabalhos já publicados, os autores acrescentam os produtos ao meio de cultura. Segundo Silva; Neves; Santoro (2005) a técnica de pulverização do produto sobre o fungo é a mais adequada, pois simula o que ocorre no campo, sendo possível saber os efeitos destes produtos sobre o ecossistema.

Para o parâmetro número de conídios por colônia observou-se que o produto natural comercial Rotenat, na concentração  $\frac{1}{2}$  CR, apresentaram efeito estimulante de 35,60% (Tabela 3.4).

O aumento na produção de conídios estimulado por alguns produtos, segundo Moino Jr.; Alves, (1998), sugerem duas possíveis explicações: a) os fungos, num mecanismo fisiológico de resistência, metabolizam compostos tóxicos que podem ser utilizados como nutrientes incrementando a produção de conídios; e b) em meio tóxico os fungos realizam um elevado esforço reprodutivo, aumentando a produção de conídios, para deixar descendentes. Assim, comparando com as respectivas testemunhas, nenhum produto natural provocou redução no número de conídios de *B. bassiana* por colônia.

Com relação aos produtos Rotenat, Baicao e Compostonat, afetaram positivamente a produção média de conídios/cm<sup>2</sup> (Tabela 3.4). No entanto, os produtos Orobor<sup>®</sup> e Topneem na concentração CR e 2CR, (este último apenas para o Topneem) diferiram significativamente da testemunha estimulando a produção de conídios/cm<sup>2</sup> (Tabela 3.4).

A equação proposta por Alves; Moino Jr; Almeida, (1998) representa de uma forma adequada o efeito tóxico sobre os fungos entomopatogênicos *in vitro*. Os produtos naturais comerciais, nas diferentes concentrações, são compatíveis com o fungo entomopatogênico *B. bassiana* (Tabela 3.5).

Em estudos realizados por Mertz et al., (2010), Dalneem foi classificado como muito tóxico a *B. bassiana* nas concentrações 1, 2 e 4%, diferindo do produto Topneem, testado no presente trabalho, que se mostrou compatível ao fungo em todas as concentrações testadas, sendo que ambos os produtos apresentam em sua composição azadiractina.

O modelo de equação para a toxicidade proposto por Alves; Moino Jr; Almeida, (1998), baseia-se em valores médios de porcentagem de conidiogênese e crescimento vegetativo das colônias dos fungos, para testes *in vitro*. O índice leva em conta a produção de conídios como fator mais importante, quando comparado com o crescimento vegetativo, já que são os propágulos do fungo que vão atuar no desenvolvimento da doença no inseto (MOINO Jr.; ALVES, 1998).

**Tabela 3.5:** Toxicidade (T) e Índice Biológico (IB) e classificação dos produtos naturais quanto à compatibilidade a *Beauveria bassiana*.

Tratamentos	Conc.	T <sup>1</sup>	Classificação <sup>1</sup>	IB <sup>2</sup>	Classificação <sup>2</sup>
<b>Orobor<sup>®</sup></b>	½ CR	87,51	Compatível	88,89	Compatível
	CR	70,49	Compatível	81,36	Compatível
	2 CR	82,31	Compatível	86,67	Compatível
<b>Topneem</b>	½ CR	86,66	Compatível	91,28	Compatível
	CR	71,4	Compatível	84,86	Compatível
	2 CR	66,43	Compatível	82,24	Compatível
<b>Rotenat</b>	½ CR	75,1	Compatível	88,19	Compatível
	CR	89,22	Compatível	89,47	Compatível
	2 CR	90,14	Compatível	99,41	Compatível
<b>Baicao</b>	½ CR	88,02	Compatível	92,96	Compatível
	CR	67,31	Compatível	81,76	Compatível
	2 CR	97,18	Compatível	98,42	Compatível
<b>Compostonat</b>	½ CR	73,39	Compatível	85,30	Compatível
	CR	75,06	Compatível	88,01	Compatível
	2 CR	71,52	Compatível	85,60	Compatível

<sup>1</sup>Valores de T, segundo (Alves, Moino Jr, Almeida, 1998), entre 0 e 30= muito tóxico; 31e 45= tóxico; entre 46 e 60 = moderadamente tóxico; maiores que 61= Compatível

<sup>2</sup>Valores de IB, segundo (Alves et al.,2007; Rossi-Zalaf et al.,2008), entre 0 e 41= Tóxico, 42 e 66= Moderadamente Tóxico, > 66= Compatível

De acordo com o índice biológico proposto por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al., (2008), os produtos naturais foram compatíveis com o fungo *B. bassiana* (Tabela 3.5), onde são utilizados os valores médios de porcentagem de esporulação, crescimento vegetativo e germinação dos conídios.

Há trabalhos na literatura que avaliam a toxicidade dos produtos, usando o modelo de equação proposto por Alves; Moino Jr; Almeida, (1998), (CAVALCANTI et al., 2002; OLIVEIRA, NEVES; KAWAZOE, 2003; SANTOS et al., 2009; MERTZ, et al., 2010, FERREIRA, 2011), e trabalhos avaliando o Índice Biológico proposto por Alves et al., (2007) e Rossi-Zalaf et al., (2008), (FORMENTINI, 2009; PIRES et al., 2010; MAMPRIM, 2011; FERREIRA, 2011).

### 3.5.2 Teste de Patogenicidade de *Beauveria bassiana* Associado aos Produtos Naturais Comerciais Sobre *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

Avaliando-se a patogenicidade de *B. bassiana* quando em contato com os produtos naturais comerciais, verificou-se que os mesmos não afetaram a atividade do fungo (Tabela 3.6).

**Tabela 3.6:** Porcentagem média ( $\pm$  EP) de mortalidade de lagartas de *Anagasta kuehniella*, tratadas com *B. bassiana*, e a associação do fungo com produtos naturais comerciais na concentração recomendada. Temp. 26  $\pm$  1°C, 12 h de fotofase e U.R. de 70  $\pm$  10%.

Trat	Tempos										p	Acumulada
	1 Dia	2 Dia	3 Dia	4 Dia	5 Dia	6 Dia	7 Dia	8 Dia	9 Dia	10 Dia		
Testemunha água	2,0 $\pm$ 0,28 Ab	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	5,0 $\pm$ 0,25 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	4,0 $\pm$ 0,70 Aab	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Abc	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,429	21 $\pm$ 0,07 b
Orobór	52,0 $\pm$ 1,22 Aa	4,0 $\pm$ 0,57 Ba	3,0 $\pm$ 0,25 Bab	3,0 $\pm$ 0,47 Ba	1,0 $\pm$ 0,25 Bb	0,0 $\pm$ 0,00 Bb	2,0 $\pm$ 0,50 Ba	0,0 $\pm$ 0,00 Bc	1,0 $\pm$ 0,25 Bb	1,0 $\pm$ 0,25 Ba	0,001	67 $\pm$ 0,07 a
Testemunha	3,0 $\pm$ 0,25 ABCb	4,0 $\pm$ 0,40 ABCa	0,0 $\pm$ 0,00 Cb	16,0 $\pm$ 1,87 ABa	21,0 $\pm$ 0,94 Aa	11,0 $\pm$ 1,43 ABCa	5,0 $\pm$ 0,47 ABCa	8,0 $\pm$ 0,40 ABCa	5,0 $\pm$ 0,62 ABCab	3,0 $\pm$ 0,47 BCa	0,004	76 $\pm$ 0,04 a
Fungo + Orobór	2,0 $\pm$ 0,28 ABb	3,0 $\pm$ 0,47 ABa	4,0 $\pm$ 0,40 ABa	10,0 $\pm$ 0,50 Aa	11,0 $\pm$ 0,75 Aa	12,0 $\pm$ 1,08 Aa	7,0 $\pm$ 0,85 ABa	7,0 $\pm$ 0,85 ABab	7,0 $\pm$ 0,47 ABa	0,0 $\pm$ 0,00 Ba	0,033	63 $\pm$ 0,05 a
Testemunha água	0,0001	0,276	0,013	0,098	0,0006	0,014	0,507	0,006	0,008	0,4017		0,0003
Topneem	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	5,0 $\pm$ 0,25 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	4,0 $\pm$ 0,70 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Ac	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,429	21 $\pm$ 0,07 b
Testemunha	8,0 $\pm$ 0,70 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	4,0 $\pm$ 1,00 Aa	5,0 $\pm$ 0,47 Aab	1,0 $\pm$ 0,25 Ab	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	5,0 $\pm$ 0,94 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Abc	2,0 $\pm$ 0,28 Aab	4,0 $\pm$ 0,40 Aa	0,620	36 $\pm$ 0,09 b
Fungo + Topneem	3,0 $\pm$ 0,25 ABCa	4,0 $\pm$ 0,40 ABCa	0,0 $\pm$ 0,00 Ca	16,0 $\pm$ 1,87 ABa	21,0 $\pm$ 0,94 Aa	11,0 $\pm$ 1,43 ABCa	5,0 $\pm$ 0,47 ABCa	8,0 $\pm$ 0,40 ABCab	5,0 $\pm$ 0,62 ABCab	3,0 $\pm$ 0,47 BCa	0,004	76 $\pm$ 0,04 a
Testemunha	8,0 $\pm$ 0,40 ABCa	2,0 $\pm$ 0,50 BCa	1,0 $\pm$ 0,25 Ca	5,0 $\pm$ 0,47 ABCab	17,0 $\pm$ 1,03 Aa	13,0 $\pm$ 0,62 Aa	8,0 $\pm$ 0,81 ABCa	11,0 $\pm$ 0,75 ABa	6,0 $\pm$ 0,28 ABCa	3,0 $\pm$ 0,25 ABCa	0,001	74 $\pm$ 0,07 a
Testemunha água	0,163	0,226	0,092	0,229	0,0004	0,083	0,741	0,004	0,0185	0,848		0,0003
Baico	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	5,0 $\pm$ 0,25 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Aab	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	4,0 $\pm$ 0,70 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aab	1,0 $\pm$ 0,25 Ab	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,429	21 $\pm$ 0,07 b
Testemunha	5,0 $\pm$ 0,94 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	1,0 $\pm$ 0,25 Ab	0,0 $\pm$ 0,00 Ab	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	0,261	12 $\pm$ 0,07 b
Fungo + Baico	3,0 $\pm$ 0,25 ABCa	4,0 $\pm$ 0,40 ABCa	0,0 $\pm$ 0,00 Cb	16,0 $\pm$ 1,87 ABa	21,0 $\pm$ 0,94 Aa	11,0 $\pm$ 1,43 ABCa	5,0 $\pm$ 0,47 ABCa	8,0 $\pm$ 0,40 ABCa	5,0 $\pm$ 0,62 ABCa	3,0 $\pm$ 0,47 BCa	0,004	76 $\pm$ 0,04 a
Testemunha	8,0 $\pm$ 1,22 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Ab	9,0 $\pm$ 0,75 Aab	18,0 $\pm$ 2,25 Aa	9,0 $\pm$ 1,31 Aa	10,0 $\pm$ 0,64 Aa	12,0 $\pm$ 0,81 Aa	5,0 $\pm$ 0,75 Aa	4,0 $\pm$ 0,57 Aa	0,177	77 $\pm$ 0,11 a
Testemunha água	0,867	0,113	0,0004	0,024	0,001	0,4153	0,011	0,001	0,075	0,980		0,0001
Rotenat	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	5,0 $\pm$ 0,25 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	4,0 $\pm$ 0,70 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Ab	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,429	21 $\pm$ 0,07 b
Testemunha	5,0 $\pm$ 0,47 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aab	1,0 $\pm$ 0,25 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	2,0 $\pm$ 0,50 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aab	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,650	21 $\pm$ 0,04 b
Fungo + Rotenat	3,0 $\pm$ 0,25 ABCa	4,0 $\pm$ 0,40 ABCa	0,0 $\pm$ 0,00 Cb	16,0 $\pm$ 1,87 ABa	21,0 $\pm$ 0,94 Aa	11,0 $\pm$ 1,43 ABCa	5,0 $\pm$ 0,47 ABCa	8,0 $\pm$ 0,40 ABCa	5,0 $\pm$ 0,62 ABCa	3,0 $\pm$ 0,47 BCa	0,004	76 $\pm$ 0,04 a
Testemunha	9,0 $\pm$ 0,85 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	4,0 $\pm$ 0,40 Aab	8,0 $\pm$ 0,81 Aa	4,0 $\pm$ 0,00 Ab	10,0 $\pm$ 0,28 Aa	4,0 $\pm$ 0,57 Aa	7,0 $\pm$ 0,47 Aab	5,0 $\pm$ 0,62 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Aa	0,112	55 $\pm$ 0,05 a
Testemunha água	0,426	0,220	0,018	0,105	0,001	0,066	0,814	0,019	0,023	0,857		0,0001
Compostonat	2,0 $\pm$ 0,28 Ac	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	5,0 $\pm$ 0,25 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Ab	4,0 $\pm$ 0,70 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aa	1,0 $\pm$ 0,25 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	0,429	21 $\pm$ 0,07 b
Testemunha	12,0 $\pm$ 0,70 Aab	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	3,0 $\pm$ 0,47 Aab	10,0 $\pm$ 2,17 Aa	7,0 $\pm$ 1,10 Aab	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	2,0 $\pm$ 0,28 Aa	2,0 $\pm$ 0,50 Aa	0,0 $\pm$ 0,00 Aa	4,0 $\pm$ 0,70 Aa	0,232	42 $\pm$ 0,14 b
Fungo + Compostonat	3,0 $\pm$ 0,25 ABCbc	4,0 $\pm$ 0,40 ABCa	0,0 $\pm$ 0,00 Cb	16,0 $\pm$ 1,87 ABa	21,0 $\pm$ 0,94 Aa	11,0 $\pm$ 1,43 ABCa	5,0 $\pm$ 0,47 ABCa	8,0 $\pm$ 0,40 ABCa	5,0 $\pm$ 0,62 ABCa	3,0 $\pm$ 0,47 BCa	0,004	76 $\pm$ 0,04 a
Testemunha	28,0 $\pm$ 1,22 Aa	4,0 $\pm$ 0,40 BCa	1,0 $\pm$ 0,25 Cab	13,0 $\pm$ 0,62 ABa	8,0 $\pm$ 0,40 ABCab	11,0 $\pm$ 0,47 ABCa	5,0 $\pm$ 0,75 BCa	10,0 $\pm$ 0,95 ABCa	2,0 $\pm$ 0,50 BCa	3,0 $\pm$ 0,47 BCa	0,001	85 $\pm$ 0,04 a
Testemunha	0,0004	0,014	0,024	0,239	0,0078	0,0717	0,8196	0,047	0,068	0,986		0,0005

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey.

Os produtos naturais também não interferiram no tempo médio de mortalidade, que segundo Alves, (1998), o tempo de colonização pode variar de 72 a 120 horas, dependendo do inseto, patógeno e das condições ambientais, o que foi verificado neste trabalho, no qual os maiores índices de mortalidade para os tratamentos com fungo foram observados entre o quarto e sexto dia (Figura 1).

Verificou-se que na mortalidade média acumulada provocada pelos produtos, apenas o produto Orobor<sup>®</sup> (67%) diferiu significativamente da testemunha (21%) (Tabela 3.6). Segundo Almeida; Goldfarb; Gouveia (1999) o extrato da casca de *Citrus vulgaris* (laranja) apresenta potencial de controle de adultos de *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae), resultados semelhantes foi encontrado neste trabalho, sendo que o produto Orobor<sup>®</sup> é a base de casca de laranja.

Entretanto, quando aplicados os produtos naturais Topneem, Baicao, Rotenat e Compostonat sobre *A. kuehniella* os mesmos não diferiram significativamente da testemunha. Resultado análogos foram obtidos por Lima et al., (2008) relatam que os inseticidas naturais Neem Azal-T/S (0,5%) e o Dalneem emulsionável (0,5%) controlam lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Andrade et al., (2012) relatam que o Compostonat e Rotenat controlaram a população de pulgões *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae).

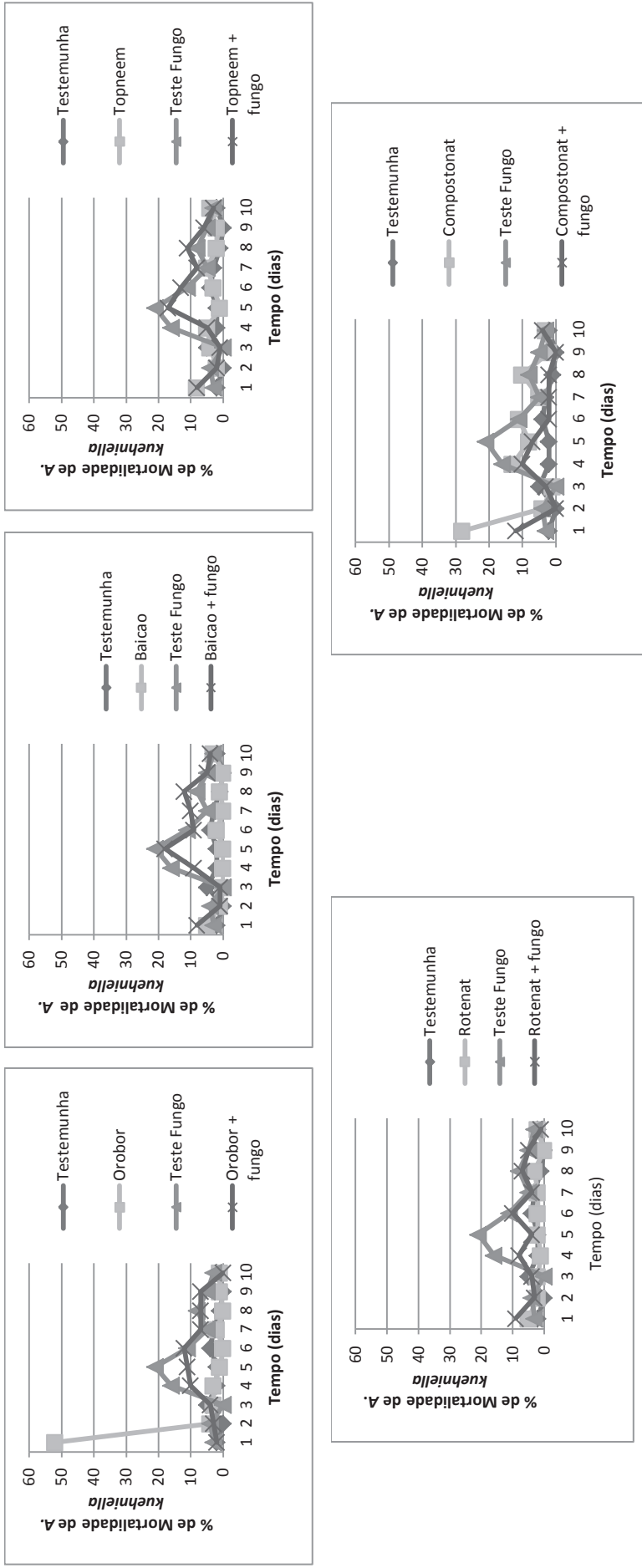


Figura 01 - Mortalidade de *Anagasta kuehniella* tratada com água destilada, produto natural e a associação do produto natural com fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, na concentração recomendada. Temp.  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotofase e U.R. de  $70 \pm 10\%$ .

Em estudo desenvolvido com extratos de citronela (*Cymbopogon nardus*) (Poaceae) (1%, 5% e 10%), cúrcuma (*Curcuma longa*) (Zingiberaceae) (1%) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) (1%, 5%, 10%, e 15%), quando associado com o fungo *B. bassiana*, observou-se que os extratos não afetaram a patogenicidade do fungo causado mortalidade de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) quando comparado à aplicação apenas do fungo (MERTZ et al., 2010). Estudo similar com extrato da planta de cedro *Toona ciliata* M. Roemer, (Meliaceae) e óleo de neem, quando misturados com o fungo *B. bassiana* antes da aplicação, também os extratos não interferiram na patogenicidade causado assim a *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae), quando comparados com a aplicação apenas do fungo (FERREIRA, 2011).

Trabalho semelhante a este foi desenvolvido por Santoro et al., (2009) verificaram que os produtos Neudosan e Organic Neem (produto a base de neem) apresentam ação letal para *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), porém com baixa eficiência de controle quando aplicados isoladamente. Porém, quando associados com o fungo *B. bassiana* os produtos Neudosan e Organic Neem aumentaram a eficiência de controle de *A. diaperinus*.

Segundo Alves; Moino Jr; Almeida, (1998), os testes em laboratório são vantajosos, pois expõem ao máximo o patógeno sobre a atividade do produto, contudo é importante que essa compatibilidade também seja feita em condições de campo, para verificar a eficiência desta, mesmo que o contato entre eles sejam menor.

No entanto, os resultados deste trabalho demonstram o potencial de utilização conjunta do fungo com os produtos em programas de controle biológico, para o controle de pragas. No campo, o produto pode entrar em contato com o fungo naturalmente no ambiente sem maiores prejuízos, tanto quando ele está no início da colonização do inseto como quando está adiantado, sendo assim, o fungo em contato com o produto não perde a patogenicidade.

### 3.6 CONCLUSÕES

Os produtos naturais comerciais são compatíveis em todas as concentrações, com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*.

No teste de patogenicidade os produtos naturais não afetaram a ação do fungo sobre a *A. kuehniella*.



### 3.7 REFERÊNCIAS

AYRES, Manuel, et al. **BioEstat**: aplicação estatística nas áreas das ciências biomédicas. Belém, 2007.

ALMEIDA, Francisco de Assis C., GOLDFARB, Ana Costa, GOUVEIA, Josivanda Palmeira G. de. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus spp.* **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.1, p.13-20, 1999.

ALVES, Sérgio Batista. Fungos entomopatogênicos. In: \_\_\_\_\_. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, p.289-381,1998.

ALVES, Sérgio Batista, et al. Técnicas de laboratório. In: \_\_\_\_\_. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, p.289-381,1998.

ALVES, Sérgio Batista; MORAES, Sérgio A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: Alves S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2. ed., p. 765-778, 1998.

ALVES, Sérgio Batista; MOINO JR, Alcides; ALMEIDA, José Eduardo M. **Produtos fitossanitários e entomopatogênicos**. In: ALVES, S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos. 2. ed., Piracicaba: FEALQ, 1998, a. cap. 8, p. 217-238.

ALVES, Sérgio Batista; et al. Novo índice biológico para classificação de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. In: X SICONBIOL, 2007, Brasília. **Anais do X Siconbiol**, Brasília, 2007.

ALVES, Sérgio Batista; LOPES, Rogério Biaggioni. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. v. 14, p. 414, 2008.

ANDRADE, Lígia Helena de, et al. Effects of botanical insecticides on the instantaneous population growth rate of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in cotton. **Acta Scientiarum Agronomy**, vol. 34, n.2, p. 119-124, 2012.

ARAUJO JUNIOR, José M. de; MARQUES, Edmilson J.; OLIVEIRA, Jose V. de. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.)(Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**,v.38, p.520-525, 2009.

BATTA, Yacoub. A. Control of postharvest diseases of fruit with an invert emulsion formulation of *Trichoderma harzianum* Rifai. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.43, p.143-150, 2007.

BOIÇA JÚNIOR, A.L., et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.1, p.45-50, 2005.

CAMPANHOLA, Clayton; BETTIOL, Wagner. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. In CAMPANHOLA, C.; BETIOL, W. (Org.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente, p.13-51, 2003.

CAVALCANTI, R.S.; et al. Efeito dos produtos fitossanitários Fenpropatrina, Imidaclopride, Iprodione e Tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivo Instituto Biológico**, v.69, n.3, p.17-22, 2002.

DEPIERI, Rogério A.; MARTINEZ, Suelin S.; MENEZES JR., Ayres O. Compatibility of the Fungus *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with Extracts of Neem Seeds and Leaves and the Emulsible Oil. **Neotropical Entomology**, p.601-606, 2005.

FERREIRA, Fátima Teresinha R. **Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e a sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2011. 117 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.

FORMENTINI, Marina Andressa. **Efeito *in vitro* de produtos fitossanitários alternativos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin**. 2009. 52 f. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Cascavel, 2009.

GERHARDSON, Berndt Biological substitutes for pesticides. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v.20, p.338-343, 2002.

GONÇALVES, Manoel E. C., et al. Efeito de Extratos Vegetais sobre Estágios Imaturos e Fêmeas Adultas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v.30(2), p.305-309, 2001.

HIROSE, Edson, et al. Effect of Biofertilizers and Neem Oil on the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 44, p. 419 - 423, 2001.

HUANG, Zhen; ALI, Shaukat; REN, Shunxiang. Insecticidal activity influence of beta-cypermethrin on the pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Aleurodicus disperses*. **Crop Protection**, v.45, p. 104-108, 2013.

LIMA, Giuseppe. et al. . Activity of the yeasts *Cryptococcus laurentii* and *Rhodotorula glutinis* against postharvest rots on different fruits. **Biocontrol Science and Technology**, Lethbridge, v.8, p.257-267, 1998.

LIMA, José Farid Maia et al. Ação de inseticidas naturais no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho cultivado em agroecossistema de várzea. **Ciencia Rural**, vol.38, n.3, pp. 607-613, 2008.

LORD, Jeffrey C. Desiccant dust synergize the effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on stored-grain beetles. **Journal Economic Entomology** v.94, p. 367- 372. 2001.

MAMPRIM, Ana Paula. **Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.** 2011. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2011.

MARQUES, Renata Paro; MONTEIRO, Antonio Carlos; PEREIRA, Gener Tadeu. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**. v. 34, p.1675-1680, 2004.

MENEZES, Elen de Lima Aguiar. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, p.58, 2005.

MERTZ, Natalia Ramos et al. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **BioAssay**, 2010.

MOINO JUNIOR, Alcides; ALVES, Sérgio Batista. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no Comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, p.611-619, 1998.

OLIVEIRA, Carolina Natali de; NEVES, Pedro Manuel Oliveira Janeiro; KAWAZOE, Lídio Sueki. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Scientia Agricola**, v.60, p.663-667, 2003.

PIRES, Laurici M; et al. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua compatibilidade com alguns inseticidas usados na cultura do tomateiro. **Neotropical Entomology**. 39(6), p.977-984, 2010.

POTRICH, Michele, et al. Avaliação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **BioAssay** 1:12, 2006.

POTRICH, Michele, et al. Virulência de fungos entomopatogênicos a ninfas de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, p. 1783-1792, 2011.

ROHDE, Cristhiane, et al. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v.35 p. 231-240, 2006.

RONDELLI, Vando M., et al. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* potenciais para o controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, vol.30, n.3, pp. 391-396, 2012.

ROSSI-ZALAF, L. S.; et al. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p.279-302. In ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (50d). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba, FEALQ, 414p, 2008.

SANSONE, Gabriela; et al. Control of *Botrytis cinerea* strains resistant to iprodione in apple with rhodotorulic acid and yeasts. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.35, p.245-251, 2005.

SANTOS, Álison Bruno da Silva, et al. Efeito fungitóxico do óleo de nim sobre *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Caatinga** (Mossoró, Brasil), v.22, n.2, p.17-22, 2009.

SANTORO, Patricia Helena; et al. Controle de *Alphitobius diaperinus* com *Beauveria bassiana* Associada a Produtos Alternativos. **II Congresso Brasileiro de Agroecologia**, p.620-624, 2009.

SILVA, Roberta Zani da; NEVES, Pedro Manuel de Oliveira Janeiro; SANTORO, Patricia Helena. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 305-312, 2005.

VICENTINI, Sérgio; FARIA, Marcos; OLIVEIRA, Maria R.V. Screening of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolates against nymphs of *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) with description of a new bioassay method. **Neotropical Entomologi**, v.30, p. 97-103, 2001.

ZORZETTI, Janaina et al. Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 2849-2862, 2012.

#### 4 CAPÍTULO III - SELETIVIDADE DE PRODUTOS NATURAIS COMERCIAIS A *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE)

##### 4.1 RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a seletividade de produtos naturais a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Foram utilizados os produtos Baicao, Orobor<sup>®</sup> e Topneem na concentração recomendada pelo fabricante. Esses foram pulverizados sobre cartelas (1,0 × 5,0 cm) contendo ovos esterilizados de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). A testemunha constou da pulverização de água destilada esterilizada contendo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%). Realizou-se teste com chance de escolha para parasitismo, confinando-se uma fêmea de *T. pretiosum* com duas cartelas, sendo uma pulverizada com o produto e a outra com a testemunha, avaliando-se a porcentagem de parasitismo. Também se realizou o teste sem chance de escolha, que consistiu da pulverização dos tratamentos em cartelas previamente ou posteriormente ao parasitismo. Em ambos foram avaliados o número de ovos parasitados, porcentagem de emergência, longevidade e duração do período ovo-adulto. Verificou-se que para o teste com chance de escolha os produtos Topneem e Baicao apresentaram efeito repelente ao parasitoide *T. pretiosum*. No entanto, para o teste sem chance de escolha, o produto Baicao, quando pulverizado sobre as cartelas de *A. kuehniella*, reduziu a emergência, longevidade e período ovo-adulto de *T. pretiosum*. Houve redução no número de ovos parasitados quando o produto Baicao foi pulverizado no tratamento pré-parasitismo. Os produtos Orobor<sup>®</sup> e Topneem são seletivos a *T. pretiosum*, pois não afetaram nenhum dos parâmetros avaliados. O produto natural Baicao não foi considerado seletivo a *T. pretiosum*, sendo que o mesmo afetou a maioria dos parâmetros avaliados, e foi classificado como levemente nocivo quanto à toxicidade a adultos do parasitoide, em condições de laboratório.

Palavras-chaves: Organismo não alvo. Parasitoide. Compatibilidade.

##### 4.2 ABSTRACT

This study aimed to evaluate the selectivity of natural products on *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). We used the products Baicao, Orobor<sup>®</sup> and Topneem the concentration recommended by the manufacturer. These were sprayed on cards (1.0 × 5.0 cm) containing sterilized eggs of *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). The control consisted of spraying of sterile distilled water containing Tween<sup>®</sup> 80 (0.01%). Held-choice test to parasitism, by confining a female *T. pretiosum* with two cards, one sprayed with the product and the other with the witness, evaluating the percentage of parasitism. Also held the no-choice test, which consisted of spray treatments on cards previously or subsequently to parasitism. In both evaluated the number of eggs parasitized, percentage of emergence, longevity and duration of the egg-adult. It was found that for the test-

choice products Topneem and Baicao showed repellent effect to the parasitoid *T. pretiosum*. However, for the no-choice test, the product Baicao, when sprayed on the mats of *A. kuehniella*, reduced emergence, longevity and egg-adult period of *T. pretiosum*. There was a reduction in the number of eggs parasitized Baicao when the product was sprayed in treating pre-parasitism. The products Orobor<sup>®</sup> and selective Topneem *T. pretiosum* therefore not affect any of the parameters evaluated. The natural product was not considered selective Baicao *T. pretiosum*, and it affected most of the parameters evaluated, and was classified as slightly harmful for toxicity to adult parasitoid in laboratory conditions.

Keywords: Non-target organism. Parasitoid. Compatibility.

### 4.3 INTRODUÇÃO

A manutenção dos parasitoides nos agroecossistemas é de fundamental importância como fator de equilíbrio dinâmico das populações de espécies de insetos. Na natureza, com frequência, observa-se o controle biológico natural exercido por inimigos naturais com potencial de manter a população de pragas em níveis razoáveis, diminuindo assim, a intervenção do homem no controle de pragas, no entanto, busca-se produtos químicos sintéticos e produtos naturais seletivos aos parasitoides (DEGRANDE et al., 2002).

A utilização de agentes de controle biológico ocorre, normalmente, conjuntamente ou na sequência ao uso de produtos fitossanitários, e no caso dos sistemas alternativos de produção, aos produtos naturais, como extratos vegetais e óleos essenciais (GALLO et al., 2002; PENTEADO, 2007). Entre os agentes de controle biológico mais difundido e comercializado cita-se o parasitoide de ovos *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que se tornou o agente entomófago mais utilizado no controle de insetos-praga, pois ataca as ordens Lepidoptera, Hemiptera e Coleoptera (PARRA; ZUCHI, 1997; GONÇALVES et al., 2003).

Nos sistemas alternativos de produção vêm-se utilizando vários métodos de controle, alternativos aos convencionais, para reduzir populações de insetos-praga. Embora estes produtos sejam menos tóxicos do que os convencionais podem apresentar repelência, e pouco se conhece sobre o efeito dos mesmos sobre *Trichogramma*, necessitando assim de estudos constantes.



Trabalhos têm sido desenvolvidos para avaliar o efeito de produtos conhecidos como alternativos ou naturais sobre *T. pretiosum*, como os realizados com extratos aquosos de neem *Azadirachta indica* A. Juss (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004), produtos a base de Uneem (OLIVEIRA et al., 2003; SILVA, 2010; HOHMANN; SILVA; NOVAES, 2010), extrato pirolenhoso (MORANDI FILHO et al., 2006, SILVA, 2010), extratos de asteráceas (TAVARES et al., 2009) e produtos naturais comerciais (SILVA, 2010).

Em sistemas alternativos de produção, a utilização de agentes de controle biológico pode ocorrer conjuntamente com o uso de produtos naturais. Contudo, as informações a respeito do efeito de produtos alternativos sobre agentes de controle biológico ainda são escassas, até mesmo pelo constante aparecimento de novos produtos no mercado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a seletividade de produtos naturais comerciais sobre parâmetros biológicos de *T. pretiosum*.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

##### 4.4.1 Aquisição dos Ovos de *Anagasta kuehniella* e Adultos de *Trichogramma pretiosum*

Os ovos esterilizados de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) e os ovos de *A. kuehniella* parasitados por *T. pretiosum* foram fornecidos pelo Laboratório de Controle Biológico do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR.



#### 4.4.2 Obtenção de Produtos Naturais

Para a realização dos bioensaios foram usados produtos naturais comerciais certificados para diferentes culturas em sistemas orgânicos de produção. As caldas dos produtos naturais, nas concentrações recomendadas (Tabela 4.1), foram preparadas em frascos Erlenmeyers contendo 100 mL de água destilada esterilizada.

**Tabela 4.1:** Produtos naturais comerciais, recomendação de uso, composição e concentração recomendada, conforme dados fornecidos pelo fabricante.

Produto	Uso	Composição	<sup>1</sup> Conc.
Orobor <sup>®</sup>	FF	Óleo da casca de laranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) enriquecido com elementos essenciais Boro e Nitrogênio	0,005 L/1000 L
Baicao	FF	Raiz de Timbó ( <i>Derris</i> sp.)	0,0015 L/1000 L
Topneem	INS FUN e BAC	Óleo de neem (folhas, torta de sementes, e óleo), rotenona (timbó), piretro natural (crisântemo), extrato pirolenhoso (eucalipto), alho ( <i>Allium sativum</i> ), alamanda ( <i>Allamanda blanchetti</i> ), maravilha ( <i>Mirabilis Jalapa</i> ), cinamomo ( <i>Melia azedarach</i> ) e pimenta do reino ( <i>Piper nigrum</i> )	0,01L/ 1000 L

<sup>1</sup> Conc.= Concentração Recomendada para volume de calda 100mLde água.  
FF=Fertilizante Foliar; INS= Inseticida; FUN=Fungicida; BAC=Bactericida;

#### 4.4.3 Preparação dos Bioensaios e Pulverização dos Produtos Naturais

Para todos os testes (experimentos) foram preparadas cartelas (5,0 × 1,0 cm) contendo, aproximadamente, 200 ovos de *A. kuehniella*, esterilizados e não parasitados. Para a pulverização dos produtos naturais sobre as cartelas, estas foram arranjadas em pares sobre a bancada e, com o auxílio de um aerógrafo Pneumatic Sagyma<sup>®</sup> acoplado a uma bomba de pressão da marca Fanem<sup>®</sup>, regulada a 1,2 kgf/cm<sup>2</sup>, foram aplicados 200 µL da calda, quantidade suficiente para cobrir as cartelas.

#### 4.4.4 Teste com Chance de Escolha

Cada tratamento constou da pulverização de 20 cartelas com água destilada esterilizada, que foi considerada a testemunha, e 20 cartelas com as caldas dos produtos naturais. As cartelas foram acondicionadas em tubos de vidro de fundo chato (10 cm × 2,5 cm), juntamente com uma fêmea de *T. pretiosum* com 24 h de emergência. Cada tubo (repetição) recebeu uma cartela pulverizada com água destilada esterilizada e uma pulverizada com a calda do produto natural, devidamente identificadas, totalizando 20 repetições para cada tratamento, conforme metodologia adaptada de Gonçalves-Gervásio; Vendramim (2004). Os tubos de vidro foram vedados com filme de PVC e acondicionados em câmara climatizada tipo BOD por 24 h (temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR:  $70 \pm 10\%$  e 14 h de fotofase), sendo as fêmeas retiradas após este período.

Foi avaliada a porcentagem de parasitismo realizada por *T. pretiosum*, comparando cada produto natural com a respectiva testemunha, sendo o somatório do número de ovos parasitados em ambos (testemunha e tratamento) considerados como 100%, seguindo a equação: 
$$\text{POPTrat} = \frac{\text{OPTrat}}{\text{OPTrat} + \text{OPTest}} \times 100$$
, onde: POPTrat = porcentagem de ovos parasitados no tratamento, OPTrat = ovos parasitados no tratamento e OPTest = ovos parasitados na testemunha (POTRICH, 2010).

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Wilcoxon, utilizando-se o programa estatístico Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2007).

#### 4.4.5 Teste sem Chance de Escolha

##### 4.4.5.1 Pulverização pré-parasitismo

Foram preparadas cartelas (5,0 × 1,0 cm) com ovos de *A. kuehniella*, esterilizados e não parasitados, que foram pulverizados com as caldas dos produtos naturais, sendo utilizadas 20 cartelas (repetições) para cada tratamento. Em seguida, as cartelas foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (10 cm × 2,5 cm) esterilizado, juntamente com uma fêmea de *T. pretiosum* com no máximo

24 h de emergência, sendo o acondicionamento nas mesmas condições descritas no item 4.4.4. Após 24 h as fêmeas foram retiradas dos tubos, e após 92 horas foram realizadas as avaliações. Como testemunha foi pulverizada água destilada esterilizada.

Avaliou-se o número de ovos parasitados de *A. kuehniella* enegrecidos (sinal de parasitismo), que corresponde a fase de pré-pupa do parasitoide, apresentando grânulos de urato concentrados no abdome (CÔNSOLI; ROSSI; PARRA, 1999), o percentual de emergência, a duração do período ovo-adulto e a longevidade de machos e fêmeas. A redução na capacidade de parasitismo para fêmeas que tiveram contato com os produtos foram comparadas com a testemunha e calculadas pela fórmula  $RP = \left[ 1 - \left( \frac{P}{p} \right) * 100 \right]$ , onde RP= Porcentagem de redução do parasitismo, P= valor do parasitismo médio para cada produto p= representa o parasitismo médio observado da testemunha. Com base na capacidade de redução do parasitismo os produtos naturais foram classificados em quatro categorias, conforme “International Organization for Biological Control” (IOBC): 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (>99%) (HASSAN, 1997). O percentual de emergência foi calculado pela equação  $Pe = \frac{Te}{To} \times 100$ , onde, Pe = Porcentagem de emergência, Te = Total de emergidos, To = Total de ovos parasitados (POTRICH, 2010). A média da longevidade e do período ovo-adulto foi calculada através de média ponderada.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa estatístico Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2007).

#### 4.4.5.2 Pulverização pós-parasitismo

Fêmeas de *T. pretiosum*, com no máximo 24 h de emergência, foram individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (10 cm × 2,5 cm) com cartelas contendo os ovos esterilizados de *A. kuehniella*, sendo os tubos acondicionados em câmara climatizada nas mesmas condições descritas no item 4.4.4. Após 24 horas, as fêmeas foram retiradas e as cartelas foram pulverizadas com as caldas dos

produtos naturais, sendo 20 cartelas (repetições) por tratamento. Para testemunha foi pulverizado água destilada esterilizada. Os tubos retornaram para a câmara climatizada, nas mesmas condições descritas anteriormente. Os parâmetros avaliados, bem como a análise dos dados, foram os mesmos descritos no teste de pulverização pré-parasitismo.

Para a comparação das médias entre os bioensaios de pulverização pré e pós-parasitismo foi utilizado o teste T, utilizando-se o programa Bioestat 5.0<sup>®</sup> (AYRES et al., 2007).

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.1 Teste com Chance de Escolha

O produto Orobor<sup>®</sup> não repeliu o parasitismo de *T. pretiosum*, não diferindo significativamente quando comparado à respectiva testemunha (Tabela 4.2).

**Tabela 4.2:** Porcentagem de ovos de *Anagasta kuehniella* parasitados por *Trichogramma pretiosum*, com chance de escolha entre ovos pulverizados com produtos naturais ou testemunha (temp.  $26 \pm 2$  C e 14h de fotofase).

Tratamento	Ovos parasitados
Testemunha	64,2 ± 8,44 a
Baicao	35,8 ± 8,44 b
<i>p</i>	0,0546
Testemunha	75,6 ± 7,81 a
Topneem	24,4 ± 7,81 b
<i>p</i>	0,002
Testemunha	44,6 ± 10,68 a
Orobor <sup>®</sup>	55,4 ± 10,68 a
<i>p</i>	0,3081

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Wilcoxon.

Os produtos Baicao (35,8%) e Topneem (24,4%) repeliram o parasitismo de *T. pretiosum*, quando o mesmo teve livre escolha entre ovos pulverizados com produtos naturais e ovos pulverizados com água destilada esterilizada, diferindo significativamente das respectivas testemunhas (Tabela 4.2). Esta repelência pode ser provocada pelo fato das fêmeas de *T. pretiosum* terem a capacidade de identificar substâncias tóxicas ou repelentes sobre os ovos do hospedeiro, podendo, em algumas situações, não parasitá-los (VINSON, 1997).

O produto natural Baicao apresenta em sua composição a rotenona, sendo que neste trabalho apresentou efeito de repelência. A repelência da rotenona é dada pela inibição que esta provoca na cadeia respiratória mitocondrial, reduzindo o consumo de oxigênio (IPCS, 1992) e a produção de ATP (adenosina trifosfato), necessária ao metabolismo e desenvolvimento do organismo.

O efeito repelente apresentado pelo produto natural Baicao pode ter ocorrido pela rotenona. Xavier, (2009) avaliou em teste de livre escolha a preferência alimentar de adultos de *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), e verificou que a rotenona apresentou efeito tóxico e de repelência a *A. mellifera*. Entretanto, o produto Rotenat, que apresenta em sua composição rotenona, quando pulverizado sobre ovos de *Euchistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) não repeliu o parasitismo de *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) (SMANIOTTO, 2011).

O produto natural Topneem é indicado pelo fabricante como repelente (MFRURAL, 2011), que foi comprovado neste trabalho, no qual o mesmo repeliu o parasitismo de *T. pretiosum*, apesar de não ser um efeito positivo no enfoque do controle biológico, se houver repelência, não haverá parasitismo para o controle da praga, aumentando assim o nível da população de insetos-pragas.

Resultados análogos foram obtidos por Gonçalves-Gervásio; Vendramim (2004) que verificou que o extrato aquoso de sementes de neem na concentração de 10%, repeliu o parasitismo do parasitoide *T. pretiosum* em 85%, comparando-se com a testemunha. No entanto, Silva (2010) obteve resultados discrepantes quando utilizou o produto Pironin (a base de neem), sobre ovos de *A. kuehniella*, o mesmo não repeliu o parasitismo de *T. pretiosum*, o autor relata que quando pulverizado o produto sobre os ovos apresentou 37,4% de parasitismo, se comparado com a testemunha que obteve (62,6%).

#### 2.5.2 Teste sem Chance de Escolha: Pulverização Pré e Pós - Parasitismo

Verificou-se que o produto natural Baicao, quando pulverizado previamente ao parasitismo, reduziu o parasitismo de *T. pretiosum*, sendo que o número médio de ovos parasitados foi de 7,4, já a testemunha apresentou 26,7 ovos

parasitados. Esta redução no parasitismo pode ser provocada pelo fato das fêmeas de *T. pretiosum* terem a capacidade de identificar substâncias tóxicas ou repelentes sobre os ovos do hospedeiro, podendo, em algumas situações, não parasitá-los (VINSON, 1997), ou ainda o produto pode ter ocasionado à morte das fêmeas parasítica, impedindo assim o parasitismo dos ovos.

**Tabela 4.3:** Número médio ( $\pm$  EP) de ovos de *Anagasta kuehniella* parasitados por *Trichogramma pretiosum*, pulverizados com produtos naturais previa ou posteriormente ao parasitismo (temp.  $26 \pm 2$  C e 14h de fotofase).

Tratamentos	Número de ovos parasitados por <i>T. pretiosum</i>		<i>p</i>	RP <sup>1</sup>	Classes
	Pós-parasitismo	Pré-parasitismo			
Testemunha	26,4 $\pm$ 2,13 Aa	26,7 $\pm$ 0,05 Aa	0,4057	-	-
Orobor <sup>®</sup>	17,7 $\pm$ 2,85 Ba	30,0 $\pm$ 0,02 Aa	0,0049	0,00	1
Baicao	22,8 $\pm$ 3,39 Aa	7,4 $\pm$ 0,13 Bb	0,0003	72,28	2
Topneem	22,4 $\pm$ 3,47 Aa	19,0 $\pm$ 0,07 Aab	0,2347	28,84	1
<i>p</i>	0,3987	0,001			

<sup>1</sup>RP = Redução na capacidade de parasitismo comparado com a testemunha; Classes da IOBC/WPRS para teste de toxicidade inicial sobre adultos: 1 = inócuo (<30%), 2 = levemente nocivo (30-79%), 3 = moderadamente nocivo (80-99%), 4 = nocivo (>99%).

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste T.

Quando as fêmeas de *T. pretiosum* foram confinadas com os ovos tratados com o produto natural Orobor<sup>®</sup>, verificou-se que não houve redução do parasitismo em relação à testemunha. Por sua vez, quando este mesmo produto e Baicao foram pulverizados posteriormente ao parasitismo, não interferiram significativamente no número de ovos parasitados (Tabela 4.3), visto que os mesmos foram aplicados após o ato de parasitar de *T. pretiosum*.

Com relação ao produto a base de neem, observou-se que não houve diferença significativa no número de ovos parasitados no pré e pós-parasitismo (Tabela 4.3).

Resultados divergentes foram verificados por Broglio-Micheletti; Santos; Pereira-Barros, (2006) para o óleo emulsionável de neem, nas concentrações 0,33%, 0,53% e 1%, provoca repelência total ao parasitismo de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sobre ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepdoptera: Crambidae), no teste sem chance de escolha ou de confinamento. O inseticida botânico AzaMax<sup>®</sup> (produto a base de neem), nas concentrações 2,0 mL/L e 0,008 mL/L, também afetou a porcentagem de parasitismo de *T. pretiosum* sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)

(Lepidoptera: Noctuidae) (CORREIA, 2012). No entanto, Sidi et al., (2012) relatam que não houve redução no parasitismo de *Trichogramma papilionis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Pyralidae:Lepidoptera) pulverizados com inseticida botânico azadiractina (Neemix).

A variação observada nos resultados dos diferentes trabalhos com neem pode estar relacionada ao tipo de produto, pois o óleo pode ter provocado redução no número de ovos parasitados por apresentar maior concentração de princípio ativo azadiractina (MENEZES, 2005; HOHMANN; SILVA; NOVAES, 2010). O produto Topneem, testado no presente trabalho, apresenta também em sua composição rotenona (timbó), piretro natural (crisântemo), extrato pirolenhoso (eucalipto), alho, alamanda, maravilha, cinamomo e pimenta do reino (MFRURAL, 2011), apresentando assim menores concentrações de princípio ativo azadiractina.

Comparando-se as estratégias de pulverização, quando pulverizado o produto Baicao sobre ovos de *A. kuehniella* previamente ao parasitismo, houve redução significativa no número de ovos parasitados por *T. pretiosum*, já o produto Orobor<sup>®</sup> reduziu o número de ovos com sinal de parasitismo por *T. pretiosum* quando pulverizado após o parasitismo, uma possível explicação que pode ter ocorrido, o produto pode ter penetrado no córion do ovo e ocasionado à morte do parasitoide.

Os produtos naturais Orobor<sup>®</sup> e Topneem foram classificados como inócuos (classe1), segundo a classificação da IOBC, pois reduziram em menos de 30% o parasitismo das fêmeas de *T. pretiosum*. Resultados similares foram obtidos por Morandi Filho et al. (2006), que relatam que os inseticidas Natuneem (Óleo de neem) e Biopirol (Extrato pirolenhoso) foram considerados seletivos a *T. pretiosum*. O produto natural Topneem, que apresenta, também, em sua formulação extrato pirolenhoso, se mostrou seletivo a *T. pretiosum*.

No entanto, o produto natural Baicao, foi classificado como levemente nocivo (classe 2), pois provocou redução na capacidade de parasitismo de fêmeas de *T. pretiosum* em 72,28%, quando comparado à testemunha em igualdade de condições. Num sistema agroecológico, onde se utiliza a associação de produtos naturais com parasitoides para o controle de diversos insetos praga, esta redução no parasitismo provocado pelo produto natural Baicao, de 72,28%, pode afetar o controle de pragas, mesmo sendo considerado, pela IOBC, como levemente nocivo.



Para o parâmetro porcentagem de adultos de *T. pretiosum* emergidos, os produtos naturais Orobor® e Topneem não afetaram este parâmetro, tanto na pulverização pré-parasitismo quanto na pulverização pós-parasitismo (Tabela 4.4). Resultado discrepante foi relatado por Kraemer, (2007) que encontrou influência negativa do produto comercial Pironim (base de neem) sobre a emergência de *T. pretiosum*. Já Hohmann; Silva; Novaes (2010) encontraram resultados semelhantes a este trabalho, observando que não houve redução na emergência de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuehniella* pulverizados com produto comercial Dalneem nas concentrações 0,25, 0,5 e 2,5%, pulverizados um dia antes da exposição dos ovos as fêmeas de *T. pretiosum*. Silva (2010) relata que os produtos Pironim e Natural neem não afetaram a emergência *T. pretiosum*, esses resultados foram semelhantes aos obtidos neste trabalho.

**Tabela 4.4:** Porcentagem média ( $\pm$  EP) de adultos de *Trichogramma pretiosum* emergidos de ovos de *Anagasta kuehniella* pulverizados com produtos naturais, previamente ou posteriormente ao parasitismo (Temp.  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e 14h de fotofase).

Porcentagem média de adultos de <i>T. pretiosum</i> emergidos			
Tratamentos	Pré - parasitismo	Pós - parasitismo	<i>p</i>
Testemunha	80,2 $\pm$ 10,27 Aa	75,8 $\pm$ 4,22 Aab	0,3479
Orobor®	77,8 $\pm$ 5,30 Aa	90,8 $\pm$ 12,21 Aa	0,1343
Baicao	39,8 $\pm$ 9,17 Bb	57,5 $\pm$ 5,17 Ab	0,0433
Topneem	90,9 $\pm$ 4,10 Aa	81,5 $\pm$ 5,30 Aa	0,0851
<i>P</i>	0,002	0,0059	

<sup>1</sup>Porcentagem calculada em relação ao número de ovos parasitados e total de emergidos. Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste T.

Entretanto, a porcentagem de emergência de *T. pretiosum* quando os ovos de *A. kuehniella* foram pulverizados previamente e posteriormente ao parasitismo com o produto natural Baicao foi reduzido em relação às respectivas testemunhas. Resultado discrepante foi observado por Smaniotto (2011), relata que não houve redução na emergência do parasitoide *T. podisi* em ovos de *E. heros* pulverizados com o produto Rotenat (produto a base de rotenona).

Na análise do parâmetro porcentagem de emergência de *T. pretiosum* comparando as estratégias de pulverização, apenas o produto natural Baicao, quando pulverizado previamente ao parasitismo afetou negativamente este parâmetro (Tabela 4.4).



Com relação à longevidade média de *T. pretiosum* emergidos de ovos de *A. kuehniella*, pulverizados previamente e posteriormente com o produto Baicao, aumentou tanto para fêmeas quanto para machos (este último apenas no pré-parasitismo), quando comparado às respectivas testemunhas (Tabela 4.5). Já os produtos Orobor® e Topneem, pulverizados previa ou posteriormente ao parasitismo, não interferiram na longevidade de *T. pretiosum* quando comparados às respectivas testemunhas (2,0 dias).

**Tabela 4.5:** Longevidade média ( $\pm$  EP) de fêmeas e machos de *Trichogramma pretiosum* emergidos de ovos de *Anagasta kuehniella* pulverizados com produtos naturais previamente e posteriormente ao parasitismo (temp.  $26 \pm 2$  C e 14h de fotofase).

Longevidade de fêmeas de <i>T. pretiosum</i>			
Tratamentos	Pré- parasitismo	Pós- parasitismo	<i>p</i>
Testemunha	1,4 $\pm$ 0,10 Ab	1,5 $\pm$ 0,11 Ab	0,4401
Orobor®	1,6 $\pm$ 0,07 Ab	1,5 $\pm$ 0,12 Aab	0,4264
Baicao	2,1 $\pm$ 0,26 Aa	1,9 $\pm$ 0,11 Aa	0,2214
Topneem	1,3 $\pm$ 0,07 Ab	1,4 $\pm$ 0,10 Ab	0,1647
<i>P</i>	0,0016	0,0155	
Longevidade de machos de <i>T. pretiosum</i>			
Tratamentos	Pré- parasitismo	Pós- parasitismo	<i>p</i>
Testemunha	1,5 $\pm$ 0,08 Ab	2,0 $\pm$ 0,16 Aa	0,0026
Orobor®	1,7 $\pm$ 0,11 Aab	1,7 $\pm$ 0,13 Aa	0,4563
Baicao	2,4 $\pm$ 0,50 Aa	1,8 $\pm$ 0,10 Aa	0,1767
Topneem	1,4 $\pm$ 0,10 Bb	1,9 $\pm$ 0,16 Aa	0,0164
<i>P</i>	0,008	0,6126	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste T.

Comparando as estratégias de pulverização, apenas o produto Topneem apresentou diferença significativa, sendo que na pulverização pré-parasitismo provocou redução na longevidade de machos de *T. pretiosum*. O produto comercial a base de neem (NIM-I-GO Agrydine S.A.) em diferentes concentrações, reduziu a longevidade das fêmeas de *T. pretiosum* em até 50%, na maior concentração (400mL/20L de calda) (OLIVEIRA; PRATISSOLI; BUENO, 2003). No entanto, Silva, (2010) verificou que o produto Pironim quando pulverizado sobre ovos de *A. kuehniella* no pré e pós-parasitismo, o *T. pretiosum* apresentou longevidade média para fêmeas de 1,4 dias, para machos apresentou longevidade média de 1,5 dias no pré-parasitismo e 1,4 dias no pós-parasitismo, esses resultados foram semelhantes aos obtidos neste trabalho.

A maior ou menor longevidade pode estar relacionada ao desenvolvimento do parasitoide no ovo do hospedeiro. Quando este apresentar

maior disponibilidade de nutrientes, poderão emergir adultos mais vigorosos e, conseqüentemente, terem longevidade maior. No entanto, os parasitoides que se desenvolveram em ovos menos nutritivos, ou que os produtos naturais interferiram na disponibilidade de nutrientes, podem emergir menos vigorosos e morrerem antes, diminuindo assim, sua longevidade (PARRA, 2007).

No que se refere ao parâmetro ovo-adulto verificou-se que nos teste pré e pós-parasitismo o produto Baicao provocou aumento significativo no período ovo-adulto de fêmeas (9,0 dias e 8,5 dias) respectivamente, comparando com às respectivas testemunhas que apresentou período ovo-adulto de 8,4 dias e 8,2 dias respectivamente, o mesmo ocorreu para o período ovo-adulto de machos quando a pulverização foi realizada previamente ao parasitismo (9,1 dias), onde a testemunha apresentou 8,2 dias (Tabela 4.6).

**Tabela 4.6:** Período médio ( $\pm$  EP) de ovo-adulto de fêmeas e machos de *Trichogramma pretiosum* emergidos de ovos de *Anagasta kuehniella* pulverizados com produtos naturais previamente e posteriormente ao parasitismo (temp.  $26 \pm 2$  C e 14h de fotofase).

Período ovo-adulto de fêmeas de <i>T. pretiosum</i>			
Tratamentos	Pré- parasitismo	Pós- parasitismo	<i>p</i>
Testemunha	8,4 $\pm$ 0,10 b	8,2 $\pm$ 0,09 b	*
Orobor <sup>®</sup>	8,3 $\pm$ 0,09 Ab	8,0 $\pm$ 0,04 Bb	0,0482
Baicao	9,0 $\pm$ 0,21 a	8,5 $\pm$ 0,09 a	*
Topneem	8,1 $\pm$ 0,03 b	8,1 $\pm$ 0,10 b	*
<i>p</i>	0,0004	0,0013	
Período ovo-adulto de machos de <i>T. pretiosum</i>			
Tratamentos	Pré- parasitismo	Pós- parasitismo	<i>p</i>
Testemunha	8,2 $\pm$ 0,10 Ab	8,6 $\pm$ 0,16 Aa	0,3463
Orobor <sup>®</sup>	8,3 $\pm$ 0,06 Ab	8,4 $\pm$ 0,13 Aa	0,1191
Baicao	9,1 $\pm$ 0,48 a	8,4 $\pm$ 0,10 a	*
Topneem	8,4 $\pm$ 0,16 Aab	8,6 $\pm$ 0,16 Aa	0,4401
<i>p</i>	0,0249	0,5731	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste T.

\* Não foi possível a análise estatística, pelo número reduzido de repetições.

Comparando-se as estratégias de pulverização, o produto Orobor<sup>®</sup> apresentou diferença significativa, na pulverização pós-parasitismo, reduzindo o período ovo-adulto de fêmeas de *T. pretiosum*.

Em trabalho semelhante, Silva, (2010) verificou que o produto Pironin, pulverizado sobre ovos de *A. kuehniella* após o parasitismo, aumentou o período ovo-adulto para machos e fêmeas de *T. pretiosum*. Segundo Potrich, (2010), o período ovo-adulto mais longo não é interessante do ponto de vista do controle a campo, já

que período mais longo acarreta na demora para emergência dos adultos e, conseqüentemente, diminuição no número de progênies ao longo do tempo.

Os produtos naturais afetaram alguns dos parâmetros biológicos de *T. pretiosum* em laboratório, no entanto, no campo, esses efeitos podem ser ainda menores, já que no laboratório é forçado ao contato. No campo muitas vezes os produtos podem não entrar em contato direto com o ovo do inseto-praga. No entanto, é importante salientar que são necessários estudos em campo, avaliando assim os possíveis efeitos sobre adultos, além da avaliação sobre o efeito dos produtos na geração F1.

#### 4.6 CONCLUSÕES

O produto natural Orobor<sup>®</sup> é seletivo ao parasitoide *T. pretiosum*, pois não afetou os parâmetros avaliados.

O produto natural Topneem afetou negativamente alguns parâmetros avaliados, mas é classificado como seletivo ao parasitoide *T. pretiosum*.

O produto natural Baicao não é seletivo a *T. pretiosum*, sendo que o mesmo afetou negativamente a maioria dos parâmetros avaliados, é classificado como levemente nocivo quanto à toxicidade a adultos do parasitoide.

#### 4.7 REFERÊNCIAS

AYRES, Manuel, et al. **BioEstat**: Aplicação estatística nas áreas das ciências biomédicas. Belém, 2007.

BROGLIO-MICHELETTI, Sônia Maria F.; SANTOS, Adriano José N.; PEREIRA-BARROS, Josean Leite. Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 30, p. 1051-1055, 2006.

CÔNSOLI, Fernando L.; ROSSI, Marta M.; PARRA, José Roberto P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. São Paulo, v.43, p.271-275, 1999.

CORREIA, Alicely Araújo. **Avaliação de inseticidas sobre a biologia e embriologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e o efeito em *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoide de ovos**. 2012.87 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

DEGRANDE, Paulo E., et al. Metodologia para avaliar impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 71-93, 2002.

GALLO, Domingos; et al., **Entomologia Agrícola**, v.10. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GONÇALVES-GERVÁSIO, Rita de Cássia Rodrigues; VENDRAMIM, José Djair. Efeito de Extratos de Meliáceas Sobre o Parasitóide de Ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 607-610, 2004.

GONÇALVES, J.R. et al. Avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Acta Scient. – Agron.** 25: 485-489, 2003.

HASSAN, Sherif A. Métodos padronizados para testes de seletividade, com ênfase em *Trichogramma*. In.: PARRA, J.R.P. & ZUCCHI, R.A. (ed.) **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 324p, 1997.

HOHMANN Celso L., SILVA, Flavia A. C., NOVAES, Tanara G. de. Selectivity of Neem to *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology** 39(6): p.985-990, 2010.

KRAEMER, Beatriz. **Interferência de extratos vegetais e óleo mineral emulsionável sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum***. 2007. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

IPCS – International Programa em Chemical Safety. **Rotenone health and safety guide**. World Health Organization Number. 1992.

MENEZES, Elen de Lima Aguiar. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Seropédica: Embrapa Agrobiologia**, p.58, 2005.

MFRURAL

Disponível:

<http://www.mfrural.com.br/detalhe.asp?cdp=51762&nmoca=top-neem-inseticida-natural>. Acesso em: 08 mar 2011.

MORANDI FILHO, Wilson Jose, et al. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p.1072-1078, jul-ago, 2006.

OLIVEIRA, Renato Cassol de; PRATISSOLI, Dirceu; BUENO, A.F. Efeito de *Azadirachata indica* (NIM) sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Revista Ecosistema**, v. 28. P.75-78, 2003.

PARRA, José Roberto Postali; ZUCCHI, Roberto Antonio. **Trichogramma e o controle Biológico Aplicado**. Piracicaba.FEALQ. p.324. 1997.

PENTEADO, Silvio Roberto. **DEFENSIVOS ALTERNATIVOS E NATURAIS** 3.ed. Livros Via Orgânica: Campinas, SP, 2007.

POTRICH, Michele. **Seletividade de fungos entomopatogênicos a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e virulência a *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae)**. 2010. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

SIDI, M.B., et al. Effect of insecticide residue and spray volume application of azadirachtin and rotenone on *Trichogramma papilionis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International journal of agriculture & biology**, 14: 805–810, 2012.

SILVA, Everton Ricardi Lozano da. **Efeito de produtos alternativos sobre *Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki* e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2010. 117 f. Tese (Doutorado em Agronomia)– Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

SMANIOTTO, Lisonéia Fiorentini. **Seletividade de inseticidas alternativos a *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae)**. 2011. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011.

TAVARES, Wagner de Souza; et al. Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Industrial Crops and Products**. v.30, p.384-388, 2009.

VINSON, S. Bradleigh. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.(d.) ***Trichogramma* e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997.

XAVIER, Vânia Maria. **Impacto de inseticidas botânicos sobre *Apis melífera*, *Nannotrigona testaceicornis* e *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae)**. 2009. 43 f. Dissertação (*Magister Scientiae*), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos utilizando produtos naturais em associação com fungos entomopatogênicos ainda são escassos, o que torna difícil à comparação dos resultados encontrados, comprovado a importância de estudos similares, para o controle de diversas pragas. Ainda, estudos utilizando o inseto *in vivo* como indicador da compatibilidade complementa e certifica a compatibilidade.

Os resultados encontrados neste trabalho demonstram o potencial de utilização conjunta do fungo com os produtos naturais em programas de controle biológico.

Os produtos naturais afetaram positivamente ou negativamente alguns dos parâmetros biológicos de *T. pretiosum* em laboratório, no entanto, no campo, esses efeitos podem ser ainda menores, já que no laboratório é forçado ao contato, no campo muitas vezes os produtos podem não entrar em contato direto com o ovo do inseto-praga.