

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

COMPATIBILIDADE *in vitro* ENTRE *Beauveria bassiana* E TIAMETOXAM

Marina Alves Carvalho, Laura Vaillant Ribeiro Mauri, Gabriel Medeiros Coutinho, Érika de Windson Ivo Santana, Hugo José Gonçalves dos Santos Junior.

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Departamento de Agronomia, Alto Universitário, 29500-000, Alegre-ES, Brasil, marinacarvalho9145@gmail.com, vaillant.lr@gmail.com, gabriel.medeiros2@gmail.com, erikawindson@gmail.com, hugo.goncalves@ufes.br.

Resumo

O estudo analisou a compatibilidade *in vitro* de diferentes isolados do fungo *Beauveria bassiana*, um ascomiceto entomopatogênico, com o inseticida tiametoxam tendo o intuito de avaliar como este pode influenciar na germinação, crescimento micelial e produção de conídios, ou seja, sua compatibilidade, através do contato de cinco isolados do fungo com a concentração de campo do princípio ativo. Foi observado que o inseticida é compatível apenas com um dos isolados estudados, tal resultado é condizente com as informações já existentes sobre esta relação, que intitulam o tiametoxam como tóxico à *B. bassiana*, no entanto o resultado para cada variável não foi exatamente o esperado quando esses são colocados em comparação, dando a entender a necessidade de maiores estudos sobre como a localidade de origem de cada isolado pode influenciar na sua reação a princípios ativos.

Palavras-chave: *Beauveria bassiana*. Compatibilidade *in vitro*. tiametoxam.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma – Agronomia

Introdução

O fungo *Beauveria bassiana* é um ascomiceto entomopatógeno encontrado em várias regiões do planeta e capaz de infectar mais de 700 espécies de artrópodes considerando os insetos e ácaros-praga, ou seja, prejudiciais às plantas cultivadas e animais domésticos, os formulados à base de fungos entomopatogênicos são amplamente utilizados visando ao manejo dessas espécies, pois são seguros ao homem e ambiente. Além disso, alguns formulados são compatíveis com outros agrotóxicos, facilitando assim a sua utilização pelos produtores, pois podem ser manejados nos mesmos equipamentos disponíveis para aplicação do controle químico (DE FARIA; WRIGHT, 2007).

Apesar disso, a busca por isolados mais virulentos e consequentemente compatíveis as moléculas químicas torna-se necessário, pois a compatibilidade dos bioinseticidas entomopatogênicos com outros produtos utilizados no manejo de insetos e ácaros-praga é extremamente essencial para a produção sustentável dos alimentos.

Mediante o exposto, essa pesquisa avaliou a compatibilidade *in vitro* entre o fungo *B. bassiana* e o inseticida tiametoxam levando em consideração variáveis vegetativas e reprodutivas em diferentes isolados de *B. Bassiana*.

Metodologia

O bioensaio foi realizado no Laboratório de Controle Microbiano de Insetos (LCMI) do NUDEMAFI (Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico de Manejo Fitossanitário) localizado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo.

Foram utilizados cinco isolados de *B. bassiana* (UFES-Bb 09, UFES-Bb 04, UFES-Bb 05, UFES-Bb 15, UFES-Bb 26) do LCMI, onde são armazenados em óleo mineral a temperatura de 4 °C.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Para a realização dos bioensaios, primeiramente, os isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura a base de batata-dextrose-ágar e acondicionados em câmaras climáticas a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e umidade relativa de $50 \pm 10\%$ por 14 dias. Após esse período foi preparada suspensão de conídios com água e Tween 0,05% na concentração de 1×10^7 conídios/mL, sendo que 5 mL dessa suspensão foi misturada com 50 g de arroz branco, previamente autoclavado, dentro de Erlenmeyer de 250 mL (JIRAKKAKUL *et al.* 2018). Os Erlenmeyers foram acondicionados nas mesmas condições ambientais relatadas acima por 14 dias. A segunda repicagem em arroz foi realizada para utilizar o mesmo substrato da produção comercial desse fungo, utilizando, portanto, esse inóculo para realização do bioensaio.

Para avaliar a interação *in vitro* entre os isolados de *B. bassiana* e o inseticida tiametoxam foi realizada metodologia proposta por Khun *et al.* (2021) e Mejía *et al.* (2022) com modificações onde um Erlenmeyer de 125 mL foram adicionados 4 mL de suspensão na concentração de 2×10^7 conídios/mL com 4 mL da solução inseticida na concentração de 200 % da dose de campo recomendada. Dessa forma a concentração final foi de 1×10^7 conídios/mL e 100% da dose de campo. A mistura foi mantida em agitação por 2h a 120 rpm e $25 \pm 1^\circ\text{C}$. A dose de campo foi determinada de acordo com a bula do inseticida para o controle de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: aleyrodidae) na cultura do feijoeiro. O tratamento controle consistiu em misturar 4 mL de suspensão na concentração de 2×10^7 conídios/mL com 4 mL de água destilada e Tween 0,05%.

Para avaliar a germinação dos conídios uma alíquota de 100 μL foi pipetada sobre 10 mL de ágar-água 2% em placa de Petri (6 cm de diâmetro) e espalhado com alça de Drigalski. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climática a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 h e umidade $50 \pm 10\%$. A proporção de conídios germinados foi avaliada após 16h da inoculação. Para cada tratamento foram realizadas 4 repetições.

Para avaliação do efeito do tiametoxam sobre o crescimento micelial dos isolados, uma alíquota de 10 μL foi pipetada sobre 10 mL de meio de cultura BDA em placa de Petri (6 cm de diâmetro). Após secagem da gota, as placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climática a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 h e umidade $50 \pm 10\%$. O diâmetro das colônias foi mensurado após 15 dias de desenvolvimento. Para cada tratamento foram realizadas 4 repetições.

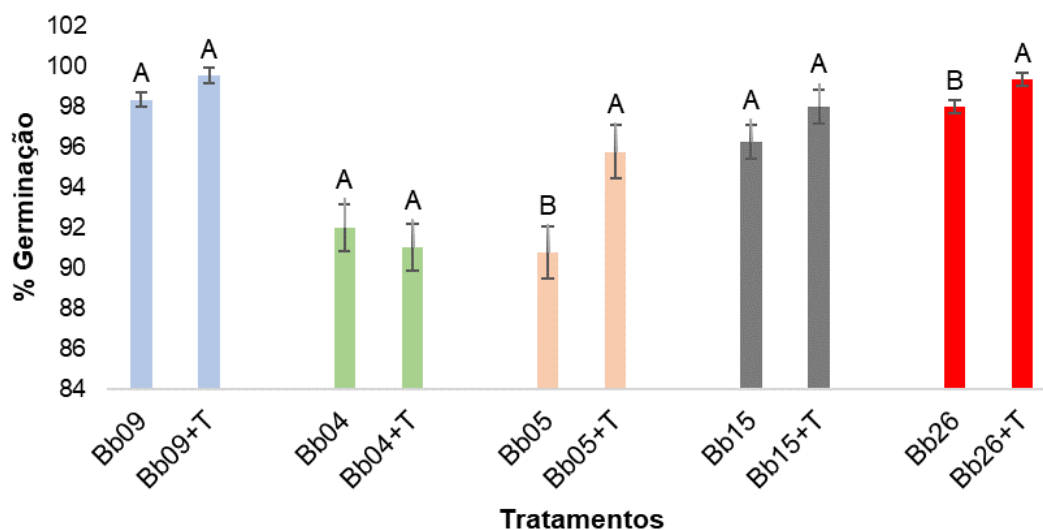
A determinação da produção de conídios foi realizada com as colônias de 15 dias de desenvolvimento. Cada colônia foi coletada e depositada em tubos de Falcon® com 10 mL de água-destillada e Tween® 0,05 % e agitadas por 1 min em Vortex®. Depois desse processo as suspensões foram filtradas através de gase de algodão e a quantificação de conídios foi realizada em câmara de Neubauer®. Os dados foram analisados por meio do programa Sisvar, pelo qual se procedeu a análise de variância e teste de médias (Tukey a 0,05% de probabilidade).

Resultados

A germinação de conídios dos isolados Bb09 ($p= 0,0679$), Bb04 ($p= 0,5628$) e Bb15 ($p= 0,1891$) não foi prejudicada pelo contato com o tiametoxam, contudo, para os isolados Bb05 ($p= 0,0361$) e Bb26 ($p= 0,0324$) a presença da molécula proporcionou o aumento da porcentagem de germinação de conídios em relação ao controle (Figura 1).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

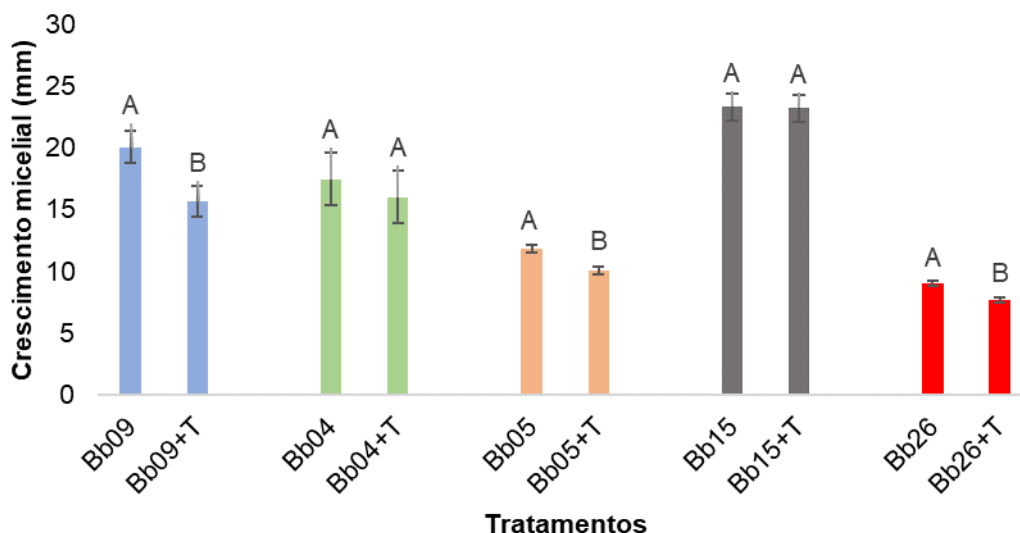
Figura 1: Efeito do tiametoxam sobre a porcentagem de germinação dos isolados Bb09, Bb04, Bb05, Bb15, Bb26 após 16h a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e umidade relativa de $50 \pm 10\%$.



Fonte: o autor.

Ao avaliar o crescimento micelial dos isolados com e sem presença do tiametoxam (Figura 2) percebe-se que a molécula inseticida não interferiu no crescimento micelial dos isolados Bb04 ($p=0,6470$) e Bb15 ($p=0,9362$), no entanto, interferiu negativamente nos isolados Bb09 ($p=0,0496$), Bb05 ($p=0,0110$) e Bb26 ($p=0,0067$), os quais apresentaram diâmetro de colônia inferior ao controle.

Figura 2: Efeito do tiametoxam sobre o crescimento micelial dos isolados Bb09, Bb04, Bb05, Bb15, Bb26 após 15 dias a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e umidade relativa de $50 \pm 10\%$.

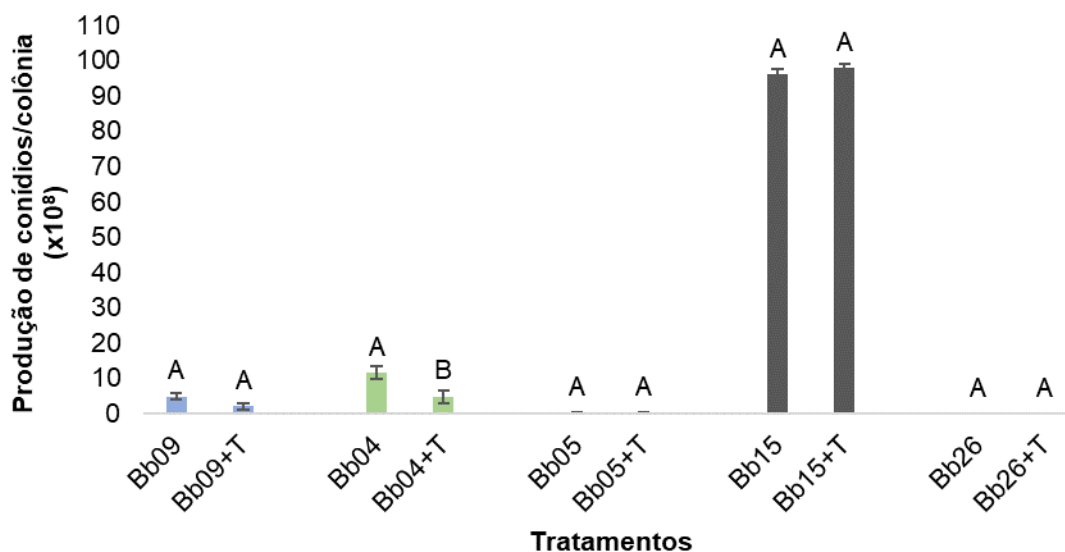


Fonte: o autor.

A presença do tiametoxam não interferiu na produção de conídios dos isolados Bb09 ($p=0,0832$), Bb05 ($p=0,2712$), Bb15 ($p=0,2596$) e Bb26 ($p=0,3246$), contudo, interferiu negativamente a produção de conídios do isolado Bb04 ($p=0,0391$) (Figura: 3)

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Figura 3: Efeito do tiametoxam sobre a produção de conídios dos isolados Bb09, Bb04, Bb05, Bb15, Bb26 após 15 dias a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h e umidade relativa de $50 \pm 10\%$.



Fonte: o autor.

Discussão

Ao se fazer uma análise comparativa entre os resultados obtidos pela pesquisa de Oliveira *et al.* (2003), que apresenta o inseticida como um inibidor da germinação da *B. bassiana*, e os dados encontrados aqui, em relação a germinação dos conídios, é possível ver uma discordância já que para os isolados Bb09, Bb04 e Bb15 o contato com o tiametoxam não inibiu a germinação e para os isolados Bb05 e Bb26 incrementou sua porcentagem. Como não foram utilizados os mesmos isolados de *B. bassiana* e estes podem desenvolver naturalmente, no decorrer de gerações, variações genéticas dependendo de sua origem, mesmo ainda sendo da mesma espécie de fungo (CARLILE *et al.* 2001), é provável que essa seja uma possível explicação para a variação de resultados entre as pesquisas.

Com relação ao crescimento micelial foram apresentados resultados contrastantes entre os isolados já que para Bb04 e Bb15 a presença ou ausência da molécula inseticida não interferiu no resultado, assim como o encontrado nos trabalhos de Soares (2011) e Batista Filho *et al.* (2001), entretanto, para Bb09, Bb05 e Bb26 o crescimento foi impactado em uma redução de um ou mais milímetros de diâmetro em relação ao tamanho do controle. Tal efeito pode também ser explicado pela mesma teoria de que origens diferentes de isolados podem afetar sua resistência ou sensibilidade a certos fatores (CARLILE *et al.* 2001).

A produção de conídios de quatro dos cinco isolados não foi interferida pela presença do tiametoxam, sendo o exemplar Bb04 o único a sofrer danos à sua produção. Em um estudo semelhante desenvolvido por Fregonesi *et al.* (2016), no entanto, os resultados encontrados foram proporcionalmente inversos, onde a maioria dos isolados sofria significativo impacto em sua produção de conídios fazendo o composto de princípio ativo igual ao estudado aqui, ser considerado tóxico aos isolados tendo apenas um que não sofreu interferência.

Conclusão

Levando em consideração o exposto e analisando as três variáveis em conjunto conclui-se que o princípio ativo tiametoxan foi compatível apenas com o isolado Bb15 já que não afeta sua germinação, crescimento ou produção de conídios. Porém, para os outros quatro isolados, pelo menos uma das três variáveis analisadas foi afetada pela molécula inseticida, fazendo assim que ele seja considerado tóxico aos isolados Bb09, Bb04, Bb05 e Bb26, logo a sua utilização em associação com o entomopatógeno não é recomendada. Verifica-se também que os resultados de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

compatibilidade não podem ser generalizados para um conjunto de isolados e que avaliar apenas uma variável não é suficiente para definir se uma molécula é tóxica ou não para um fungo entomopatogênico.

Referências

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001.

CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C.; GOODAY, G.W. **The Fungi**. 2th. ed. London: Academic Press, p. 578, 2001.

DE FARIA, M.R.; WRIGHT, S.P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types **Biological Control**, v. 43, p. 237-256, 2007.

FREGONESI, A. F.; MOCHI, D. A.; MONTEIRO, A. C. Compatibilidade de isolados de *Beauveria bassiana* a inseticidas, herbicidas e maturadores em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

JIRAKKAKUL, J.; *et al*, Culture degeneration in conidia of *Beauveria bassiana* and virulence determinants by proteomics. **Fungal Biology**, v. 122, p. 156-171, 2018.

KHUN, Kim Khuy *et al*. Interactions of fungal entomopathogens with synthetic insecticides for the control of *Kuscheliorhynchus macadamiae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 145, n. 6, p. 553-566, 2021.

MEJÍA, C.; ESPINEL, C. In vitro versus in planta: Comparing the compatibility of *Akanthomyces lecanii* with pesticides against *Trialeurodes vaporariorum*. **Journal of Applied Entomology**, 2022.

OLIVEIRA, C.N de.; NEVES, P.M.O.J; KAWAZOE, L.S. Compatibilidade entre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* e inseticidas utilizados em cafezais. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 4, p. 663-667, 2003. Disponível em:
<https://doi.org/10.1590/S0103-90162003000400009>. Acesso em: 17 ago. 2023.

SOARES, F.B. **Impacto de fungicidas e inseticidas na densidade populacional de *Beauveria bassiana* no solo sob efeito da microbiota nativa**. 2011. Disponível em:
https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94876/soares_fb_me_jabo.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 17 ago. 2023.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.