

BIOLOGICAL CONTROL

Seleção de Isolados de Fungos Entomopatogênicos para o Controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua Compatibilidade com Alguns Inseticidas Usados na Cultura do Tomateiro

LAURICÍ M PIRES¹, EDMILSON J MARQUES¹, JOSÉ V DE OLIVEIRA¹, SÉRGIO B ALVES²

¹Depto de Agronomia – Fitossanidade, UFRPE, Av Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil; lauricipires@globo.com, emar@depa.ufrpe.br; vargasoliveira@uol.com.br

²Depto de Entomologia e Acarologia, ESALQ/USP, 13418-900 Piracicaba, SP, Brasil

Edited by Ítalo Delalibera Jr – ESALQ/USP

Neotropical Entomology 39(6):977-984 (2010)

Selection of Isolates of Entomopathogenic Fungi for Controlling *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and their Compatibility with Insecticides Used in Tomato Crop

ABSTRACT - The activity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* towards eggs and larvae of *Tuta absoluta* (Meyrick) was evaluated. Our data showed that the isolates were pathogenic to both developmental stages tested and the eggs were more susceptible than the 1st instars. The isolates URPE-6 and URPE-19 of *M. anisopliae* were more pathogenic to eggs and larvae, respectively. The compatibility of these two isolates with the insecticides chlorfenapyr, spinosad, indoxacarb, abamectin, and neem were evaluated. Spinosad and indoxacarb were compatible with the two *M. anisopliae* isolates in all tested concentrations. At the average recommended concentration, chlorfenapyr was compatible to URPE-6 and abamectin to UFPE-19. The use of entomopathogenic fungi associated with compatible insecticides may be a useful alternative to control *T. absoluta*.

KEY WORDS: Tomato leaf miner, Integrated Pest Management, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, pesticide compatibility

Um dos fatores limitantes da produtividade da cultura do tomate é a ocorrência de pragas, destacando-se dentre elas a traça do tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick), praga chave nas principais regiões produtoras do Brasil (Picanço *et al* 1997, 1998). As lagartas penetram nas folhas 20 a 45 min após a eclosão, alimentando-se do mesofilo foliar (Coelho & França 1987). Embora possuam hábito minador, movimentam-se sobre a haste principal das plantas, principalmente nas horas mais quentes do dia (Ullé & Nakano 1994). Nessa fase, apresentam grande consumo foliar diário, que cresce exponencialmente à medida que mudam de instar (Borgoni *et al* 2003). Além de causar injúrias nas folhas, também atacam as brotações apicais e frutos, depreciando-os para comercialização, podendo em alguns casos causar a morte do tomateiro (Míchereff Filho & Vilela 2001).

Em geral, os produtores de tomate utilizam quantidades excessivas de defensivos agrícolas para o controle de pragas e doenças como forma de garantir melhor produtividade (Teixeira *et al* 2005, Latorraca 2008). Essa prática promove a contaminação ambiental, traz danos à saúde do trabalhador e consumidores do produto agrícola e afeta a ação de inimigos naturais (Carvalho *et al* 2003), além de proporcionar a seleção de populações resistentes (Siqueira 2000). A utilização de fungos entomopatogênicos como

método alternativo e integrado ao manejo de pragas tem sido amplamente investigada (Giustolin *et al* 2001, Rodríguez *et al* 2006a,b).

As interações de fungos entomopatogênicos e inseticidas devem ser consideradas em programas de manejo integrado, uma vez que a conservação desses entomopatógenos dentro do agroecossistema é uma estratégia simples e econômica de utilização desses microrganismos, quando são empregados inseticidas seletivos (Silva *et al* 2005).

Diversos estudos de compatibilidade de fungos entomopatogênicos a inseticidas químicos e botânicos têm sido realizados em condições de laboratório para avaliar a seletividade destes produtos (Neves *et al* 2001, Santos *et al* 2009), apresentando resultados variáveis dependendo da espécie/isolado do entomopatógeno utilizado e produto testado (Loureiro *et al* 2002, Tanzini *et al* 2002, Luke & Bateman 2006, Alizadeh *et al* 2007). Desta forma, o conhecimento da interação de inseticidas e patógenos que apresentam potencial para controle de uma determinada praga representa uma importante ferramenta em programas de manejo integrado.

A presente pesquisa teve por objetivo avaliar os efeitos dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos e lagartas de *T. absoluta*, bem como estudar a compatibilidade desses

patógenos com inseticidas utilizados no controle deste inseto.

Material e Métodos

Criação do inseto em laboratório. Durante a realização dos experimentos foi mantida uma criação de *T. absoluta* a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h. Os adultos foram mantidos em gaiola telada medindo 58 cm de altura x 37 cm de comprimento x 49,5 cm de largura, sendo alimentados com solução açucarada a 10%. Para obtenção de ovos foram oferecidas folhas de tomateiro da variedade Santa Clara com o pecíolo imerso em recipientes com água. Após a eclosão, as lagartas foram alimentadas com folhas de tomate, substituídas sempre que necessário, e à medida que as pupas se formavam, foram transferidas para a gaiola de criação de adultos, dando continuidade ao ciclo de criação do inseto.

Preparação de isolados dos fungos para realização dos bioensaios. Foram testados isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* provenientes da micoteca do laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE, da ESALQ, CENARGEN e Embrapa Tabuleiros Costeiros (Tabela 1). Para realização dos bioensaios, os fungos foram multiplicados em meio completo (MC) constando de extrato de levedura, sais minerais, ágar e água (Alves et al 1998a). A porcentagem de viabilidade dos conídios foi determinada pela contagem de 100 conídios por placa em microscópio de luz, 24h após o plaqueamento em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar + sulfato de estreptomicina (BDA+A) em três placas de Petri.

Testes de patogenicidade sobre ovos de *T. absoluta*. Utilizaram-se 11 tratamentos e cinco repetições em delineamento experimental inteiramente aleatorizado, sendo cada repetição composta por 20 ovos. Assim, suspensões de conídios dos diferentes isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* foram pulverizadas na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} , sobre a superfície superior das folhas de tomateiro contendo ovos de 0 a 24h de idade, utilizando-se 2 ml da suspensão

por folha, com o auxílio de um microatomizador *Paasche Airbrusch* elétrico acoplado a um compressor rotativo com 15 kgf/cm^2 de pressão. A testemunha foi pulverizada apenas com água destilada e espalhante adesivo Tween 80 a 0,01% (ADE + E). Após a aplicação, os ovos foram coletados das folhas e transferidos para recipientes de acrílico medindo 4,0 cm de diâmetro, forrados com papel filtro umedecido com água destilada. O material foi acondicionado a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e $70 \pm 10\%$ UR, sendo efetuadas avaliações diárias durante o período de 10 dias para observação da viabilidade dos ovos, desenvolvimento dos fungos e verificação de possíveis efeitos sobre lagartas que eventualmente eclodissem durante o período mencionado.

Os resultados obtidos foram transformados para raiz de $(x + 0,5)$, submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute 1999-2001).

Teste de patogenicidade sobre lagartas. Foliolos de tomateiro foram destacados das plantas e pulverizados com as suspensões fúngicas na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} , tal como descrito anteriormente, e infestados com lagartas de primeiro instar de *T. absoluta*. Os folíolos da testemunha foram pulverizados apenas com água destilada e espalhante adesivo Tween 80 a 0,01%. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado, com 10 repetições, sendo cada uma composta por um folíolo contendo 10 lagartas. O pecíolo de cada folíolo foi envolvido com algodão umedecido em água destilada e acondicionado em recipientes plásticos forrados com papel filtro. As lagartas foram mantidas a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h, sendo as avaliações efetuadas diariamente para observação da mortalidade, até o fim do período de desenvolvimento larval. Os insetos mortos foram colocados em câmara úmida para confirmação do agente causal. Os resultados obtidos foram analisados pelos mesmos procedimentos estatísticos do experimento anterior.

Determinação da concentração letal (CL_{50}) de *M. anisopliae* sobre ovos de *T. absoluta*. Para determinação da

Tabela 1 Origem e hospedeiros dos isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* que foram utilizados nos experimentos com *Tuta absoluta*.

Espécie	Isolado	Origem	Hospedeiro
<i>B. bassiana</i>	ESALQ 447	ESALQ-USP	<i>Solenopsis invicta</i> Buren
	ESALQ 900	ESALQ-USP	<i>Solenopsis saevissima</i> Smith
	CG 001	CENARGEN	<i>Deois flavopicta</i> (Stal)
	CPATC 053	CPATC- SE	<i>Brassolis sophorae</i> L.
	CPATC 057	CPATC- SE	<i>Homalinotus coriaceus</i> (Gyllenhal)
<i>M. anisopliae</i>	ESALQ 9	ESALQ-USP	<i>Mahanarva posticata</i> (Stal)
	PL 43	ESALQ-USP	<i>M. posticata</i>
	PI 47	ESALQ-USP	<i>M. posticata</i>
	URPE 6	UFRPE	<i>M. posticata</i>
	URPE19	UFRPE	Solo

CL₅₀ foi utilizado apenas o isolado que causou mortalidade superior a 90% dos ovos. Foram empregadas suspensões do isolado URPE-6 nas concentrações de 10⁴, 3x10⁴, 6x10⁴, 10⁵ e 10⁶ conídios ml⁻¹, sendo estas utilizadas para ajuste ao modelo de probit. Os procedimentos quanto à forma de aplicação, manutenção dos ovos, avaliação e análise estatística foram os mesmos adotados no teste de patogenicidade sobre ovos. Para o cálculo da CL₅₀, os dados de mortalidade obtidos nas diferentes concentrações foram submetidos à análise de probit.

Compatibilidade de *M. anisopliae* a inseticidas utilizados em tomateiro. Testou-se o efeito de inseticidas sobre os isolados URPE-6 e URPE-19 de *M. anisopliae* que foram os mais eficientes sobre ovos e lagartas, respectivamente. Foram avaliadas três concentrações para cada produto: concentração média recomendada pelo fabricante (CM = 1x), metade da CM (0,5x) e um quarto da CM (0,25x), sendo a CM determinada pela média das concentrações indicadas para cada inseticida (Tabela 2).

Os testes *in vitro* foram conduzidos em meio BDA+A, acrescentando-se os produtos ao meio de cultura ainda líquido (± 40°C). Após a solidificação do meio, os fungos foram inoculados com auxílio de alça de platina em três pontos equidistantes por placa, sendo preparadas três placas por tratamento, totalizando nove colônias. As placas foram mantidas a 26 ± 1°C, 70 ± 10% UR e fotofase de 12h, durante 14 dias. O crescimento vegetativo foi determinado medindo-se os diâmetros de seis colônias selecionadas aleatoriamente, em dois sentidos ortogonais do meio de cultura. Para avaliação do número de conídios, as colônias foram recortadas e transferidas para beakers com capacidade de 50ml, contendo água destilada esterilizada e espalhante adesivo Tween 80 a 0,01%, passando-se por agitador tipo Vortex (1 min) para remoção e contagem dos conídios em câmara de Neubauer.

Para os testes de germinação, foi adicionado 1 ml da suspensão de 10⁷ conídios ml⁻¹ à calda dos inseticidas (9 ml), nas concentrações pré-estabelecidas. Decorridos 60 min, alíquotas de 0,1 ml da mistura contendo o produto e os conídios (10⁶) foram espalhadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA+A. Na testemunha, utilizou-se a suspensão do fungo diluída em ADE+E. Para cada tratamento foram feitas quatro repetições. Após 20h, avaliou-se a viabilidade, dividindo-se as placas em quatro quadrantes, quantificando-se 100 conídios germinados e

não-germinados em cada quadrante, sob microscópio óptico. Os valores obtidos foram utilizados para estabelecimento da porcentagem de germinação (Alves *et al* 1998b).

A classificação toxicológica foi realizada considerando-se os valores médios de porcentagem de esporulação, crescimento vegetativo e germinação dos fungos, calculando-se as porcentagens em relação à testemunha (100%) e aplicando-se para cada produto estudado, de acordo com a seguinte fórmula:

$$IB = 47 (CV) + 43 (ESP) + 10 (GERM) \div 100, \text{ onde:}$$

IB = Índice biológico

CV = Porcentagem de crescimento vegetativo em relação à testemunha

ESP = Porcentagem de esporulação das colônias em relação à testemunha

GER = Porcentagem de germinação dos conídios

Os valores de IB para a classificação dos produtos são: tóxico 0-41, moderadamente tóxico 42-66 e compatível > 66 (Rossi-Zalaf *et al* 2008).

Resultados e Discussão

Os isolados de *M. anisopliae* e *B. bassiana* testados são patogênicos a ovos de *T. absoluta*, obtendo-se entre 12% e 95% de infecção, sendo o isolado URPE-6 de *M. anisopliae* o mais virulento (Tabela 3). Em todos os ovos em que não foi observada eclosão, houve esporulação dos fungos. Resultados semelhantes foram obtidos por Rodríguez *et al* (2006a), que obtiveram 80% de infecção de ovos de *T. absoluta* tratados com o isolado Qu-M558 de *M. anisopliae*.

Além do efeito ovicida, também ocorreu mortalidade de lagartas de primeiro instar provenientes de ovos tratados, não ocorrendo diferenças estatísticas entre os isolados testados. Embora pequena, a mortalidade de lagartas provenientes dos ovos tratados contribuiu para o aumento da porcentagem de mortalidade total de ovos e lagartas quando analisados em conjunto (Tabela 3). A mortalidade de lagartas recém-ecloídas provenientes de ovos tratados pode ser causada pela penetração do fungo pelo córion do ovo antes da eclosão ou pelo contato com conídios sobre o córion, assim como observado por Rodríguez-Rueda & Fargues (1980).

A mortalidade total de lagartas de primeiro instar de *T. absoluta* tratadas por *M. anisopliae* e *B. bassiana*

Tabela 2 Produtos químicos utilizados nos testes de compatibilidade com os isolados URPE-6 e URPE-19 de *Metarhizium anisopliae*.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Grupo químico	Concentração média (CM) ¹	Classe
Neemseto	Nim	Botânico	1 ml/L	Inseticida natural
Pirate SC	Clorfenapir	Pyrrol	37,5 ml/100 L	Inseticida/acaricida
Rumo WG	Indoxacarbe	Oxadiazina	16 g/100 L	Inseticida
Tracer SC	Espinosade	Espinosina	112,5 ml/ha	Inseticida biológico
Vertimec 18 CE	Abamectina	Avermectina	100 ml/100 L	Inseticida/acaricida

¹CM = Média da concentração recomendada pelo fabricante.

Tabela 3 Porcentagem de ovos infectados e de eclosão de lagartas de *Tuta absoluta* tratados com isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Isolados	Infecção em ovos (%)	Eclosão de lagartas (%)	Infecção em lagartas ¹ (%) ^{ns}	Infecção em ovos + lagartas (%)
<i>M. anisopliae</i>				
URPE-6	95,0 ± 2,73 a	5,0 ± 2,73 e	3,0 ± 2,00	98,0 ± 1,22 a
E9	64,0 ± 2,91 ab	36,0 ± 2,91 d	8,0 ± 4,06	72,0 ± 4,64 ab
PI47	19,0 ± 1,87 cd	81,0 ± 1,87 ab	12,0 ± 2,55	31,0 ± 4,00 c
PL43	19,0 ± 1,87 cd	63,0 ± 2,54 bc	10,0 ± 2,74	29,0 ± 3,32 c
URPE-19	12,0 ± 2,00 cd	77,0 ± 1,22 ab	14,0 ± 1,87	26,0 ± 2,45 c
<i>B. bassiana</i>				
CPATC 053	57,0 ± 8,45 b	43,0 ± 8,45 cd	10,0 ± 1,58	67,0 ± 8,60 b
ESALQ 900	30,0 ± 3,16 c	70,0 ± 3,16 ab	6,0 ± 1,87	36,0 ± 4,85 c
ESALQ 447	27,0 ± 3,00 cd	73,0 ± 3,00 ab	10,0 ± 3,53	37,0 ± 2,55 c
CPATC 057	25,0 ± 4,74 cd	75,0 ± 4,74 ab	7,0 ± 1,22	32,0 ± 4,06 c
CG 001	17,0 ± 4,36 cd	75,0 ± 6,89 ab	9,0 ± 1,00	26,0 ± 4,30 c
Testemunha	-	93,0 ± 2,54 a	-	-
	$F_{9,40} = 26,2^{<0,001}$	$F_{10,44} = 39,7^{<0,001}$	$F_{9,40} = 1,7^{=0,111}$	$F_{9,40} = 23,7^{<0,001}$

¹Porcentagem de lagartas eclodidas que foram contaminadas pelo fungo.

Médias (\pm EPM) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo.

alcançou índice de até 56% (Tabela 4). O isolado URPE-19 causou mortalidade total e confirmada de 56% e 42%, respectivamente, não diferindo dos isolados E9, PL43, URPE-6 de *M. anisopliae* e CPATC 053 de *B. bassiana*, que causaram mortalidade total entre 31% e 46%. O fato de algumas lagartas não apresentarem esporulação não descarta totalmente a possibilidade de elas terem sido mortas pelos fungos. Eventuais fissuras no tegumento, provocadas pela manipulação durante a transferência desses cadáveres para a câmara úmida, por exemplo, contribuem para uma ação rápida de bactérias decompositoras sobre os cadáveres, impedindo a esporulação do fungo (Tamai et al 2002).

Houve variação na eficiência dos isolados com relação aos diferentes estágios de desenvolvimento de *T. absoluta*, sendo o isolado URPE-6 o mais eficiente no controle de ovos e o isolado URPE-19 de lagartas.

A análise de probit mostrou que a CL_{50} obtida para o isolado URPE-6 foi de $3,5 \times 10^4$ conídios ml^{-1} ; ($\beta \pm EP2 = 2,26 \pm 0,22$; $\chi^2_{2,3} = 2,49$; $P^3 = 0,476$), com intervalos entre 3×10^4 e 4×10^4 conídios ml^{-1} (Tabela 5). Os dados aqui observados foram menores que aqueles obtidos por Rodríguez et al (2006a), que obtiveram CL_{50} de 10^7 conídios ml^{-1} para o isolado Qu-M558, considerado o mais virulento. Diferenças na virulência de fungos entomopatogênicos podem ser atribuídas à especificidade, variabilidade genética dos isolados e tolerância do hospedeiro (Alves 1998, Rohde et al 2006). Os resultados obtidos com relação à CL_{50} do isolado URPE-6 de *M. anisopliae*, podem sugerir elevada virulência do isolado a ovos de *T. absoluta*, visto a sua capacidade de germinar e penetrar o córion em um período de até 6h após o tratamento (Pires et al 2009). A rápida germinação

Tabela 4 Porcentagem média (\pm EPM) de mortalidade total e confirmada de lagartas de *Tuta absoluta* tratadas com isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* na concentração de 10^7 conídios ml^{-1} ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12h).

Isolados	MT ¹ (%) lagartas	MC ² (%) lagartas
<i>M. anisopliae</i>		
URPE-19	56,0 ± 3,71 a	42,0 ± 6,29 a
E9	46,0 ± 1,63 ab	36,0 ± 3,05 ab
PI43	45,0 ± 2,69 ab	35,0 ± 2,24 ab
URPE-6	38,0 ± 5,33 abc	20,0 ± 2,98 bc
PL47	31,0 ± 1,79 bcd	22,0 ± 1,33 abc
<i>B. bassiana</i>		
CPATC 053	37,0 ± 3,66 abc	35,0 ± 3,07 ab
CG 001	32,0 ± 2,90 bcd	25,0 ± 3,72 abc
ESALQ 447	26,0 ± 2,21 cde	18,0 ± 2,00 c
CPATC 057	20,0 ± 2,11 de	13,0 ± 1,53 cd
ESALQ 900	14,0 ± 1,63 e	8,0 ± 2,00 d
Testemunha	7,0 ± 3,00 f	-
	$F_{10,99} = 24,9^{<0,001}$	$F_{9,90} = 11,1^{<0,001}$

¹MT = Mortalidade total; ²MC = Mortalidade confirmada.

Médias (\pm EPM) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 5 Porcentagem de ovos de *Tuta absoluta* infectados após tratamento com diferentes concentrações de *Metarhizium anisopliae* isolado URPE-6 e concentração letal média, em laboratório ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Concentrações (conídios ml^{-1})	Infecção de ovos (%)
Testemunha	00,0 \pm 0,00 d
1 x10 ⁴	13,7 \pm 8,53 cd
3 x10 ⁴	37,5 \pm 22,17 c
6 x10 ⁴	70,0 \pm 10,80 b
1 x10 ⁵	87,5 \pm 11,90 ab
1 x10 ⁶	100,0 \pm 0,00 a
C.V.	27,7

¹CL₅₀ = Concentração letal / I.C. = Intervalo de confiança a 95%. Significância a 5% de probabilidade.

e penetração no corpo do hospedeiro são características importantes para a virulência das linhagens (Garcia *et al* 2004).

Com relação ao efeito dos inseticidas utilizados para o controle de *T. absoluta* sobre os isolados URPE-6 e URPE-19 de *M. Anisopliae*, os parâmetros estudados variaram para cada isolado, dependendo do produto e concentração utilizada. A germinação de conídios dos isolados URPE-6 e URPE-19 não foi afetada pelos inseticidas testados nas concentrações estudadas (Tabelas 6 e 7). A germinação é tida por alguns autores como um fator importante que deve ser considerado em relação à compatibilidade com produtos químicos em condições de campo (Hirose *et al* 2001, Neves *et al* 2001). Assim, se ocorrer inibição da germinação, a eficiência de controle será comprometida, seja em aplicações inundativas ou se o fungo estiver naturalmente presente no agroecossistema (Silva *et al* 2005).

O inseticida clorfenapir não inibiu o crescimento vegetativo em todas as concentrações testadas, assim como de indoxacarbe e espinosade na concentração de 0,25x, sobre o isolado URPE-6. Abamectina causou a maior redução nos diâmetros das colônias em todas as concentrações, com valores variando de 13,5% a 22% (Tabela 6). Para o isolado URPE-19, apenas espinosade em todas as concentrações não proporcionou reduções nos diâmetros das colônias. Os demais tratamentos diferiram da testemunha, sendo clorfenapir (1x) o que causou maior efeito no crescimento

Tabela 6 Efeito de três concentrações de inseticidas, sobre a germinação, crescimento vegetativo e número de conídios produzidos pelo isolado URPE-6 de *Metarhizium anisopliae* ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Tratamento	Concen- tração	Germinação ¹		Crescimento vegetativo ²		Número de conídios ²		IB ³	C ⁴
		(%) ^{ns}	Redução (%)	(cm^2)	Redução (%)	($\text{X} \times 10^7$)	Redução (%)		
Testemunha	-	99,7 \pm 0,10	0,00	5,4 \pm 0,04 a	0,00	10,7 \pm 0,36 a	0,00	-	-
Clorfenapir	0,25x	99,5 \pm 0,21	-0,18	5,3 \pm 0,07 ab	-2,04	3,5 \pm 0,44 d	-67,32	70	C
	0,5x	99,3 \pm 0,05	-0,43	5,2 \pm 0,05 ab	-2,22	3,2 \pm 0,42 d	-69,65	68,9	C
	1x	99,2 \pm 0,10	-0,51	5,2 \pm 0,05 ab	-3,52	3,3 \pm 0,11 d	-68,44	68,8	C
Espinosaide	0,25x	99,6 \pm 0,15	-0,08	5,2 \pm 0,04 ab	-3,89	10,6 \pm 0,64 a	-1,31	97,6	C
	0,5x	99,3 \pm 0,06	-0,45	5,1 \pm 0,04 bc	-5,74	8,7 \pm 0,55 ab	-18,81	89,2	C
	1x	99,3 \pm 0,06	-0,45	5,0 \pm 0,02 bc	-7,4	6,1 \pm 0,76 bc	-43,02	77,9	C
Indoxacarbe	0,25x	99,7 \pm 0,10	0	5,2 \pm 0,07 ab	-2,96	10,7 \pm 0,72 a	-0,38	98,4	C
	0,5x	99,4 \pm 0,15	-0,35	5,1 \pm 0,01 bc	-5,74	4,0 \pm 0,43 cd	-62,57	70,3	C
	1x	99,3 \pm 0,05	-0,43	5,0 \pm 0,03 bc	-7,21	3,8 \pm 0,16 cd	-27,1	68,8	C
Abamectina	0,25x	99,5 \pm 0,21	-0,20	4,6 \pm 0,05 ef	-13,5	4,0 \pm 0,25 cd	-62,48	66,7	C
	0,5x	99,2 \pm 0,35	-0,51	4,4 \pm 0,04 f	-17,01	3,8 \pm 0,42 cd	-64,25	64,3	T
	1x	99,1 \pm 0,23	-0,64	4,2 \pm 0,04 g	-22,00	2,5 \pm 0,26 d	-76,36	56,7	T
Nim	0,25x	98,8 \pm 0,33	-0,89	4,8 \pm 0,06 cde	-9,399	4,4 \pm 0,50 cd	-58,38	70,1	C
	0,5x	99,5 \pm 0,11	-0,20	4,7 \pm 0,09 ed	-12,02	3,2 \pm 0,33 d	-70,21	64,1	T
	1x	98,9 \pm 0,18	-0,83	4,9 \pm 0,04 cde	-9,43	2,8 \pm 0,53 d	-73,65	63,8	T
		F _{15,48} = 2,1 ^{-0,02}		F _{15,80} = 34,4 ^{<0,0001}		F _{15,80} = 34,1 ^{<0,0001}			

¹n = 4; ²n = 6; ³IB = Índice biológico. Valor IB, segundo Alves *et al* (2007); ⁴C = classificação: C = compatível; T = tóxico. Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo.

Tabela 7 Efeito de três concentrações de inseticidas, sobre a germinação, crescimento vegetativo e número de conídios do isolado URPE-19 de *Metarhizium anisopliae* ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h).

Tratamento	Concentração	Germinação ¹		Crescimento vegetativo ²		Número de conídios ²		IB ³	C ⁴
		(%) ^{ns}	Redução (%)	(cm ²)	Redução (%)	(X x 10 ⁷)	Redução (%)		
Testemunha	-	99,4 ± 0,18	0,00	5,2 ± 0,04 a	0,00	15,2 ± 1,23 a	0,00	-	-
Clorfenapir	0,25x	98,9 ± 0,41	-4,03	4,7 ± 0,04 bcd	-8,47	12,5 ± 0,63 ab	-17,57	88,0	C
	0,5x	99,1 ± 0,32	-5,29	4,5 ± 0,08 cdef	-12,50	7,0 ± 0,48 fgh	-53,75	70,4	C
	1x	98,8 ± 0,15	-5,42	4,0 ± 0,08 g	-23,08	1,6 ± 0,19 i	-89,40	50,1	T
Espinosade	0,25x	99,1 ± 0,26	-0,32	5,0 ± 0,07 ab	-2,70	9,9 ± 0,31 bcd	-34,41	83,9	C
	0,5x	98,9 ± 0,25	-0,51	5,1 ± 0,0 a	-0,40	9,7 ± 0,37 bcde	-35,93	84,3	C
	1x	98,8 ± 0,21	-0,63	4,9 ± 0,04 abc	-5,77	5,2 ± 0,40 h	-65,47	69,1	C
Indoxacarbe	0,25x	99,1 ± 0,29	-0,32	4,5 ± 0,05 def	-13,27	11,3 ± 0,65 bc	-25,53	82,7	C
	0,5x	99,0 ± 0,11	-0,38	4,6 ± 0,09 cde	-11,16	8,8 ± 0,46 cdef	-41,91	76,6	C
	1x	99,0 ± 0,32	-0,44	4,6 ± 0,07 cde	-11,16	7,2 ± 0,52 efg	-52,37	72,2	C
Abamectina	0,25x	99,1 ± 0,07	-0,32	4,3 ± 0,07 ef	-15,58	8,1 ± 0,43 defg	-46,32	72,7	C
	0,5x	98,8 ± 0,11	-0,63	4,5 ± 0,03 cde	-12,31	6,3 ± 0,21 gh	-44,94	74,8	C
	1x	98,7 ± 0,15	-0,67	4,4 ± 0,07 def	-14,62	6,1 ± 0,45 gh	-59,35	67,5	C
Nim	0,25x	98,7 ± 0,59	-0,68	4,7 ± 0,10 bc	-7,89	6,9 ± 0,75 fgh	-54,41	72,8	C
	0,5x	98,6 ± 0,37	-0,82	4,5 ± 0,11 cdef	-12,50	5,3 ± 0,21 h	-64,54	66,3	C
	1x	98,6 ± 0,48	-0,76	4,2 ± 0,06 fg	-18,47	5,2 ± 0,12 h	-65,79	62,9	T
		F _{15,48} = 0,5 ^{0,92}		F _{15,80} = 18,7 ^{<0,0001}		F _{15,80} = 46,6 ^{<0,0001}			

¹n = 4; ²n = 6; ³IB = Índice biológico. Valor IB, segundo Alves *et al* (2007); ⁴C = classificação: C = compatível; T = tóxico. Médias (± EP) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo.

vegetativo, com redução de 23,1% (Tabela 7).

A conidiogênese do isolado URPE-6 não foi afetada por indoxacarbe (0,25x), e espinosade (0,25x e 0,5x). As reduções mais significativas ocorreram nos tratamentos abamectina e nim em todas as concentrações utilizadas (Tabela 6). Com relação ao isolado URPE-19, a conidiogênese não foi afetada por clorfenapir (0,25x), sendo este o único tratamento que não diferiu da testemunha. O menor número de conídios foi observado para clorfenapir (1x), que provocou redução de 89,4%, seguido de nim (0,50x e 1x) e espinosade (1x) (Tabela 7).

De acordo com os valores de IB determinados neste estudo para o isolado URPE-6 de *M. anisopliae*, apenas os inseticidas abamectina (0,5x e 1x) e nim (0,5x e 1x) foram considerados tóxicos (Tabela 6). Para o isolado URPE-19, todos os inseticidas foram classificados como compatíveis, exceto clorfenapir e nim, na concentração mais elevada (Tabela 7).

A incompatibilidade do nim com isolados de *M. anisopliae* já havia sido relatada anteriormente, visto que esse produto afetou o crescimento vegetativo, esporulação e germinação de conídios desse entomopatogênico (Hirose *et al* 2001, Marques *et al* 2004, Araujo Jr *et al* 2009).

O inseticida abamectina (0,5 e 1x) apresentou toxicidade

apenas ao isolado URPE-6. Pesquisas realizadas utilizando a mesma formulação indicaram ser este produto compatível a outros isolados de *M. anisopliae* (Loureiro *et al* 2002, Oliveira *et al* 2002), dependendo da concentração utilizada. Clorfenapir foi compatível com os dois isolados, sendo tóxico apenas na maior concentração para o isolado URPE-19. O efeito tóxico de clorfenapir sobre *M. anisopliae* também foi observado por Oliveira *et al* (2002), quando a germinação do patógeno foi reduzida em 44,3%.

O desenvolvimento de estudos sobre novas estratégias de controle que possam complementar o Manejo Integrado de *T. absoluta* torna-se importante, pois pode contribuir para diminuição da aplicação de inseticidas na cultura do tomate. Boiça Jr *et al* (2007), comparando diferentes táticas de controle de pragas tardias em cultivares de tomateiro de crescimento indeterminado, observaram que a utilização de um conjunto de táticas no manejo integrado foi eficiente, levando à redução do número de pulverizações em até 77% e um incremento na produção de até 74%. A utilização de entomopatogênico representa uma alternativa de controle, sendo que o fungo *M. anisopliae* pode ser utilizado para o controle de *T. absoluta*, principalmente no estágio de ovo, sendo mais uma estratégia para o manejo integrado da praga. A associação desse entomopatogênico com inseticidas

compatíveis pode vir a aumentar sua eficiência contribuindo para a redução do uso de inseticidas.

Agradecimentos

Ao Prof^o Marcelo C Picanço (UFV) pela orientação na escolha e envio dos inseticidas utilizados na pesquisa. Ao Prof^o Jorge B Torres (UFRPE), pelo suporte nas análises estatísticas. Ao Prof^o Herbert Álvaro A Siqueira (UFRPE), pela colaboração na elaboração do abstract e à CAPES pelo apoio financeiro.

Referências

- Alizadeh A, Samih MA, Khezri M, Riseh R S (2007) Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with several pesticides. *Int J Agri Biol* 9:31-34.
- Alves S B, Almeida J E M, Moino Jr A, Alves L F A (1998a) Técnicas de laboratório, p.637-711. In Alves S B (ed) Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves S B, Leucona R E (1998) Epizootiologia aplicada ao controle de insetos, p.97-163. In Alves S B (ed) Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves S B, Moino Jr A, Almeida J E M (1998b) Produtos fitossanitários e entomopatógenos, p. 217-238. In Alves S B (ed) Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Araujo Jr J M, Marques E J, Oliveira J V (2009) Potencial de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do óleo de nim no controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). *Neotrop Entomol* 38: 520-525.
- Boiça Jr, Leal A, Macedo M A A, Torres A L, Angelini M R (2007) Late pest control in determinate tomato cultivars. *Sci Agric* 64: 589-594.
- Borgoni P C, Silva R A da, Carvalho G S (2003) Consumo do mesófilo foliar de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1971) (Lepidoptera: Gelechiidae) em três cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. *Cienc Rur* 33:7-11.
- Carvalho GA, Fuini L C, Rocha L C D, Reis P R, Moraes J C, Ecole C C (2003) Avaliação da seletividade de inseticidas utilizados na tomaticultura a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Rev Ecosistema* 28: 23-30.
- Coelho M C F, França F H (1987) Biologia, quetotaxia da larva e descrição do adulto da traça do tomateiro. *Pesq Agropec Bras* 22: 129-135.
- Garcia M V, Monteiro A C, Szabo M P (2004) Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. *Cienc Rur* 34: 1513-1518.
- Giustolin T A, Vendramim J D, Alves S B, Vieira S A (2001) Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) criada em dois genótipos de tomateiro. *Neotrop Entomol* 30: 417-421.
- Hirose E, Neves P M O J, Zequi J A C, Martins L H, Peralta C H, Moino Jr A (2001) Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Braz Arch Biol Technol* 44: 419- 423.
- Latorraca A, Marques G J G, Sousa K V, Fornés N S (2008) Agrotóxicos utilizados na produção do tomate em Goiânia e Goianópolis e efeitos na saúde humana. *Com. Ciências Saúde* 19: 365-374.
- Loureiro E S, Moino Jr A, Arnosti A, Souza G C (2002) Effect of chemical products used in lettuce and chrysanthemum on entomopathogenic fungi. *Neotrop Entomol* 31: 263-269.
- Luke B M, Bateman R P (2006) Effects of chemical and botanical insecticides used for locust control on *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* conidia after short- to medium-term storage at 30°C. *Biocontrol Sci Technol* 16: 761-766.
- Marques R P, Monteiro A C, Pereira G T (2004) Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de nim (*Azadirachta indica*). *Cienc Rur* 34: 1675-1680.
- Michereff Filho M, Vilela E F (2001) Traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), p.81-84. In Vilela E F, Zucchi R A, Cantor F (eds) Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil. Ribeirão Preto, Holos Editora, 173p.
- Neves P M O J, Hirose E, Tchujo P T, Moino Jr A (2001) Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Neotrop Entomol* 30: 263-268.
- Oliveira C N, Neves P M O J, Guzzo E C, Alves V S (2002) Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos. *Semina Cienc Agrar* 23: 211-216.
- Picanço M, Faleiro F G, Pallini Filho A, Matioli A L (1997) Perdas na produtividade do tomateiro em sistemas alternativos de controle fitossanitário. *Hortic Bras* 15: 88-91.
- Picanço M, Leite G L D, Guedes R N C, Silva E A (1998) Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing. *Crop Prot* 17: 447-452.
- Pires L M, Marques E J, Wanderley-Teixeira V, Teixeira A A C, Alves L C, Alves S B (2009) Ultrastructure of *Tuta absoluta* parasitized eggs and the reproductive potential of females after parasitism by *Metarhizium anisopliae*. *Micron* 40: 255-261.
- Rodríguez M S, Gerding M P, France A (2006a) Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agric Téc (Chile)* 66: 151-158.
- Rodríguez M S, Gerding M P, France A (2006b) Efectividad de aislamientos de hongos entomopatógenos sobre larvas de polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agric Téc (Chile)* 66: 159-165.
- Rodríguez-Rueda D, Fargues, J (1980) Pathogenicity of entomopathogenic hyphomycetes, *Paecilomyces fumosoroseus* and *Nomuraea rileyi*, to eggs of noctuids, *Mamestra brassicae* and *Spodoptera littoralis*. *J Invertebr Pathol* 3: 399-408.

- Rohde C, Alves L F A, Neves P M O J, Alves S B, Silva E R L, Almeida J E M (2006) Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop Entomol 35: 231-240.
- Rossi-Zalaf L S, Alves S B, Lopes R B, Neto S S, Tanzini M R (2008) Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, p.279-302. In Alves S B, Lopes R B (ed) Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba, FEALQ, 414p.
- Santos A B S, Silva T F B, Santos A C, Paiva L M, Lima E A L A (2009) Efeito fungitóxico do óleo de nim sobre *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. Caatinga 22: 17-22.
- SAS Institute (1999-2001). SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc, Cary, North Carolina.
- Silva R Z, Neves P M O J, Santoro P H (2005) Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. Semina Ciênc Agrar 26: 305-311.
- Siqueira H A A, Guedes R N C, Picanço M C (2000) Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agric For Entomol 2: 147-153.
- Tamai M A, Alves S B, Almeida J E M, Faion M (2002) Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Arq Inst Biol 69: 77-84.
- Tanzini M R, Alves S B, Stten A (2002) Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. Arq Inst Biol 69: 65-69.
- Teixeira C A, Lacerda Filho A F, Pereira S, Souza L H, Russo J R (2005) Balanço energético de uma cultura de tomate. Rev Bras Eng Agríc Ambient 9: 429-432.
- Ullé J A, Nakano O (1994) Avaliação do dano de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:Gelechiidae) em plantas de tomateiro com diferentes níveis de infestação. An Soc Entomol Brasil 23: 155-160

Received 27/X/08. Accepted 18/VI/10.
