

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Regina Sonete Stacke

**MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO
PERCEVEJO *Euschistus heros* E COMPATIBILIDADE COM
INSETICIDAS QUÍMICOS E ADJUVANTES**

Santa Maria, RS
2021

Regina Sonete Stacke

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO PERCEVEJO *Euschistus heros* E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS QUÍMICOS E ADJUVANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestra em Agronomia**.

Orientador: Dr. Jerson Vanderlei Carús Guedes

Santa Maria, RS
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Stacke, Regina Sonete
MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO
PERCEVEJO *Euschistus heros* E COMPATIBILIDADE COM
INSETICIDAS QUÍMICOS E ADJUVANTES / Regina Sonete
Stacke.- 2021.
39 p.; 30 cm

Orientador: Jerson Vanderlei Carús Guedes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2021

1. Controle biológico 2. Percevejo-marrom 3. Fungo
entomopatogênico 4. *Beauveria bassiana* I. Carús Guedes,
Jerson Vanderlei II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, REGINA SONETE STACKE, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Regina Sonete Stacke

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO PERCEVEJO *Euschistus heros* E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS QUÍMICOS E ADJUVANTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestra em Agronomia**.

Aprovado em 27 de agosto de 2021:

Jerson Vanderlei Carús Guedes, Dr (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Rodrigo Josemar Seminoti Jacques, Dr (UFSM)

Cristiane Bianchi Loureiro dos Reis, Dr (AGRUM)

Santa Maria, RS
2021

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Ivanete e Regio,
e meus irmãos, Gilliard e Regis,
Dedico esse trabalho*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me iluminar nesse período.

Aos meus pais Ivanete Batista e Regio Stacke, agradeço por todos os esforços e sacrifícios para me proporcionarem a melhor educação possível e pelo apoio e incentivo durante todos esses anos. Agradeço por todo o amor, compreensão, ensinamentos, conselhos e por todas as orações. Sem vocês nada seria possível.

Ao meu irmão Regis Felipe Stacke, agradeço por todos os conselhos, por todo o apoio, pela paciência e incentivo. Tu é um dos meus pilares e exemplos de formação pessoal e profissional.

Ao meu irmão Gilliard Brair Stacke, minha cunhada Elene Paiva e às minhas sobrinhas agradeço por todo carinho e apoio durante esses anos.

Ao Maiquel Pizzuti Pes agradeço pelo companheirismo, pela ajuda e troca de experiências, por me escutar e me incentivar sempre que eu precisei.

À minha amiga Rosana Marzari Thomasi agradeço por toda ajuda durante esse período, principalmente na análise dos dados. Obrigada por todos os anos de amizade, parceria, apoio e troca de conhecimento.

À minha cunhada Mariana Ferneda Dossin, agradeço pelo apoio, incentivo e carinho.

Ao meu orientador Jerson Vanderlei Carús Guedes, agradeço pela orientação durante os sete anos em que fiz parte do LabMIP, pelos ensinamentos e oportunidades de crescimento pessoal e profissional durante este período.

Agradeço ao professor Rodrigo Josemar Seminoti Jacques por ter me recebido no Laboratório de Biologia do Solo e por toda a ajuda, apoio e incentivo na condução dos ensaios.

Aos estudantes de Iniciação Científica Gabriella Massoli, Verlaine Selli, Eduardo Brum, Laís Cherobini, Carolina Gonçalves, Wanessa Vasconcelos, Igor Schardong, William Daltrozo e Mateus Ceolin agradeço por todo o auxílio durante a condução dos ensaios e na criação dos insetos em laboratório.

Aos integrantes do Laboratório de Biologia do Solo Tiana Friedrich, Bruno Piovesan, Nariane de Andrade, Isac Castro, Leonardo Arrocha, Valéria Portela, Izabelle Romagna, Lucas Somavilla, Monica Dickow, Joice Freiberg e Lisiane Sobucki agradeço por terem me recebido tão bem no laboratório, pelos ensinamentos e trocas

de experiências, auxílio nas atividades e por todas as conversas e momentos de distração.

Aos meus colegas de laboratório e pós-graduação Leticia Puntel, Natalie Feltrin, Cristiane dos Reis, Lucas Drebes, Ricardo Froelich, Thiago Strahl, Tiago Giacomeli, Tiago Colpo, Lucas Cavallin e Eduardo Curioletti, agradeço por toda a troca de conhecimento, colaboração e convívio durante esse período. Agradeço também ao Gustavo Ugalde por toda ajuda durante o dia a dia do laboratório.

Aos amigos Helena Oliveira, Mayara Fornari, Tiarles dos Santos, Iranã Cassol, Luiza Saydelles, Luana Maria Arruda e Thiele Piber, agradeço por toda a parceria e amizade nesses 10 anos.

Às amigas Nariane de Andrade, Amanda Krug, Andrielle Magrini, agradeço por todo o apoio, parceria e amizade nos últimos sete anos.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) agradeço pela oportunidade de estudar em uma das melhores instituições do país durante os últimos 10 anos.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

RESUMO

O percevejo-marrom, *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), é a principal praga da cultura da soja. Seu controle é realizado principalmente com inseticidas químicos, mas no último ano produtos à base de fungos entomopatogênicos foram registrados para o manejo dessa praga. Porém, a expansão do controle biológico desta praga demanda ainda muitos estudos. O objetivo desse trabalho foi avaliar métodos de inoculação de dois isolados de *Beauveria bassiana* (UFSM 1 e UFSM 2) no percevejo *E. heros* e avaliar a compatibilidade de um dos isolados (UFSM 1) com diferentes inseticidas e adjuvantes utilizados para seu controle. As suspensões com 1×10^1 , 1×10^3 , 1×10^5 , 1×10^7 e 1×10^9 conídios mL⁻¹ dos isolados UFSM 1 e UFSM 2 foram aplicadas nos insetos por métodos de contato dorsal, contato tarsal e imersão. A compatibilidade dos produtos com o isolado UFSM 1 foi calculada com base no crescimento vegetativo e na produção de conídios. As maiores mortalidades ocorreram na maior concentração, que foram para o isolado UFSM 1 de 91%, 66% e 58% para os métodos de imersão, contato dorsal e contato tarsal, respectivamente. Para o isolado UFSM 2, esta mortalidade foi de 93%, 71% e 66%, respectivamente. Os produtos Extremo[®], IOP[®], Spray Oil[®], Engeo Pleno S[®], Connect[®] e Fastac Duo[®] foram considerados compatíveis com o isolado UFSM 1, enquanto que os produtos TA35 Gold[®] e Veget'Oil[®] foram considerados tóxicos e moderadamente tóxico, respectivamente. Os métodos de inoculação por contato dorsal e contato tarsal apresentaram eficiência semelhante em causar morte do *E. heros*. O isolado UFSM 1 apresenta compatibilidade com seis dos oito agroquímicos avaliados.

Palavras-chaves: Percevejo-marrom. Fungo entomopatogênico. Controle biológico.

ABSTRACT

The brown stink bug, *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), is the main pest of the soybean crop. Its control is carried out mainly with chemical insecticides, but in the last year products based on entomopathogenic fungi were registered for the management of this pest. However, the expansion of biological control of this pest still requires many studies. The objective of this work was to evaluate methods of inoculation of two isolates of *Beauveria bassiana* (UFSM 1 and UFSM 2) on the stink bug *E. heros* and to evaluate the compatibility of one of the isolate (UFSM 1) with different insecticides and adjuvants used for its control. Suspensions with 1×10^1 , 1×10^3 , 1×10^5 , 1×10^7 e 1×10^9 conidia mL⁻¹ of which UFSM 1 and UFSM 2 were applied to insects by dorsal contact, tarsal contact and immersion methods. The compatibility of the products with the UFSM 1 isolate was obtained based on vegetative growth and conidia production. The highest mortalities occurred in the highest concentration, which were for the UFSM 1 isolate of 91%, 66% and 58% for the immersion, dorsal contact and tarsal contact methods, respectively. For the UFSM 2 isolate, this mortality was 93%, 71% and 66%, respectively. The products Extremo®, IOP®, Spray Oil®, Engeo Pleno S®, Connect® and Fastac Duo® were considered compatible with the isolate UFSM 1, while the TA35 Gold® and Veget'Oil® products were considered toxic and moderately toxic, respectively. Dorsal contact and tarsal contact inoculation methods were similar in causing death of *E. heros*. UFSM 1 is compatible with six of the eight agrochemicals tested.

Key-words: Brown stink bug. Entomopathogenic fungi. Biological control.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Informações técnicas, doses e volumes de adjuvantes e inseticidas químicos adicionados ao meio de cultura para o teste de compatibilidade com o isolado de <i>Beauveria bassiana</i> UFSM 1.....	27
Tabela 2 - Mortalidade corrigida (%) de adultos de <i>Euschistus heros</i> 12 dias após a inoculação de dois isolados de <i>Beauveria bassiana</i> pelos métodos de imersão, contato dorsal e contato tarsal em diferentes concentrações de conídios.	29
Tabela 3 - Estimativa do tempo letal dias até a mortalidade de 50% (TL50) de <i>Euschistus heros</i> inoculados por três métodos com diferentes concentrações de conídios dos isolados de <i>Beauveria bassiana</i> UFSM 1 e UFSM 2.	32
Tabela 4 - Crescimento vegetativo, produção de conídios, valor de “T” e classificação da toxicidade de adjuvantes e inseticidas químicos em teste de compatibilidade com o isolado de <i>Beauveria bassiana</i> UFSM 1.	33

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mortalidade corrigida (%) de adultos de <i>Euschistus heros</i> , 12 dias após a inoculação, dentro dos métodos de inoculação em consequência das diferentes concentrações dos isolados de <i>Beauveria bassiana</i>	31
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO	13
2.1 ASPECTOS BIOECOLÓGICOS E DANOS DO PERCEVEJO <i>E. heros</i>	13
2.2 MÉTODOS DE CONTROLE DO <i>E. heros</i>	14
2.3 MERCADO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS	15
2.4 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS	16
2.4.1 <i>Beauveria bassiana</i>	17
3 REFERÊNCIAS	19
4 ARTIGO	23
4.1 INTRODUÇÃO.....	24
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.2.1 Percevejos.....	25
4.2.2 Fungo entomopatogênico.....	25
4.2.3 Teste de inoculação	26
4.2.4 Teste de compatibilidade	27
4.3 RESULTADOS	29
4.4 DISCUSSÃO.....	34
4.5 CONCLUSÕES.....	36
4.6 REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja é uma das *commodities* mais cultivada no Brasil. Na safra 2020/2021 a área cultivada abrangeu 38,47 milhões de hectares, gerando uma produção total estimada em 135,54 milhões de toneladas (CONAB, 2021). Entretanto, a produtividade da soja pode ser afetada negativamente por diversos fatores, e dentre os insetos-praga destacam-se os percevejos.

O percevejo *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) é a espécie-praga mais importante que ataca a soja brasileira (SOSA-GÓMEZ et al., 2020). É bem adaptado a locais de climas mais quentes, sendo abundante no Centro-Oeste (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999; DEGRANDE; VIVAN, 2012), norte do Paraná (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999) e em regiões onde antigamente sua presença era rara, como no Rio Grande do Sul (PEREIRA; SALVADORI, 2008). Por se alimentarem diretamente do grão, os percevejos podem causar sérios problemas à soja (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999).

O controle deste inseto é realizado principalmente com o uso de inseticidas químicos, o que pode causar a seleção de populações tolerantes, levando a falhas de controle (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018) e a evolução da resistência (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010). A dependência tecnológica e os problemas resultantes do uso de inseticidas químicos estimularam a busca por alternativas mais sustentáveis para controle das pragas agrícolas, como o controle biológico. Para o percevejo *E. heros*, há a alternativa de liberação de parasitoides como *Telenomus podisi* Ashmead e *Trissolcus basalís* Wollaston (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999). Desde 2020 diversos produtos biológicos foram registrados para o controle do percevejo, a maioria a base de fungos entomopatogênicos (AGROFIT, 2021a).

Dentre os fungos entomopatogênicos estudados, o *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin 1912 é o mais utilizado no mundo para o controle de diversos artrópodes (ARTHURS; DARA, 2019). Para incrementar as estratégias de controle de *E. heros* dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas é importante entender como o percevejo se contamina pelo fungo entomopatogênico e se há compatibilidade biológica com inseticidas químicos e adjuvantes utilizados na cultura da soja.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 ASPECTOS BIOECOLÓGICOS E DANOS DO PERCEVEJO *E. heros*

O percevejo *E. heros*, assim como as demais espécies de pentatomídeos, passa por diferentes fases durante seu desenvolvimento. Os ovos de *E. heros* apresentam coloração bege a amarelada e são depositados em massas de seis a 15 ovos, normalmente em fileiras duplas ou triplas (DEGRANDE; VIVAN, 2012). Essa fase dura entre 6,8 dias (VILLAS BÔAS; PANIZZI, 1980) a 7,1 dias (COSTA et al., 1998).

Quando eclodem as ninfas apresentam os bordos do corpo serrados e coloração marrom suave, podendo às vezes, ser esverdeadas, amareladas, castanhas ou acinzentadas (GALLO et al., 2002; DEGRANDE; VIVAN, 2012). A fase ninfal é dividida em cinco ínstaes e sua duração é dependente das condições de temperatura, fotoperíodo e umidade relativa do ar, podendo variar de 17,25 a 31,47 dias (BORTOLOTTO et al., 2012). O comportamento ninfal varia de acordo com cada instar. Quando recém eclodidas, as ninfas possuem hábito gregário, permanecendo unidas e sem causar danos à cultura. No segundo instar se movimentam em busca de abrigo e a partir do terceiro instar começam a se alimentar e causar danos à cultura (COSTA et al., 1998; DEGRANDE; VIVAN, 2012).

Quando adultos apresentam em média 13 mm de comprimento, coloração marrom escura e dois prolongamentos laterais no protórax e uma mancha branca em forma de “meia-lua” no final do escutelo (DEGRANDE; VIVAN, 2012). A diferenciação dos sexos pode ser feita com a visualização do último segmento abdominal (BORGES et al., 2006). Em relação à longevidade, os machos podem variar de 46,5 dias (COSTA et al., 1998) a 119,9 dias (VILLAS BÔAS; PANIZZI, 1980), e as fêmeas de 52,1 a 82,5 dias (COSTA et al., 1998).

Os percevejos apresentam como comportamento buscar locais mais frescos nos períodos mais quentes dos dias, sendo encontrados com maior frequência na parte mediana ou no baixeiro da planta, o que pode fazer com que sua presença passe despercebida nas lavouras (CORRÊA-FERREIRA; SOSA-GOMEZ, 2017). O percevejo-marrom é o menos polífago dentre as espécies de percevejos que atacam a cultura da soja (DEGRANDE; VIVAN, 2012), mas é a espécie mais abundante (PANIZZI, 2015; PANIZZI; OLIVEIRA, 1998) nessa cultura, assim como em outras

culturas no Brasil (PANIZZI, 2015). Sua presença foi registrada em lavouras de algodão do Centro-Oeste do Brasil (SORIA et al., 2010), em lavouras de milho semeadas após a colheita da soja (CORRÊA-FERREIRA; SOSA-GOMEZ, 2017), em girassol (FROTA; SANTOS, 2007; MALAGUIDO; PANIZZI, 1998) e na cultura da canola (MARSARO JUNIOR et al., 2017).

A colonização do percevejo na cultura da soja ocorre ainda no período vegetativo, apresentando crescimento da população de percevejos no estágio reprodutivo, aumentando seu nível populacional de forma acelerada no período de enchimento de grãos (CORRÊA-FERREIRA; SOSA-GOMEZ, 2017). O dano é causado devido a inserção do aparelho bucal sugador, nas diferentes partes das estruturas reprodutivas da soja (CORRÊA-FERREIRA, 2005; DEPIERI; PANIZZI, 2011; SILVA et al., 2012). Se o ataque acontece durante o desenvolvimento precoce das vagens, ocorre o aborto das mesmas (SOSA-GÓMEZ et al., 2020). Se a alimentação ocorre durante o preenchimento da vagem, são obtidas sementes murchas e deformadas. Já se o ataque ocorre durante a maturação das sementes, os danos são amenos (PANIZZI; SLANSKY Jr., 1985). Os percevejos também são responsáveis por danos indiretos, como maturação foliar tardia, retenção foliar e transmissão de microrganismos (PANIZZI et al., 1979; PANIZZI; SLANSKY Jr., 1985; SOSA-GÓMEZ; MOSCARDI, 1995).

2.2 MÉTODOS DE CONTROLE DO *E. heros*

Entre os métodos de controle atualmente disponíveis, o controle químico é o mais utilizado (BUENO et al., 2013). Os inseticidas registrados para essa espécie pertencem aos grupos dos piretroides, organofosforados, neonicotinoides, sulfoxaminas, carbamato e fenilpirazol, sendo que entre eles, os produtos à base de piretroides e neonicotinoides são os mais numerosos (AGROFIT, 2021b). Muitas vezes esses inseticidas são utilizados de forma inadequada, com a aplicação de forma preventiva (sem considerar nível de dano econômico) junto com herbicidas e fungicidas (CORRÊA-FERREIRA; KRZYZANOWSKI; MINAMI, 2009) e com o uso frequente de produtos com modo de ação semelhante, em uma mesma safra (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012). Isso tem beneficiado a evolução da resistência de percevejos a inseticidas em locais do Paraná (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010) e de São Paulo (SOSA-GÓMEZ et al., 2001), assim como

levado a falhas de controle em Goiás (GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018), acarretando no aumento do número de aplicações e no custo de controle (CORRÊA-FERREIRA; KRZYZANOWSKI; MINAMI, 2009).

Outra forma de controle utilizada é a liberação de parasitoides como *Telenomus podisi* Ashmead e *Trissolcus basalis* Wollaston (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999). Esses parasitoides são considerados os mais eficientes (CORRÊA-FERREIRA; MOSCARDI, 1995) e apesar de parasitarem ovos de diversos percevejos, o *T. podisi* prefere ovos de *E. heros*, enquanto o *T. basalis* prefere ovos de *Nezara viridula* (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999).

A busca por uma maior eficiência de controle aliada às preocupações ambientais levou a busca por produtos alternativos. Diversos produtos biológicos foram registrados para o controle do percevejo *E. heros* no último ano no Brasil, entre eles macrobiológicos (*Telenomus podisi*) e microbiológicos (bactéria e fungos entomopatogênicos). Os fungos entomopatogênicos representam aproximadamente 80% desses produtos (AGROFIT, 2021a).

2.3 MERCADO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS

O controle biológico vem crescendo no mundo e também no Brasil. Em 2020, o Brasil foi líder na adoção de produtos biológicos na América Latina, com um crescimento de 30%, superior à média global de 14,4% (CROPLIFE BRASIL, 2021). A estimativa é que o aumento continue acelerado, com o mercado de controle biológico crescendo cerca de 25% ao ano no Brasil, superando a expectativa do mercado global de 17% ao ano (ABCBio, 2019).

No ano de 2020, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) aprovou o registro de 95 produtos de baixo impacto (ingredientes ativos biológicos, microbiológicos, semioquímicos, bioquímicos, extratos vegetais e reguladores de crescimento), a maior quantidade de registros desse tipo de produto em um único ano (MAPA, 2021). Anterior a isso, em 2018 haviam sido aprovados 52 registros de baixo impacto, que era o maior número até então e representou um crescimento de 77% de 2018 em relação a 2017, movimentando R\$ 464,5 milhões (ABCBio, 2019). Entretanto um problema da agricultura brasileira são as grandes áreas de monocultura, o que dificulta o monitoramento e a liberação de agentes biológicos (PARRA, 2011).

2.4 FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

O controle biológico se divide em macrorganismos (parasitoides e predadores) e microrganismos (bactérias, vírus, fungos e nematoides entomopatogênicos). Os fungos entomopatogênicos são patógenos de largo espectro de ação, sendo capazes de atacar insetos fitófagos, aquáticos e pragas de solo, podendo causar epizootias naturais. Possuem grande versatilidade e podem infectar diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros, como ovos, larvas, pupas e adultos (ALVES, 1998). Apresentam ampla variabilidade genética intra e interespecífica, possibilitando a seleção de isolados com alta virulência para um grande espectro de hospedeiros e com adaptação às diferentes condições ambientais (NEVES; SANTORO, 2011).

Em condições controladas, os fungos entomopatogênicos podem apresentar excelente desempenho, com altos níveis de mortalidade dos insetos-alvo (ORTIZ-URQUIZA et al., 2015). Porém, em condições de campo, eles estão sujeitos aos fatores abióticos (luz ultravioleta, temperatura e umidade) que influenciam na estabilidade dos conídios, afetando a sobrevivência, germinação e esporulação (VEGA et al., 2012). Isto diminui sua ação patogênica quando utilizados em condições de campo (BUTT; COPPING, 2000).

A maioria dos fungos são especializados na penetração via tegumento dos insetos, o que traz vantagens para esse grupo, visto que os demais grupos de patógenos só entram no inseto por via oral (ALVES, 1998). Em geral, a ação dos fungos entomopatogênicos inicia-se pela adesão do esporo no tegumento e a germinação dos conídios sobre o mesmo (LECUONA et al., 1996) formando a estrutura de infecção, o apressório (ALVES, 1998; WANG C.; WANG S., 2017). Logo, ocorre a penetração na cutícula do inseto devido a um processo físico (pressão da hifa terminal) (ALVES, 1998) e químico (ação de enzimas como proteases, quitinases e lipases) (ALVES, 1998; WANG C.; WANG S., 2017).

A partir da penetração inicia a colonização do hospedeiro (ALVES, 1998), com a multiplicação do fungo na hemocele do inseto, a produção de toxinas (ocorre apenas em alguns fungos ou cepas) (LECUONA et al., 1996) e a privação de nutrientes, levando o inseto a morte (WANG C.; WANG S., 2017). No inseto morto, ocorre o crescimento do fungo, onde todos os tecidos são tomados por hifas (ALVES, 1998). Após isso, o micélio sai para o exterior atravessando o tegumento, esporula na

superfície do inseto e os propágulos são disseminados no ambiente (LECUONA et al., 1996).

As duas espécies de fungos entomopatogênicos mais empregadas em controle biológico no Brasil são *M. anisopliae* e *B. bassiana*, devido ao alto nível de virulência e a fácil produção em massa (ALVES, 1998). Atualmente, dos 113 produtos à base de fungos entomopatogênicos registrados no MAPA como inseticida microbiológico, 62 são a base do fungo *B. bassiana* e a maioria contêm a mesma cepa, a IBCB-66 (AGROFIT, 2021a).

O IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) em sua classificação dos modos de ação (MOA) dos inseticidas adicionou os fungos entomopatogênicos como pertencentes ao grupo UNF, por serem considerados agentes fúngicos de modo de ação desconhecido ou incerto, devido a proteína responsável pela atividade biológica ser desconhecida ou não caracterizada (SPARKS, C. et al., 2020).

2.4.1 *Beauveria bassiana*

Essa espécie de fungo foi a primeira a ser estudada por Agostino Bassi em 1834 (ALVES, 1998). Bassi encontrou-a como agente causal da doença “muscardine branca” no bicho-da-seda (*Bombyx mori* L.) (LECUONA et al., 1996). Foi verificado que esse fungo era capaz de colonizar diversos insetos em condições de laboratório. Em condições de campo pode ocorrer de forma enzoóticas e epizoóticas em coleópteros, lepidópteros e hemípteros, assim como de forma epizoóticas em dípteros, himenópteros e ortópteros (ALVES, 1998).

O *B. bassiana* é um dos agentes biológicos mais eficazes, sendo considerado um agente promissor para uso como inseticida biológico no controle de diversos insetos-praga (DANNON et al., 2020). Mas em condições de campo, as cepas desse fungo devem ser capazes de tolerar condições desfavoráveis, como luz ultravioleta e baixa umidade, e ter persistência na planta (SABBAHI et al., 2008), o que leva a uma dificuldade de formulação desses bioinseticidas, pela dificuldade de encontrar materiais compatíveis que auxiliem na estabilidade e mantenham a viabilidade dos conídios e a eficácia do isolado (DANNON et al., 2020).

Outros problemas são a ação de outros microrganismos competidores ou antagonistas e a incompatibilidade com produtos químicos utilizados no manejo fitossanitário, sendo necessário considerar esses fatores e manipulá-los se possível,

para possibilitar a conservação dos fungos na área, a ocorrência de epizootias e o aumento da eficiência (NEVES; SANTORO, 2011).

A infecção pelo fungo *B. bassiana* ocorre principalmente via tegumento, onde o fungo germina entre 12 a 18 horas. A penetração no tegumento ocorre devido a uma ação mecânica e enzimática. O inseto demonstra uma total colonização depois de 72 horas da inoculação, com o tecido gorduroso, tecido intestinal e outras estruturas atacadas. A morte ocorre devido à falta de nutrientes e ao acúmulo de substâncias tóxicas. Após a morte do inseto, o fungo sai pelas aberturas naturais e pode ser visualizada a esporulação de cor branco amarelada ou branco creme (ALVES, 1998).

3 REFERÊNCIAS

- ABCBio. Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico: 2019. Disponível em < <https://www.abcbio.org.br/blog/controle-biologico-no-brasil/> > Acesso em: 15 out. de 2019.
- AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários–Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. 2021a. Acesso em: 29/07/2021
- AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários–Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. 2021b. Acesso em: 13/07/2021
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Ed. Piracicaba, FEALQ. p. 289-382, 1998.
- ARTHURS, S.; DARA, S. K. Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.165, p. 13-21, 2019.
- BORGES, M. et al. Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera - Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos**, 2006.
- BORTOLOTTI, O. C. et al. Aspectos biológicos de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) e *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas: possíveis impactos do aquecimento global. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: WORKSHOP SOBRE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS, 2012, Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012.
- BUENO, A. F.; PAULA-MORAES, S. V.; GAZZONI, D. L.; POMARI, A. F. Economic thresholds in soybean-integrated pest management: old concepts, current adoption, and adequacy. **Neotropical entomology**, v. 42, n. 5, p. 439-447, 2013.
- BUTT, T. M.; COPPING, L. G. Fungal biological control agents. **Pesticide Outlook**, v. 11, p. 186-191, 2000.
- CONAB C.N de A. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.8– Safra 2020/21, n.7 - Sétimo levantamento, Brasília, p. 1-116, abril, 2021.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, p. 1067-1072, 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. A. Percevejos e a qualidade da semente de soja-série sementes. **Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 15p., 2009.

CORREA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological control**, v. 5, n. 2, p. 196-202, 1995.

CORREA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. Percevejos da soja e seu manejo. **Embrapa Soja-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 1999.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Percevejos e o sistema de produção soja-milho. **Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E)**, 2017.

COSTA, M. L. M.; BORGES, M.; VILELA, E. F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina. v. 27, p. 559-568, 1998.

CROPLIFE BRASIL, 2021. Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adoacao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros/>. Acesso em: 29/07/2021.

DANNON, H. F. et al. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**, v. 3, n. 1, p. 1-21, 2020.
DEGRANDE, P. E.; VIVAN, L. M. Pragas da Soja. In: **Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/2012**. Rondonópolis-MT: Fundação MT, p. 155-205, 2012.

DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical entomology**, v. 40, p. 197-203, 2011.

FROTA, R.T.; DOS SANTOS, R. S. S. Pentatomídeos associados a cultivos de girassol no Noroeste do estado do Rio Grande do Sul e ação de *Euschistus heros* (Fabricius, 1791) (Hemiptera: Pentatomidae) em aquênios. **Biotemas**, v. 20, n. 4, p. 65-71, 2007.

GALLO et al. **Entomologia Agrícola**. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 10. FEALQ, Piracicaba, SP. 920 p., 2002.

GUEDES, R. N. C. Insecticide resistance, control failure likelihood and the First Law of Geography. **Pest Management Science**, v. 73, n. 3, p. 479-484, 2017.

LECUONA, R. E.; PAPIEROK, B.; RIBA, G. Hongos entomopatógenos. In: LECUONA, R. E. **Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga**. p. 35-60, 1996.

MALAGUIDO, A. B.; PANIZZI, A. R. Danos de *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae) em aquênios de girassol. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 535-541, 1998.

MAPA. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Mapa registra recorde de 95 defensivos de controle biológico em 2020. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/Mapa-registra-recorde-de-95-defensivos-biologicos-em-2020>. Acesso em 29/07/2021

MARSARO JÚNIOR, A. L. et al. Percevejos (Heteroptera) fitófagos e predadores associados à cultura da canola no norte do estado do Rio Grande do Sul. **Embrapa Trigo-Documentos (INFOTECA-E)**, 2017.

NEVES, P. M. O. J.; SANTORO, P. H. Fungos entomopatogênicos. In: Controle Biológico de Pragas. Ciência&Ambiente/Universidade Federal de Santa Maria. n. 43. p. 121-132, 2011

ORTIZ-URQUIZA, A.; LUO, Z.; KEYHANI, N. O. Improving mycoinsecticides for insect biological control. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 3, p. 1057-1068, 2015.

PANIZZI, A. R. Growing problems with stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae): species invasive to the US and potential Neotropical invaders. **American Entomologist**, v. 61, n. 4, p. 223-233, 2015.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (ed.) Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Embrapa. 5, p. 335-420, 2012.

PANIZZI, A. R.; OLIVEIRA, E. D. M. Performance and seasonal abundance of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* nymphs and adults on a novel food plant (pigeonpea) and soybean. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 88, n. 2, p. 169-175, 1998.

PANIZZI, A. R.; SLANSKY Jr. F. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. **Florida Entomologist**. v. 68, p. 184-203, 1985.

PANIZZI, A.R.; SMITH, J.C.; PEREIRA, L.A.G.; YAMASHITA, J. Efeito de danos de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) no rendimento e qualidade da soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., 1978. Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, v. 2, p. 59-78, 1979.

PARRA, J. R. P. Controle biológico de pragas no Brasil. In: **Controle Biológico de Pragas**. Ciência&Ambiente/Universidade Federal de Santa Maria. n. 43. p. 7-18. 2011.

PEREIRA, P.R.V.S.; SALVADORI, J. R. Aspectos populacionais de percevejos fitófagos ocorrendo na cultura da soja (Hemiptera: Pentatomidae) em duas áreas do norte do Rio Grande do Sul. Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 2008.

SABBAHI, R.; MERZOUKI, A.; GUERTIN, C. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* L., in strawberries. **Journal of Applied Entomology**, v. 132, n. 2, p. 124-134, 2008.

SILVA, F. A. C.; SILVA, J. J.; DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Feeding activity, salivary amylase activity, and superficial damage to soybean seed by adult *Edessa*

meditabunda (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotrop. Entomol.** 41, 386–390, 2012.

SORIA, M. F.; DEGRANDE, P.E.; PANIZZI, A.R. Algodoeiro invadido. **Revista Cultivar.** v. 131, p. 18-20, 2010.

SOSA-GÓMEZ, D. R. et al. Prevalence, damage, management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 22, n. 2, p. 99-118, 2020.

SOSA-GOMEZ, D. R.; CORSO, I. C.; MORALES, L. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 317-320, 2001.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; MOSCARDI, F. Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, p. 401-404, 1995.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 767-769, 2010.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Eds.), **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**, Embrapa, Brasília, Brasil, p. 673-723, 2012.

SPARKS, T. C. et al. Insecticides, biologics and nematicides: Updates to IRAC's mode of action classification-a tool for resistance management. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 167, p. 104587, 2020.

TUELHER, E. S. et al. Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 2, p. 849-859, 2018.

VEGA, F. E. et al. Fungal entomopathogens. **Insect pathology**, p. 171-220, 2012.

VILLAS BÔAS, G. L.; PANIZZI, A. R. Biologia de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **An. Soc. Entomol. Brasil**, v. 9, n. 1, p. 105-113, 1980.

WANG, C.; WANG, S. Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements. **Annual review of entomology**, v. 62, p. 73-90, 2017.

4 ARTIGO

MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Beauveria bassiana* NO PERCEVEJO *Euschistus heros* E COMPATIBILIDADE COM AGROQUÍMICOS

INOCULATION METHODS OF *Beauveria bassiana* ON THE STINK BUG *Euschistus heros* AND COMPATIBILITY WITH AGROCHEMICALS

RESUMO

O percevejo-marrom *Euschistus heros* é atualmente o principal inseto-praga da cultura da soja no Brasil e pode ser controlado por fungos entomopatogênicos. O desenvolvimento de produtos biológicos com estes fungos disponibiliza novas ferramentas para o manejo integrado de pragas. No presente estudo foram avaliados três métodos de inoculação de dois isolados de *Beauveria bassiana* (UFSM 1 e UFSM 2) no *E. heros* e a compatibilidade de um dos isolados (UFSM 1) a adjuvantes e inseticidas químicos. Suspensões com concentrações de 1×10^1 , 1×10^3 , 1×10^5 , 1×10^7 e 1×10^9 conídios mL^{-1} dos isolados UFSM 1 e UFSM 2 foram aplicadas nos insetos por métodos de contato dorsal, contato tarsal e imersão. A compatibilidade do isolado UFSM 1 com adjuvantes e inseticidas químicos foi calculada com base no crescimento vegetativo dos fungos e na produção de conídios. O isolado UFSM 1 causou mortalidade dos insetos na maior concentração de 91%, 66% e 58% para os métodos de imersão, contato dorsal e contato tarsal, respectivamente. Já para o isolado UFSM 2, a mortalidade foi de 93%, 71% e 66%, respectivamente. Os produtos comerciais Extremo[®], IOP[®], Spray Oil[®], Engeo Pleno S[®], Connect[®] e Fastac Duo[®] foram considerados compatíveis com o isolado UFSM 1, enquanto os produtos TA35 Gold[®] e Veget'Oil[®] foram considerados tóxico e moderadamente tóxico, respectivamente. Os métodos de inoculação por contato dorsal e contato tarsal apresentaram eficiência semelhante em causar morte do *E. heros*. O isolado UFSM 1 apresentou compatibilidade com seis dos oito agroquímicos avaliados.

4.1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios para manter e elevar a produtividade da soja no Brasil é o manejo de percevejos, por estes atacarem diretamente o produto final (grãos ou sementes) (PANIZZI et al., 2012). O percevejo *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) (Fabricius, 1794) é a espécie de maior representatividade desse grupo de pragas (SILVA et al., 2012; BUENO et al., 2015; TUELHER et al., 2018; SOSA-GÓMEZ et al., 2020). Seu controle é realizado principalmente com inseticidas químicos de amplo espectro, como organofosforados, neonicotinóides e piretróides (SOSA-GÓMEZ et al., 2020). Porém, a ausência de novas moléculas (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012), relatos de falhas de controle e populações resistentes (SOSA-GÓMEZ et al., 2001; SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; GUEDES, 2017; TUELHER et al., 2018) estimulam a busca por alternativas para o controle dessa praga.

O controle biológico vem se expandindo rapidamente na cultura da soja no Brasil (CROPLIFE BRASIL, 2021). Para o controle do percevejo *E. heros*, 4 produtos macrobiológicos e 18 microbiológicos estão registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento brasileiro (AGROFIT, 2021). Diferente de outros entomopatógenos, como vírus e bactérias que agem por ingestão, os fungos são patógenos de contato, infectando os insetos por via percutânea (JARONSKY, 2010, MASCARIN; JARONSKY, 2016). No campo, os esporos podem entrar em contato com o inseto de forma direta por meio das gotas da aplicação, depositadas no seu corpo, ou indireta, pelo contato do inseto com a superfície onde os esporos foram depositados (vegetação ou solo) (BATEMAN & CHAPPLE, 2001; JARONSKY, 2010). A forma predominante de contaminação do inseto pelo fungo depende de fatores relacionados ao comportamento do inseto (JARONSKY, 2010), como movimentação na planta e entre as plantas, assim como, pela estrutura do dossel da planta (JARONSKY, 2010; MASCARIN; JARONSKY, 2016).

Outro fator importante para o sucesso no uso de fungos entomopatogênicos está relacionado a sua eficiência quando utilizados associados a outros agroquímicos, já que pode haver incompatibilidade (ALVES et al., 1998). Assim, há a necessidade de pesquisar agroquímicos que possibilitem a utilização de forma associada aos fungos, podendo levar a uma interação sinérgica e conseqüentemente a um controle maior do inseto-praga (CAVALCANTI et al., 2002). Por isto, é fundamental a realização de estudos que avaliem a compatibilidade entre agentes de controle biológicos e

agroquímicos. No presente estudo, foram avaliados três métodos de inoculação de dois isolados de *Beauveria bassiana* no percevejo *E. heros* e a compatibilidade de um dos isolados a diferentes adjuvantes e inseticidas químicos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Percevejos

A criação de percevejos foi estabelecida dois anos antes do início dos testes, com ovos provenientes da Embrapa. Um ano antes do início dos testes foi realizada uma introdução de adultos do campo. Os percevejos adultos foram criados em caixas plásticas de 11L com tampas recortadas no centro e a abertura coberta com tecido tipo voil. As caixas foram revestidas com papel toalha e a alimentação dos insetos consistiu-se em sementes de amendoim cru (*Arachis hypogaea* L.) e vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Nas laterais foram fixadas quatro tiras de tecido de algodão cru, que serviram de local de oviposição. Os ovos retirados dessas tiras foram alocados em caixas plásticas do tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) revestidas com papel toalha e contendo uma vagem de feijão que serviu de alimentação para as ninfas. A partir do segundo instar, os insetos foram transferidos para caixas plásticas de 8L e mantidas em uma sala climatizada, a $26 \pm 2^\circ \text{C}$, $60 \pm 10\%$ de UR e 14h de fotofase (de 06h00min as 20h00min) até os insetos atingirem o estágio adulto, quando foram utilizados nos testes.

4.2.2 Fungo entomopatogênico

Os isolados UFSM 1 e UFSM 2 do fungo *B. bassiana* foram isolados por Dalla Nora et al. (2020). Amostras liofilizadas mantidas em câmara fria a temperatura de $\pm 4^\circ \text{C}$ foram plaqueadas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e posteriormente incubadas a $26 \pm 2^\circ \text{C}$, fotofase de 12h, até a esporulação (12-15 dias). As placas receberam 10mL de uma solução salina de NaCl a 0,85% (p/v) com Tween® 80 (0,1% v/v) e após raspagem com bastão de vidro esterilizado, a suspensão de conídios foi transferida para tubos estéreis e ajustada para a concentração de 1×10^7 conídios mL^{-1} por contagem em câmara de Neubauer.

A produção de conídios foi realizada em sacos plásticos contendo 100g de arroz cozido e estéril, inoculados com 4 mL da suspensão de 1×10^7 conídios mL^{-1} . Os sacos foram incubados a 26 ± 2 °C e fotofase de 12h até a esporulação (10-15 dias). Após, o arroz + fungo foi transferido para um becker de 1000mL contendo 500 mL de solução salina de NaCl a 0,85% (p/v) com Tween[®] 80 (0,1% v/v) e agitado manualmente com auxílio de um bastão de vidro estéril até a separação dos conídios. A suspensão foi filtrada em peneira de metal estéril (mesh 80) e transferida para tubos estéreis. A concentração foi ajustada para as concentrações de 1×10^1 , 1×10^3 , 1×10^5 , 1×10^7 e 1×10^9 conídios mL^{-1} por contagem em câmara de Neubauer. Para o teste de compatibilidade com inseticidas e adjuvantes químicos foi utilizada a concentração de 1×10^8 conídios mL^{-1} do isolado UFSM 1, que foi obtida conforme descrito acima.

4.2.3 Teste de inoculação

Foram testados os métodos por contato dorsal, contato tarsal e imersão para a inoculação dos fungos *B. bassiana* UFSM 1 e UFSM 2 nos percevejos. Para cada método, utilizaram-se cinco concentrações de conídios, totalizando 33 tratamentos, sendo 3 métodos x 2 isolados x 5 concentrações, mais um tratamento controle, sem aplicação de inóculo, para cada método. Foram utilizadas 10 repetições de 5 insetos para cada tratamento, totalizando 50 insetos por tratamento.

No método por contato dorsal foi aplicado 5 μL da suspensão de conídios com o auxílio de uma micropipeta sobre o dorso dos percevejos, dentro das placas de Petri, que foram posteriormente incubados para a avaliação da mortalidade (DALLA NORA et al. 2020). No método por contato tarsal, foi aplicado 1 mL da suspensão de conídio sobre a placa de Petri, com o auxílio da Torre de Potter (pressão de 1 bar). As placas foram deixadas dentro da câmara de fluxo laminar (ar estéril), em temperatura ambiente, por 30 minutos e após foram adicionados os insetos para o caminhar sobre a área aplicada. Em seguida as placas foram incubadas para a avaliação da mortalidade. No método de imersão, os insetos foram imersos individualmente em 10 mL da solução de conídios por 5 segundos, após foram acondicionados em placas de Petri e incubados.

Os insetos foram alimentados com vagens de feijão durante todo o período de avaliação (12 dias). As placas de Petri com os insetos foram acondicionadas em sala climatizada a 26 ± 2 °C, 14h de fotofase e $60 \pm 10\%$ de umidade. As avaliações foram

realizadas diariamente, com a avaliação visual da mortalidade dos insetos. Os insetos mortos foram esterilizados externamente com álcool 70%, colocados em placas de Petri contendo ágar-água estéril e incubados a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e 14h de fotofase para observação da formação das estruturas fúngicas e confirmação que a mortalidade dos percevejos foi ocasionada pelo fungo.

4.2.4 Teste de compatibilidade

O experimento foi conduzido em placas de Petri contendo meio BDA com os inseticidas químicos ou adjuvantes apresentados na Tabela 1. O volume dos agroquímicos adicionado ao meio de cultura foi calculado conforme a dose de campo, considerando uma calda de 150 L ha^{-1} . Os produtos foram adicionados ao meio de cultura ainda líquido, na temperatura entre 45 e 50°C . Após vigorosa agitação, verteu-se o meio de cultura em placas de Petri estéreis de 90mm. As placas contendo o meio BDA isento de agroquímicos foram usadas como controle. Para cada tratamento utilizaram-se quatro repetições (placas). Após a solidificação do meio de cultura, o mesmo foi inoculado com $5 \mu\text{L}$ da suspensão de conídios do fungo UFSM 1 (10^8 conídios mL^{-1}) no centro da placa, seguido de incubação a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, em ausência de luz, durante 15 dias.

Tabela 1 - Informações técnicas, doses e volumes de adjuvantes e inseticidas químicos adicionados ao meio de cultura para o teste de compatibilidade com o isolado de *Beauveria bassiana* UFSM 1.

Nome comercial	Ingrediente ativo (I.A)/ Composição	Concentração de I.A. (g L^{-1})	Dose	mL L^{-1} de meio de cultura
Adjuvantes				
TA 35 Gold®	Óleo vegetal	NI	$1,5 \text{ mL L}^{-1}$	1,50 mL
Veget'Oil®	Óleo vegetal	930	$0,15 \text{ L ha}^{-1}$	1,00 mL
IOP®	Óleo vegetal	NI	$0,5 \text{ L ha}^{-1}$	3,33 mL
Extremo®	Organosiliconados + Óleo vegetal	NI	$0,2 \text{ L ha}^{-1}$	1,33 mL
Spray Oil®	Óleo vegetal + Organosiliconados + Óleo essencial de laranja	NI	$0,25 \text{ L ha}^{-1}$	1,66 mL

Inseticidas				
Connect®	Imidacloprido + Beta-ciflutrina	100 + 12,5	1 L ha ⁻¹	6,66 mL
Fastac Duo®	Acetamiprido + Alfa-cipermetrina	100 + 200	0,5 L ha ⁻¹	3,33 mL
Engeo Pleno S®	Tiametoxam + Lambda-cialotrina	141 + 106	0,2 L ha ⁻¹	1,33 mL

NI = não informado pelo fabricante.

O crescimento das colônias e a produção de conídios foram utilizados como parâmetros de avaliação do desempenho dos fungos em resposta às misturas de agroquímicos adicionados ao meio de cultura. Ao 15º dia após a inoculação, o crescimento da colônia foi quantificado por meio de medidas, em milímetros, de dois diâmetros perpendiculares da colônia. A produção de conídios foi avaliada em três amostras do meio de cultura (uma central, uma intermediária e uma periférica) com a colônia do fungo em crescimento. Estas amostras foram coletadas com um anel metálico esterilizado de 8 mm de diâmetro no 15º dia de incubação e transferidas individualmente para tubos de ensaio contendo 10 mL de uma mistura 1:1 de solução esterilizada de NaCl (0,89%, p/v) e Tween 80® (0,1%, v/v). Após vigorosa agitação em agitador orbital de tubos foi feita a contagem dos conídios na suspensão com auxílio de câmara de Neubauer e microscópio ótico com 400x. Posteriormente, calculou-se a produção média de conídios da colônia, com base no seu diâmetro.

4.2.5 Análise estatística

Os dados de mortalidade de percevejos foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925) em relação à testemunha. Para comparação entre os métodos de inoculação, concentrações e fungos, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A análise de Probit foi usada para estimar o tempo letal médio (tempo para causar mortalidade de 50% da população - TL₅₀) para cada concentração em cada método e isolado.

Os dados obtidos do diâmetro da colônia e da produção de conídios foram transformados por $(x + 0,5)^{1/2}$ e submetidos a análise de variância e teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade para comparação entre as médias. Utilizou-se o sistema de classificação do nível de toxicidade de acordo com a metodologia proposta por Alves et al. (1998), para determinar a toxicidade dos produtos testados ao fungo. O

sistema baseia-se no cálculo do valor “T”, conforme a equação 1, com a utilização das porcentagens médias de crescimento vegetativo (CV) e esporulação (ESP) das colônias dos fungos, em relação à testemunha (100%). Os valores de T são classificados de forma que para a faixa de 0 a 30 o produto é muito tóxico; de 31 a 45 é tóxico; de 46 a 60 é moderadamente tóxico; e para valores acima de 60 é compatível com o fungo estudado (ALVES et al., 1998).

$$T = \frac{20(CV) + 80(ESP)}{100} \quad (1)$$

4.3 RESULTADOS

Os dados obtidos no teste de inoculação não se ajustaram ao modelo de Probit para a CL₅₀ (concentração letal para matar 50% da população), optando-se assim pela comparação das médias de mortalidade e pelo cálculo do tempo letal para matar 50% da população (TL₅₀). Os diferentes métodos de inoculação avaliados resultaram em mortalidade similar dos percevejos nas três menores concentrações de conídios (1x10¹, 1x10³ e 1x10⁵ conídios mL⁻¹) (Tabela 2). Na maior concentração de conídios do isolado UFSM 1, o método de imersão proporcionou mortalidade 25% e 33% maior em relação aos métodos de contato dorsal e contato tarsal, respectivamente. Para o isolado UFSM 2, o método de imersão também ocasionou maior mortalidade na concentração 1x10⁷ conídios mL⁻¹.

Tabela 2 - Mortalidade corrigida (%) de adultos de *Euschistus heros* 12 dias após a inoculação de dois isolados de *Beauveria bassiana* pelos métodos de imersão, contato dorsal e contato tarsal em diferentes concentrações de conídios.

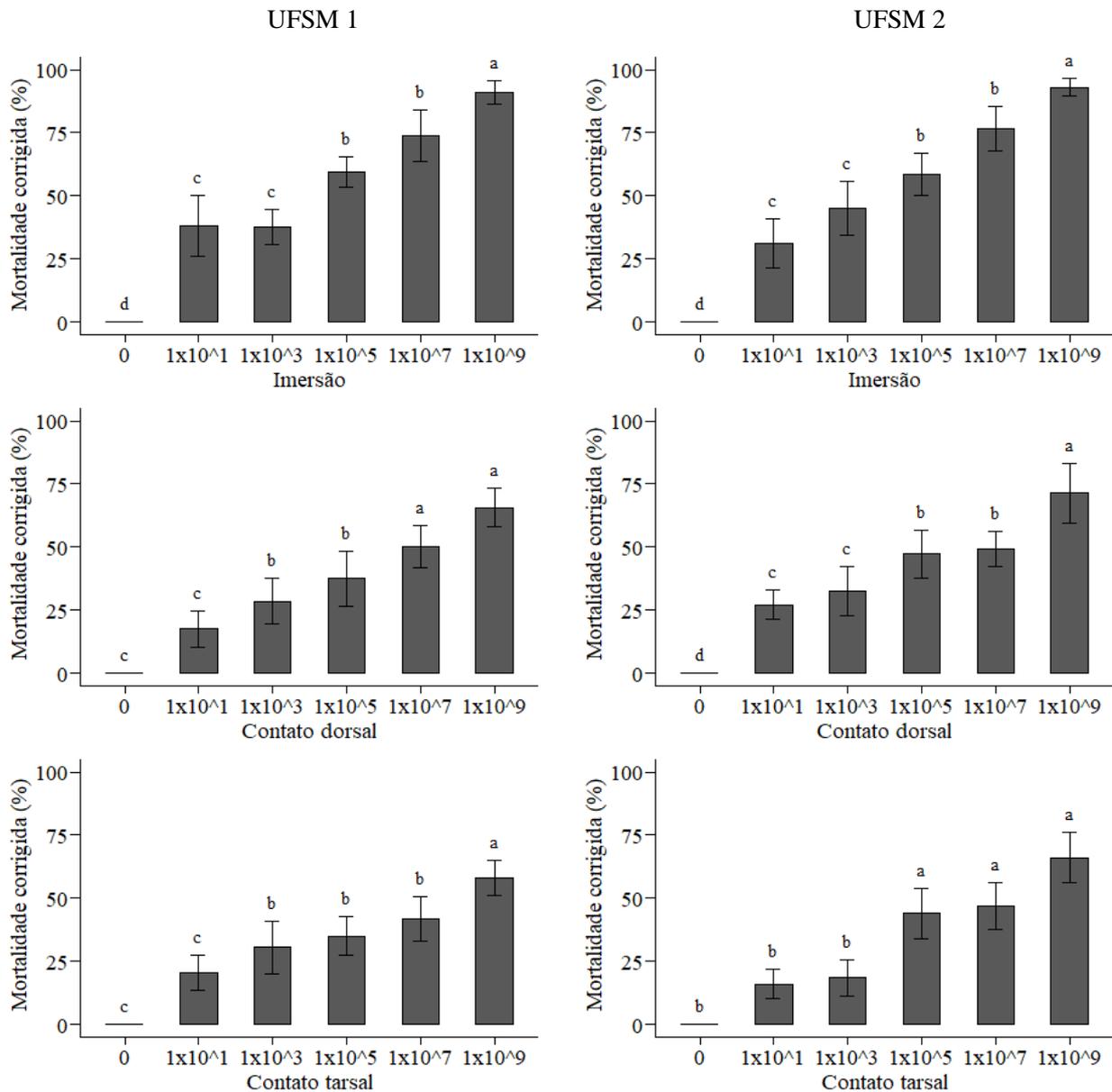
conídios mL ⁻¹	Isolado	Imersão	Contato dorsal	Contato tarsal
1,0x10 ¹	UFSM 1	38.00 ± 12.16 Ac	17.50 ± 7.04 Ac	20.50 ± 7.17 Ac
	UFSM 2	31.00 ± 9.80 Ac	27.17 ± 5.64 Ac	16.00 ± 5.95 Ab
1,0x10 ³	UFSM 1	37.50 ± 6.88 Ac	28.50 ± 9.16 Ab	30.50 ± 10.53 Ab
	UFSM 2	45.00 ± 10.51 Ac	32.50 ± 9.81 Ac	18.50 ± 7.11 Ab
1,0x10 ⁵	UFSM 1	59.50 ± 5.98 Ab	37.50 ± 11.04 Ab	35.00 ± 7.78 Ab
	UFSM 2	58.50 ± 8.33 Ab	47.17 ± 9.53 Ab	44.00 ± 10.02 Aa
1,0x10 ⁷	UFSM 1	74.00 ± 10.19 Ab	50.17 ± 8.48 Aa	42.00 ± 8.86 Ab

	UFSM 2	76.50 ± 8.88 Ab	49.33 ± 6.93 Bb	47.00 ± 9.19 Ba
1,0x10 ⁹	UFSM 1	91.00 ± 4.76 Aa	65.67 ± 7.71 Ba	58.00 ± 6.84 Ba
	UFSM 2	93.00 ± 3.59 Aa	71.33 ± 11.96 Aa	66.00 ± 9.99 Aa

Médias (± erro-padrão) seguidas por letras iguais, maiúsculas na linha (comparação entre métodos de inoculação) e minúsculas na coluna (entre concentrações de um mesmo isolado), não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Em relação as concentrações de conídios, houve aumento da mortalidade com o aumento da concentração de conídios, independentemente do método de inoculação e do isolado fúngico (Figura 1). Esses resultados denotam que o método de contaminação dos insetos tem pouco impacto nos resultados, provavelmente pela capacidade natural do patógeno de infectar o inseto, independentemente do local ou forma que alcançam os percevejos. Os isolados UFSM 1 e UFSM 2 apresentaram comportamento muito semelhantes, não diferindo estatisticamente nos métodos de inoculação e nas concentrações de conídios.

Figura 1 - Mortalidade corrigida (%) de adultos de *Euschistus heros*, 12 dias após a inoculação, dentro dos métodos de inoculação em consequência das diferentes concentrações dos isolados de *Beauveria bassiana*.



O tempo letal para matar 50% da população de *E. heros* (TL₅₀) variou entre as concentrações e os métodos de inoculação dos conídios (Tabela 3). Com o aumento da concentração, a TL₅₀ diminuiu nos três métodos de inoculação. O maior TL₅₀ foi obtido na menor concentração de conídios do UFSM 2, inoculado por contato tarsal (35,5 dias). Por outro lado, o menor TL₅₀ foi calculado para a maior concentração de conídios, inoculados pelo método de imersão, sendo de 4 e 3,36 dias para os isolados

UFSM 1 e UFSM 2, respectivamente. O método de inoculação por contato dorsal apresentou menor TL_{50} que o método por contato tarsal, porém ambos superiores ao método de imersão.

Tabela 3 - Estimativa do tempo letal dias até a mortalidade de 50% (TL_{50}) de *Euschistus heros* inoculados por três métodos com diferentes concentrações de conídios dos isolados de *Beauveria bassiana* UFSM 1 e UFSM 2.

Concentração	Isolado	Coefficiente angular ($\pm EP$) ^a	TL_{50} (95% IC) ^b	χ^2 (df) ^c
Imersão do inseto				
1,0x10 ¹	UFSM 1	2,06 ($\pm 0,251$)	11,30 (9,68 – 14,00)	8,07 (10)
	UFSM 2	1,54 ($\pm 0,232$)	16,40 (12,60 – 25,30)	2,73 (10)
1,0x10 ³	UFSM 1	1,48 ($\pm 0,200$)	9,80 (7,53 – 15,30)	17,30 (10)
	UFSM 2	2,31 ($\pm 0,263$)	10,30 (9,04 – 12,20)	8,97 (10)
1,0x10 ⁵	UFSM 1	1,47 ($\pm 0,189$)	7,10 (6,03 – 8,61)	1,80 (10)
	UFSM 2	1,32 ($\pm 0,180$)	5,88 (4,90 – 7,12)	3,99 (10)
1,0x10 ⁷	UFSM 1	2,22 ($\pm 0,216$)	6,27 (5,60 – 7,04)	9,95 (10)
	UFSM 2	1,85 ($\pm 0,190$)	4,59 (3,96 – 5,24)	8,42 (10)
1,0x10 ⁹	UFSM 1	2,78 ($\pm 0,222$)	4,00 (3,57 – 4,43)	10,10 (10)
	UFSM 2	2,43 ($\pm 0,204$)	3,36 (2,91 – 3,78)	7,95 (10)
Contato dorsal				
1,0x10 ¹	UFSM 1	1,72 ($\pm 0,242$)	14,80 (11,80 – 21,10)	2,67 (10)
	UFSM 2	1,94 ($\pm 0,286$)	17,50 (13,70 – 26,20)	4,51 (10)
1,0x10 ³	UFSM 1	1,54 ($\pm 0,225$)	14,70 (11,60 – 21,60)	2,18 (10)
	UFSM 2	1,99 ($\pm 0,264$)	13,80 (11,40 – 18,50)	7,48 (10)
1,0x10 ⁵	UFSM 1	1,69 ($\pm 0,242$)	15,40 (12,20 – 22,50)	2,41 (10)
	UFSM 2	2,08 ($\pm 0,273$)	13,60 (11,40 – 18,00)	12,90 (10)
1,0x10 ⁷	UFSM 1	1,95 ($\pm 0,231$)	10,10 (8,68 – 12,30)	2,09 (10)
	UFSM 2	1,67 ($\pm 0,217$)	10,90 (9,15 – 14,10)	2,14 (10)
1,0x10 ⁹	UFSM 1	2,30 ($\pm 0,228$)	7,04 (6,31 – 7,92)	3,66 (10)
	UFSM 2	2,07 ($\pm 0,201$)	5,07 (4,46 – 5,71)	6,32 (10)
Contato tarsal				
1,0x10 ¹	UFSM 1	1,86 ($\pm 0,312$)	22,80 (16,60 – 41,40)	4,10 (10)
	UFSM 2	1,38 ($\pm 0,273$)	35,50 (21,60 – 105,00)	1,69 (10)
1,0x10 ³	UFSM 1	2,08 ($\pm 0,298$)	16,30 (13,10 – 23,30)	3,30 (10)
	UFSM 2	1,92 ($\pm 0,350$)	26,40 (18,40 – 55,10)	7,35 (10)
1,0x10 ⁵	UFSM 1	1,84 ($\pm 0,256$)	14,90 (12,00 – 20,90)	3,15 (10)
	UFSM 2	1,98 ($\pm 0,269$)	14,50 (11,90 – 19,80)	9,54 (10)
1,0x10 ⁷	UFSM 1	2,35 ($\pm 0,284$)	11,80 (10,20 – 14,50)	4,10 (10)
	UFSM 2	2,01 ($\pm 0,233$)	9,71 (8,45 – 11,70)	1,12 (10)
1,0x10 ⁹	UFSM 1	2,02 ($\pm 0,236$)	10,00 (8,69 – 12,10)	7,28 (10)
	UFSM 2	2,13 ($\pm 0,231$)	8,44 (7,47 – 9,79)	10,30 (10)

Número de indivíduos testados para cada tratamento = 50; ^a Coeficiente angular e erro padrão; ^b Tempo letal 50; ^c Qui-quadrado e graus de liberdade; χ^2 tabelado (P= 0,05; GL = 10) = 18,307.

Os agroquímicos testados apresentaram diferentes compatibilidades com o isolado UFSM 1 (Tabela 4). Quando foi avaliado o crescimento vegetativo, não houveram diferenças estatísticas entre a testemunha e os tratamentos com Extremo[®], IOP[®], Spray Oil[®] e Engeo Pleno S[®] (Tiametoxam + Lambda-cialotrina). A presença do Connect[®] (Imidacloprido + Beta-ciflutrina) e do Fastac Duo[®] (Acetamiprido + Alfa-cipermetrina) no meio de cultura aumentou o crescimento do fungo em 9,2% e 9,3%, respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha. Os únicos tratamentos que reduziram o crescimento do fungo foram TA35 Gold[®] e Veget'Oil[®], sendo este crescimento 12,4% e 21,0% menor que o apresentado pela testemunha, respectivamente.

Os tratamentos TA35 Gold[®] e Veget'Oil[®] novamente foram os que apresentaram maior toxicidade à produção de conídios, com reduções de 74,8% e 58,7%, respectivamente (Tabela 4). Os tratamentos com Extremo[®] e Spray Oil[®] também apresentaram efeito negativo na produção de conídios, com reduções de 33,2% e 41,6% em relação a testemunha, respectivamente. Para os demais tratamentos não houveram prejuízos à produção de conídios, ao contrário, houveram aumentos em relação a testemunha, de até 42,5% com o Fastac Duo[®] (Acetamiprido + Alfa-cipermetrina). Integrando-se os resultados do crescimento da colônia com a produção de conídios obteve-se o valor "T", que indicou que o TA35 Gold[®] é tóxico e o Veget'Oil[®] é moderadamente tóxico ao isolado UFSM 1, enquanto os demais agroquímicos mostraram-se compatíveis com este fungo, nas dosagens avaliadas.

Tabela 4 - Crescimento vegetativo, produção de conídios, valor de "T" e classificação da toxicidade de adjuvantes e inseticidas químicos em teste de compatibilidade com o isolado de *Beauveria bassiana* UFSM 1.

Tratamentos	Crescimento vegetativo (mm)	Produção de conídios ($\times 10^6$ mL ⁻¹)	Valor de "T"	Classificação ²
Testemunha	21.83 \pm 0.440 b ¹	3.91 \pm 0.608 a	-	-
TA 35 Gold [®]	19.12 \pm 0.349 c	0.98 \pm 0.170 b	37.71	Tóxico
Veget'Oil [®]	17.25 \pm 0.376 d	1.62 \pm 0.527 b	48.87	Moderadamente tóxico
Extremo [®]	21.87 \pm 0.670 b	2.61 \pm 0.265 b	73.51	Compatível
IOP [®]	22.09 \pm 0.494 b	4.26 \pm 0.255 a	107.32	Compatível
Spray Oil [®]	21.29 \pm 0.514 b	2.28 \pm 0.402 b	66.21	Compatível

Connect [®]	23.83 ± 0.490 a	4.38 ± 1.116 a	111.40	Compatível
Fastac Duo [®]	23.85 ± 0.444 a	5.58 ± 1.820 a	135.88	Compatível
Engeo Pleno S [®]	21.57 ± 0.654 b	5.22 ± 0.989 a	126.47	Compatível
CV (%)	2.30	23.25		

¹Médias (± erro-padrão) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. ² Segundo ALVES et al. (1998).

4.4 DISCUSSÃO

O controle biológico com *B. bassiana* é uma estratégia que pode ser utilizada no manejo integrado de diferentes espécies de insetos-praga. O conhecimento da eficiência do controle das diferentes formas de contato deste fungo com o *E. heros* é uma informação relevante para a tecnologia de aplicação. Da mesma forma que o conhecimento da compatibilidade do fungo entomopatogênico com agroquímicos permite utilizar estratégias sinérgicas de controle, aliando o controle biológico ao químico.

Os resultados deste trabalho demonstram que o método de imersão resultou em maior mortalidade em todas as concentrações testadas, o que está de acordo com o observado nos estudos de LEMA-LÓPEZ et al. (2010) que avaliou diferentes métodos de inoculação do *B. bassiana* em *Cosmopolites sordidus* e de SANTORO et al. (2007) em *Alphitobius diaperinus*. No método de imersão, a superfície do corpo do inseto exposta aos conídios é maior em comparação aos métodos de contato dorsal ou tarsal. Com isso há maior possibilidade de adesão dos conídios e consequentemente maior germinação e penetração no tegumento do percevejo (SANTORO et al., 2007; LEMA-LÓPEZ et al., 2010). Porém, o método de imersão é impraticável no campo, sendo somente um método padrão de laboratório que permite estabelecer comparações com outros métodos que estão sendo avaliados.

Quando aplicados no campo via pulverização foliar, os conídios entram em contato diretamente com o corpo do inseto ou por meio da sua movimentação sobre a superfície contaminada (FERNANDEZ et al., 2001), semelhante ao que ocorre nos métodos de contato dorsal e contato tarsal. A comparação destes métodos demonstrou que uma maior mortalidade é encontrada quando o inseto é contaminado pelo contato dorsal, mas não houve diferença estatística em reação à mortalidade pelo contato tarsal. No campo, grande parte das gotas pulverizadas (61 a 80%) são

depositadas no terço superior das plantas de soja (FARIAS et al., 2020), diminuindo as chances de contaminação direta do percevejo *E. heros* pelos conídios. A contaminação pode ser mais efetiva se a aplicação for realizada nos períodos mais frescos do dia, quando os percevejos se localizam no terço superior do dossel (CORRÊA-FERREIRA; KRZYZANOWSKI; MINAMI, 2009). Tendo em vista a diferença de comportamento (movimentação) existente entre os diferentes instares dos percevejos (PANIZZI et al., 2012), a intensa movimentação dos percevejos adultos maximiza a possibilidade de contato com propágulos do fungo no ambiente (DALLA NORA et al., 2020). Sendo assim, é mais importante para esses insetos a forma de contaminação indireta (JARONSKY, 2010), ou seja, por contato tarsal.

O aumento da concentração de conídios dos dois isolados de *B. bassiana* resultou em maior mortalidade de percevejos, confirmando que a eficácia do fungo depende do número de propágulos que eventualmente entram em contato com a cutícula do hospedeiro (JARONSKI, 2010). O aumento da concentração de conídios também influenciou no tempo letal médio para os dois isolados nos três métodos de inoculação. Resultados semelhantes foram obtidos quando comparadas quatro concentrações diferentes de conídios de um isolado de *B. bassiana* em quatro espécies de insetos (*Myzus persicae*, *Jacobiasca formosana*, *Bemisia tabaci* e *Stephanitis nashi*) (BUGTI et al., 2018). Desta maneira, é possível inferir que para uma melhor eficiência de controle no campo é necessário a aplicação de altas concentrações de conídios ($<10^9$), o que aumenta a chance de contaminação dos insetos. Ainda que estes resultados tenham sido promissores, deve se destacar que a utilização de fungos entomopatogênicos no Manejo Integrado de Pragas (MIP) tem o objetivo de manter a população do inseto-praga abaixo do nível de dano econômico. A eficiência de controle do *B. bassiana* não necessita ser igual a eficiência de um inseticida químico (MASCARIN; JARONSKY, 2016).

No teste de compatibilidade biológica, os três inseticidas testados (Connect® - Imidacloprido + Beta-ciflutrina, Fastac Duo® - Acetamiprido + Alfa-cipermetrina e Engeo Pleno S® - Tiametoxam + Lambda-cialotrina) foram compatíveis ao isolado UFSM 1. Essa compatibilidade também foi verificada para o isolado UFLA-4 de *B. bassiana* a produtos à base de Tiametoxam e Imidacloprido (CAVALCANTI et al., 2002). Já para o isolado IBCB 66 de *B. bassiana* verificou-se que Tiametoxam foi compatível e Imidacloprido foi moderadamente tóxico (BATISTA FILHO et al., 2001). Entretanto, em outro estudo para este mesmo isolado, Tiametoxam e Imidacloprido

foram classificados como moderadamente tóxicos (PINTO et al., 2012). As diferentes compatibilidades dos isolados de uma espécie fúngica a determinado agroquímico é recorrente na literatura, podendo ser consequência da variabilidade genética (TANZINI et al., 2002). Além disto, os produtos comerciais de um mesmo ingrediente ativo contem diferentes formulações, o que resulta em diferentes níveis de toxicidade, inclusive em aumento desta toxicidade se comparada ao produto técnico não formulado (MOINO JR; ALVES, 1998, SANTOS et al. 2004).

Assim como os inseticidas químicos, os adjuvantes também podem causar toxicidade e afetar de maneiras distintas o crescimento vegetativo do fungo e a produção de conídios. Dois dos adjuvantes testados afetaram o crescimento vegetativo e principalmente a produção de conídios, os demais não afetaram estes parâmetros. Essa resposta está de acordo com COSTA et al. (2003) que avaliaram a toxicidade de dois adjuvantes sobre o isolado CB66 de *B. bassiana* nas doses mínima e máximas recomendadas. O adjuvante AgRho DEP-775 foi considerado compatível com o fungo nas duas doses testadas, já adjuvante AG 6202 foi considerado muito tóxico nas ambas as doses. O maior desenvolvimento do fungo na presença de alguns agroquímicos no meio de cultura pode estar relacionado a um mecanismo de defesa do entomopatógeno. O fungo pode fazer um esforço reprodutivo e assim aumentar seu crescimento vegetativo e produção de conídios em resposta a presença de uma substância tóxica (MOINO JR.; ALVES, 1998). Além disso, o fungo pode utilizar como nutriente alguns compostos liberados do agroquímico ou substâncias presentes na formulação do produto, auxiliando na promoção do seu crescimento vegetativo e sua produção de conídios (MOINO JR.; ALVES, 1998).

4.5 CONCLUSÕES

Todos os métodos de inoculação resultam em controle satisfatório de *E. heros* pelos isolados de *B. bassiana* UFSM 1 e UFSM 2, porém é possível estabelecer a seguinte ordem de eficácia de controle: imersão>contato dorsal>contato tarsal.

O isolado de *B. bassiana* UFSM 1 apresenta compatibilidade com seis dos oito agroquímicos avaliados.

4.6 REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. et al. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. econ. Entomol**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.

AGROFIT. Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários—Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. 2021. Acesso em: 27/06/2021

ALVES, S. B.; MOINO JR. A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Ed. Piracicaba, FEALQ. p. 217-238, 1998.

BATEMAN, R.; CHAPPLE, A. The spray application of mycopesticide formulations. In: **Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential**. Oxford: Centre for Agricultural Bioscience International, p. 289-309, 2001.

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

BUENO, A. et al. Assessment of a more conservative stink bug economic threshold for managing stink bugs in Brazilian soybean production. **Crop Protection**, v. 71, p. 132-137, 2015.

BUGTI, G. A. et al. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* strain 202 against sap-sucking insect pests. **Plant Protection Science**, v. 54, n. 2, p. 111-117, 2018.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. A. Percevejos e a qualidade da semente de soja-série sementes. **Embrapa Soja-Circular Técnica** (INFOTECA-E), 15p., 2009.

CAVALCANTI, R. S. et al. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropatrina, imidacloprid, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 17-22, 2002.

COSTA, E. A. D. et al. Compatibilidade dos Adjuvantes AG 6202 e AgRho Dep-775 no Desenvolvimento in vitro dos Fungos Entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. **STAB**, v. 21, n. 6, p. 6-9, 2003.

CROPLIFE BRASIL, 2021. Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adoacao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros/>. Acesso em: 26/07/2021

DALLA NORA, D. et al. Isolation and evaluation of entomopathogenic fungi against the neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 22-34, 2020.

FARIAS, M. A. G. L., et al. Spray nozzles and droplet size effects on soybean canopy deposits and stink bugs control in west region of São Paulo state-Brazil. **Phytoparasitica**, v. 48, n. 2, p. 203-213, 2020.

FERNANDEZ, S. et al. The effect of mode of exposure to *Beauveria bassiana* on conidia acquisition and host mortality of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 77, n. 3, p. 217-226, 2001.

GUEDES, J. V. C.; PERINI, C. R. Tecnologia de aplicação de inseticidas em culturas anuais. In: Ulisses Rocha Antuniassi; Walter Boller. (Org.). **Tecnologia de aplicação para culturas anuais**. 2ª edição. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, p. 303-318, 2019.

GUEDES, R. N. C. Insecticide resistance, control failure likelihood and the First Law of Geography. **Pest Management Science**, v. 73, n. 3, p. 479-484, 2017.

HADDAH, M. L. Utilização do Polo-PC para análise de Probit. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Ed. Piracicaba, FEALQ. p. 289-382, 1998.

JARONSKI, S. T. Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. **BioControl**, v. 55, n. 1, p. 159-185, 2010.

LEMA-LÓPEZ, E. A. et al. Métodos de inoculação e virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a *Cosmopolites sordidus* (Germar)(Coleoptera: Curculionidae) em laboratório. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 67-74, 2010.

MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 1-26, 2016.

MOINO JR, A.; ALVES, S. B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 611-619, 1998.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. de F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, p. 335-420, 2012.

PINTO, A. P. F. et al. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* ao psilídeo *Diaphorina citri* e compatibilidade do fungo com produtos fitossanitários. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 1673-1680, 2012.

SANTORO, P. H. et al. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, p. 483-489, 2007.

SANTOS, J. B. et al. Efeitos de diferentes formulações comerciais de glyphosate sobre estirpes de *Bradyrhizobium*. **Planta Daninha**, v. 22, p. 293-299, 2004.

SILVA, F. A. C. et al. Feeding activity, salivary amylase activity, and superficial damage to soybean seed by adult *Edessa mediotabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical entomology**, v. 41, n. 5, p. 386-390, 2012.

SOSA-GÓMEZ, D. R. et al. Prevalence, damage, management and insecticide resistance of stink bug populations (Hemiptera: Pentatomidae) in commodity crops. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 22, n. 2, p. 99-118, 2020.

SOSA-GOMEZ, D. R.; CORSO, I. C.; MORALES, L. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 317-320, 2001.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: HOFFMANN-CAMPO C.B. et al. **Soja–Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: Embrapa, p. 673-723, 2012.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 767-769, 2010.

TANZINI, M. R.; ALVES, S. B.; SETTEN, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 65-69, 2002.

TUELHER, E. S. et al. Area-wide spatial survey of the likelihood of insecticide control failure in the neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 2, p. 849-859, 2018.

VEGA, F. E. et al. Fungal entomopathogens. In: VEGA, F. E.; KAYA, H. K. **Insect pathology**. Academic press, p. 171-220, 2012.