

SUSCETIBILIDADE DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Metarhizium rileyi* AO FUNGICIDA TEBUCONAZOL

GONÇALVES, A.C.S.¹; GODOY, C.V.²; OLIVEIRA, M.C.N. de²; SOSA-GÓMEZ, D.R.²

¹Universidade do Norte do Paraná- UNOPAR; ²Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, Distrito de Warta, C.P. 231, CEP 86001-970, Londrina-PR, daniel.sosa-gomez@embrapa.br

Introdução

As principais lagartas pragas da soja, *Chrysodeixis includens* e *Anticarsia gemmatilis*, são afetadas pelo fungo *Metarhizium rileyi*. Sua levada prevalência pode ser afetada pela aplicação de fungicidas destinados ao controle de doenças, principalmente das controladas no início do ciclo da cultura, uma vez que o inóculo inicial que desencadeia as epizootias pode ser severamente afetado (Sosa-Gómez et al., 2003). Portanto, a identificação, caracterização e seleção de isolados que apresentem menor suscetibilidade aos fungicidas mais utilizados é de grande importância para favorecer o controle destas lagartas em sistemas agrícolas onde esses produtos são muito utilizados.

A seleção de cepas de fungos benéficos com capacidade de tolerar doses altas de fungicidas tem sido pouco explorada. Um dos poucos exemplos encontrados na literatura correspondem aos estudos realizado com o fungo *Beauveria bassiana*. Entretanto, a maior parte das linhas de pesquisa com o mesmo objetivo tem sido a abordagem de transgenia, aplicada a *Metarhizium anisopliae* (Bogo et al., 1996; Cao et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do fungicida tebuconazole no crescimento de isolados do fungo *M. rileyi* e verificar a ocorrência de variabilidade de resposta, assim como verificar a possibilidade de seleção de cepas com resistência a ação do fungicida.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Soja, Londrina, PR. Os isolados de *M. rileyi* denominados CNPSo-Nr147, CNPSo-Nr150, CNPSo-Nr156, CNPSo-Nr493 (autorização do Sisgen, A7B2B5F) (Sosa-Gómez; Silva, 2002). Os isolados foram cultivados em placas contendo meio de cultura SMAY (2,5g de neopeptona, 10g de maltose, 2,5g de extrato de levedura, 3,75g de ágar e 250ml de água). Após 12 dias, quatro amostras de colô-

nias foram extraídos com um vazador (7 mm de diâmetro) esterilizado. As quatro porções foram transferidas para 50 mL de meio líquido SMY e submetidas à incubação em agitador (Incubador Tecnal, TE-421, Local) a 80 rpm, a 26 °C ± 2°C durante 10 dias. O fungicida foi adicionado para obter as diluições finais de 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm e 3 ppm de tebuconazol (Folicur EC, 200g L⁻¹, Bayer) no meio de cultura líquido. Após a incubação com e sem o fungicida por 10 dias o micélio foi filtrado, a vácuo, em funil de Buchner e o peso do micélio foi determinado por diferença de peso após a filtragem e submissão ao calor seco, em estufa, até peso constante. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com os tratamentos em arranjo fatorial, com cinco isolados de *M. rileyi* vs. quatro concentrações de tebuconazol e quatro repetições.

Foram verificadas todas as pressuposições de normalidade (Shapiro; Wilk, 1965), independência (Parente, 1984), não-aditividade do modelo (Tukey, 1949) e homogeneidade das variâncias dos tratamentos (Burr; Foster, 1972) e realizadas as análises de variâncias (ANOVA) e os testes de comparação múltiplas de médias pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$ (Steel; Torrie, 1960) para verificar o efeito das concentrações de tebuconazol sobre o crescimento dos diferentes isolados do fungo.

Resultados e Discussão

De maneira geral, o peso do micélio dos isolados de *M. rileyi* foi inversamente proporcional ao aumento de concentração de tebuconazol no meio de cultura SMY (Tabela 1 e Figura 1). Os isolados que apresentaram maior crescimento micelial sem exposição ao fungicida foram o Nr147 e o Nr604. Na concentração mais elevada de 3ppm, todos os isolados sofreram forte inibição do crescimento micelial e não foram observadas diferenças significativas entre os isolados. Já na concentração de 2 ppm de tebuconazol, o isolado N4 604 apresentou o maior crescimento micelial sem diferir esta-

tisticamente da testemunha sem fungicida. É interessante mencionar que o isolado Nr 604 foi obtido em fevereiro de 2006, após o início da prática de uso generalizado de fungicidas destinado ao controle de ferrugem-asiática, *Phakopsora pachyrhizi*. Por outro lado, os outros isolados de maior sensibilidade ao tebuconazol foram obtidos em junho de 1993 (Nr147), janeiro de 1996 (Nr150 e Nr151) e finalmente o isolado Nr 156 foi isolado em dezembro de 1988.

Conclusão

O isolado de *M. rileyi* Nr 604 apresentou tolerância ao fungicida tebuconazol, aspecto que pode ser interessante para seu uso como agente de controle microbiano de lagartas desfolhadoras e no processo de seleção de genótipos resistentes.

Referências

- BOGO, M. R.; VAINSTEIN, M.H., ARAGÃO F. J. L.; RECH, E.; SCHRANK, A. High frequency gene conversion among benomyl resistant transformants in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 142, n.1, p.123-127, 1996.
- BURR, I.W.; FOSTER, L. A., 1972. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26 p. (Mimeo series, 282).
- CAO, Y.; PENG, G.; HE, Z.; WANG, Z; Yin, Y.; XIA, Y. Transformation of *Metarhizium anisopliae* with benomyl resistance and green fluorescent protein genes provides a tag for genetically engineered strains. **Biotechnology Letters**, v. 29, p. 907-911, 2007.
- PARENTE, R. C. P. **Aspectos da análise de resíduos**. 1984. 139 f. Dissertação - (Mestrado em Estatística e Experimentação Agronômica) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Piracicaba.
- SHAPIRO, S. S., WILK, M. B., 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; DELPIN, K. E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M. H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 287-291, 2003.
- SOSA-GOMEZ, D. R.; SILVA, J.J. da (Org.) **Fungos entomopatogênicos**: catálogo de isolados. Londrina: Embrapa Soja, 2002. 32 p. (Embrapa Soja. Documentos, 188).
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**: with special reference to the biological sciences. New York: Macgraw-Hill, 1960. 481 p.
- TUKEY, J. W. One degree of freedom for non-additivity. **Biometrics**, v. 5, p. 232-242, 1949.

Tabela 1. Peso do micélio de isolados de *Metarhizium rileyi* expostos continuamente durante 10 dias a tebuconazol diluído no meio de cultura líquido.

Isolado	Concentrações de tebuconazol			
	0 ppm	1 ppm	2 ppm	3 ppm
Nr147	0,475 A a	0,274 B ab	0,157 B b	0,087 C a
Nr150	0,311 A bc	0,147 B b	0,245 AB b	0,111 B a
Nr151	0,199 AB cd	0,314 A a	0,074 B b	0,111 B a
Nr156	0,098 A d	0,202 A ab	0,140 A b	0,090 A a
Nr604	0,432 A ab	0,191 B ab	0,452 A a	0,096 B a

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

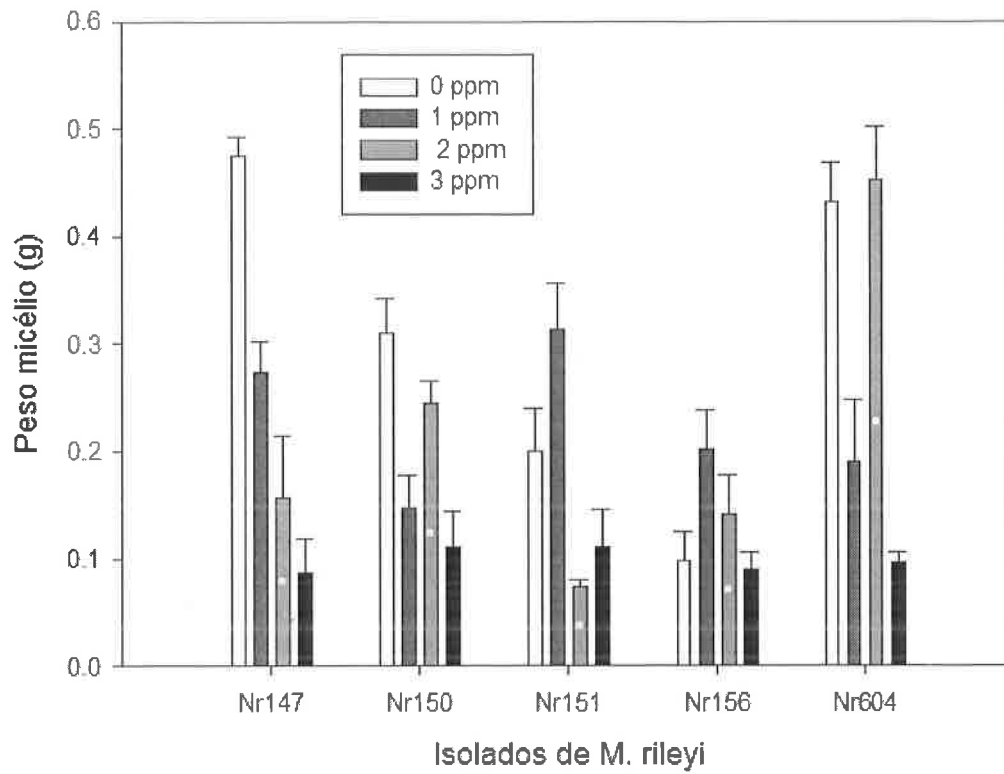


Figura 1. Massa média de micélio de isolados de *Metarhizium rileyi* expostos ao fungicida tebuconazol durante 10 dias em agitação contínua (80 rpm).