

Sensibilidade 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, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, andrea.sg125@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja.

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 colônias foram extraídas 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 filtração 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 estatisticamente 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 tebuconazole foram obtidos em junho de 1993 (Nr147), janeiro de 1996 (Nr150 e Nr151) e finalmente o isolado Nr 156 foi obtido em dezembro de 1988.

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 ⁽¹⁾			
	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

⁽¹⁾Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

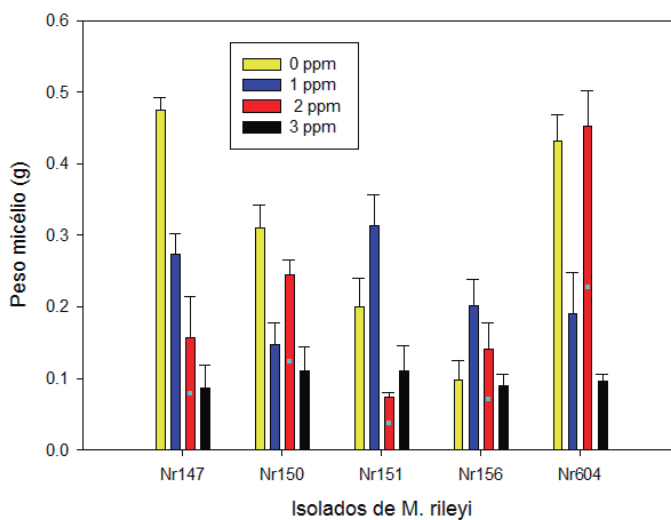


Figura 1. Massa média de micélio de isolados de *Metarhizium rileyi* expostos ao fungicida tebuconazol durante 10 dias em agitação contínua (80rpm).

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. 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.