

TESTE DE COMPATIBILIDADE DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO COM DEFENSIVOS QUÍMICOS *IN VITRO*

Carolyne Luize Cândido da Silva ¹
Islaine Oliveira Costa ¹
Alexandre de Moura Guimarães ²
Susi Meire Maxmino Leite ²

RESUMO

Este trabalho avalia *in vitro* a compatibilidade entre os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* com defensivos agrícolas e adjuvantes amplamente utilizados, visando subsidiar estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP). Foram realizados testes de crescimento em meio BDA contendo três inseticidas (Bold, Curbix e Premio Star) e três adjuvantes (Atumus, Rodeio e Super Gun), com comparação estatística em relação ao controle. Foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e teste de Scheffé para classificar os efeitos como sinérgicos, aditivos ou antagônicos. Os resultados mostraram alta frequência de antagonismo, especialmente com os inseticidas, com destaque para Bold e Curbix, que inibem totalmente o crescimento dos dois fungos. Em contrapartida, os adjuvantes Atumus e Super Gun apresentam efeitos sinérgicos, particularmente sobre *M. anisopliae*. Foi observado que *B. bassiana* é mais sensível aos compostos testados, enquanto *M. anisopliae* mostra maior tolerância.

1 INTRODUÇÃO

O manejo eficaz de pragas é um pilar fundamental para a segurança alimentar e a sustentabilidade da produção agrícola global. Historicamente, o controle de insetos-praga tem dependido fortemente do uso de defensivos agrícolas sintéticos. Embora eficazes em curto prazo, seu uso contínuo e, por vezes, indiscriminado, tem levado a consequências negativas bem documentadas, incluindo o desenvolvimento de resistência nas populações de pragas, o impacto adverso sobre organismos não-

¹ Discente em Mecanização em Agricultura de Precisão na FATEC Pompeia, Pompeia-SP,

² Docentes do curso Mecanização em Agricultura de Precisão, FATEC Pompeia, Pompeia-SP.

alvo, como polinizadores e inimigos naturais, e a contaminação ambiental (Halder et al., 2012; Liu, 2015). Esses desafios impulsionam a busca por alternativas mais sustentáveis e ecologicamente corretas.

Nesse contexto, o controle biológico utilizando fungos entomopatogênicos surge como uma ferramenta promissora. Gêneros como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* são amplamente reconhecidos por sua capacidade de infectar e matar uma vasta gama de insetos-praga (Rai et al., 2014; Tiago et al., 2014), agindo através da penetração da cutícula, colonização interna e produção de toxinas. Além disso, podem colonizar tecidos vegetais como fungos endofíticos, conferindo benefícios adicionais às plantas (Behie et al., 2015; Greenfield et al., 2016). Segundo Chadler et al. (2011), sua especificidade relativa e segurança aparente os tornam componentes valiosos em estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

No entanto, a transição completa para o controle biológico nem sempre é viável ou suficiente, dada a complexidade e, por vezes, a inconsistência dos resultados em diferentes cenários agrícolas (Midthassel et al., 2016). Estratégias de MIP frequentemente envolvem a integração de diferentes métodos de controle, incluindo o uso combinado ou sequencial de agentes biológicos e defensivos químicos. A viabilidade dessa integração depende crucialmente da compatibilidade entre os componentes (Pelizza; Scorsetti, 2015). É essencial entender como os defensivos agrícolas e os adjuvantes afetam a viabilidade, o crescimento e a virulência dos fungos entomopatogênicos, pois a exposição a compostos incompatíveis pode inibir seu desenvolvimento e comprometer sua eficácia (Akbar et al., 2012, citado em Yadav et al., 2019).

Estudos prévios investigaram a interação entre agentes biológicos e alguns grupos químicos. Halder et al. (2021), por exemplo, avaliaram a compatibilidade e a eficácia combinada de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Lecanicillium lecanii* com inseticidas neonicotinoides *in vivo*, observando compatibilidade e ação sinérgica que resultou em controle mais rápido da praga (*Myzus persicae*) e sugeriu a possibilidade de reduzir as doses químicas aplicadas. Outros estudos também indicaram compatibilidade desses fungos entomopatogênicos com neonicotinoides (Neves et al., 2001, citado em Yadav et al. 2019) e avaliaram interações *in vitro* com alguns outros inseticidas (Faraji et al., 2016; Khorasiya et al., 2018).

Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar, *in vitro*, as interações entre

os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e uma seleção de adjuvantes e defensivos agrícolas pertencentes às classes químicas neonicotinoide, piretróide, antranilamida e fenilpirazol, com foco principal na análise de número de colônias dos fungos em meios de cultura contendo esses compostos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Química e Fitossanidade da Fatec Pompeia, localizado na Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia, em Pompeia, SP. Os ensaios de compatibilidade foram estruturados para avaliar o crescimento dos microrganismos de interesse em meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA), contendo individualmente cada produto testado. Os resultados obtidos foram comparados a um controle negativo, constituído exclusivamente pelo meio BDA, sem adição de defensivo ou adjuvante.

A aplicação dos produtos seguiu a dosagem recomendada na bula, baseada na taxa de aplicação de referência de 100 L ha⁻¹. A incorporação dos produtos ao meio de cultura foi realizada após o processo de esterilização em autoclave, com o auxílio de seringa graduada como dosadora, a uma temperatura aproximada de 60°C. Ao todo, foram avaliadas 3 formulações de defensivos químicos e 3 tipos distintos de adjuvantes (Tabela 1), testadas isoladamente. Para cada tratamento, foram preparadas dez placas de Petri como repetições experimentais, garantindo robustez estatística aos resultados obtidos.

O processo de inoculação foi realizado utilizando-se dois discos de 0,5 cm de meio de cultura, como demonstrado na Figura 1, extraídos de placas de Petri previamente inoculadas com os agentes de controle biológico. Estas placas foram produzidas no próprio laboratório a partir de culturas puras fornecidas pelo pesquisador Dr. José Eduardo Marcondes, do Instituto Biológico (IB). Todas as etapas de manipulação dos microrganismos e inoculação ocorreram em uma câmara de fluxo laminar, previamente esterilizada com etanol 70% e exposição à luz UV por ao menos 15 minutos antes do início do procedimento.

Tabela 1 - Lista de produtos utilizados em teste de compatibilidade com os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em meio de cultura.

DEFENSIVOS			
Produto	Classe	Ingrediente Ativo (i.a.)	Dose de p.c. (L/ha)
Bold	Inseticida	Fenpropatrina e Acetamiprido	3
Curbix	Inseticida	Etiprole	1,5 a 3
Premio Star	Inseticida	Bifentrina e Clorantraniliprole	1,5 a 1,7
ADJUVANTES			
Nome Comercial	Classe de Produto	Empresa	Dose (% v/v)*
Atumus	Multiclasses	Tander Gold Star	0,30
Rodeio	Multiclasses	West Fertilizantes	0,25
Super Gun	Multiclasses	Grap	0,50

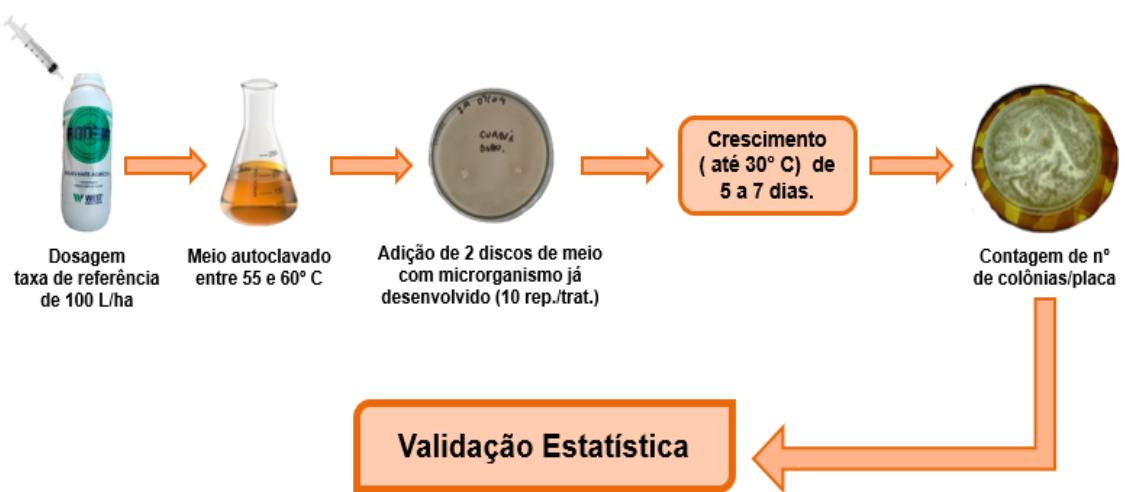
*Foi utilizada a maior dose recomendada pelo fabricante.

Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas em um local escuro e com temperatura não superior a 30°C, por um período de 5 a 7 dias. Ao término desse período, procedeu-se à avaliação do crescimento dos microrganismos. A análise de desenvolvimento dos agentes de controle foi realizada por meio da contagem do número de colônias formadas em cada placa, comparando-se os resultados com aqueles obtidos no grupo controle (testemunha), conforme metodologia descrita por Alves et al. (1998).

As variações observadas em relação ao tratamento controle foram estatisticamente validadas ($p < 0,05$) por meio da análise de variância (ANOVA), complementada pelo teste de comparações múltiplas de Scheffé, precedidas pela verificação da normalidade dos dados utilizando o teste de Shapiro-Wilk, testes estes realizados no software Jamovi versão 2.3.38. A interação entre o agente biológico de controle e o produto químico foi considerada aditiva quando a análise estatística não revelou diferenças significativas entre a formulação combinada e o tratamento controle quanto ao número de colônias cultivadas em placas de Petri. Nos casos em que a análise indicou diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% de

probabilidade, o efeito foi classificado como antagônico quando a adição do produto resultou em uma redução na quantidade de colônias, enquanto um aumento expressivo desse parâmetro foi interpretado como um efeito sinérgico.

Figura 1- Fluxograma com a metodologia para avaliação *in vitro* da ação de adjuvantes e defensivos químicos sobre *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*.



Fonte: Autores

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos avaliados apresentaram um espectro variado de interações com os fungos entomopatogênicos, incluindo efeitos sinérgicos, aditivos e antagônicos (Tabela 2). Interações antagônicas, por vezes severas ao ponto de inibição total (100%) do crescimento fúngico, foram frequentemente observadas, principalmente na associação com os inseticidas testados. Contudo, também foram identificadas interações aditivas e sinérgicas, estas últimas especialmente com determinados adjuvantes, indicando potenciais compatibilidades.

Conforme indicado na Tabela 2, o fungo *Metarhizium anisopliae* demonstrou menor sensibilidade aos adjuvantes avaliados, evidenciado pelo efeito sinérgico observado em dois dos três produtos testados. Embora não tenha sido localizado estudos sobre a ação de adjuvantes agrícolas sobre os fungos de interesse neste trabalho, Arnosti et al. (2019) demonstraram que adjuvantes podem afetar a germinação e a eficácia de *Isaria fumosorosea*. Em contraste, *Beauveria bassiana* apresentou um padrão de resposta distinto aos adjuvantes, exibindo menos

interações sinérgicas e mais efeitos aditivos em comparação com *M. anisopliae* nas condições testadas. Especificamente, o adjuvante Super Gun exibiu uma resposta diferenciada – sinérgica para *M. anisopliae* e aditiva para *B. bassiana* –, indicando a ocorrência de interações específicas entre os componentes químicos de sua formulação e a fisiologia de cada espécie fúngica. Tal especificidade é biologicamente plausível e consistente com a literatura, pois adjuvantes podem influenciar processos biológicos de fungos entomopatogênicos para além da simples compatibilidade física. Portanto, considerando as diferenças biológicas inerentes entre *M. anisopliae* e *B. bassiana*, infere-se que a interação com os componentes do Super Gun desencadeia respostas fisiológicas distintas em cada espécie, o que explicaria os diferentes tipos de efeito sinérgico e aditivo observados.

Tabela 2- Resultado de compatibilidade entre *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* obtidos para a adição de adjuvantes e defensivos ao meio de cultura.

Produto Comercial	<i>M. anisopliae</i>			<i>B. bassiana</i>	
	Classe do Produto	Média (%) [*]	Tipo de Efeito	Média (%) [*]	Tipo de Efeito
Atumus	Adjuvante	84,15	Sinérgico	276,73	Sinérgico
Rodeio	Adjuvante	-5,30	Aditivo	-4,82	Aditivo
Super Gun	Adjuvante	136,64	Sinérgico	-10,57	Aditivo
Bold	Inseticida	-100,00	Antagônico	-100,00	Antagônico
Curbix	Inseticida	-100,00	Antagônico	-100,00	Antagônico
Premio Star	Inseticida	-14,46	Aditivo	-100,00	Antagônico

Fonte: Autores

Nota: Média relativa do número de colônias em placas de Petri entre tratamento e testemunha, dado em percentual

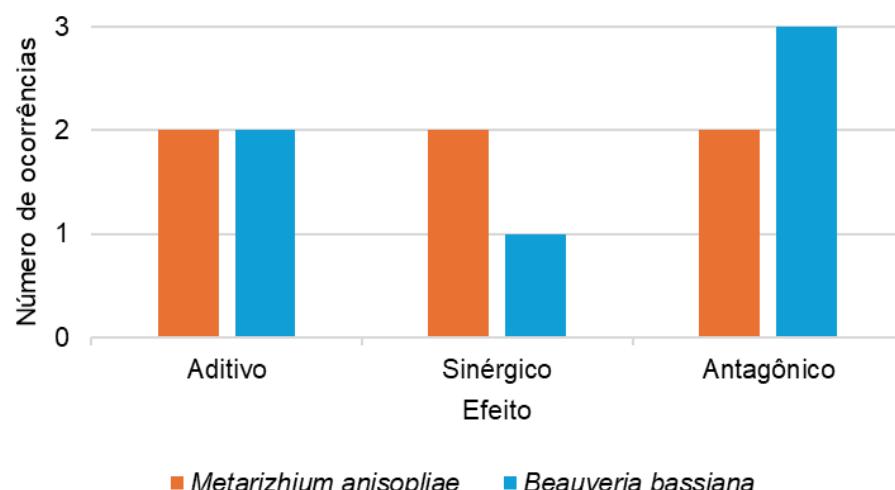
Diferentemente do Rodeio, o Atumus demonstrou forte sinergismo com ambos os agentes de controle, promovendo um crescimento médio superior a duas vezes o número de colônias. Esse tipo de resposta é particularmente relevante em condições de campo, pois pode amplificar a eficácia do agente de controle no manejo de pragas, incrementando sua eficiência inseticida, estimulando de forma comprovada o desenvolvimento do fungo em relação ao controle (Tabela 2).

A integração bem-sucedida de fungos entomopatogênicos em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) depende fundamentalmente da compatibilidade

com outros insumos agrícolas (Pelizza; Scorsetti, 2015). Os resultados *in vitro* desse estudo fornecem informações diretas e estatisticamente comprovadas sobre essas interações para os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* com os adjuvantes e inseticidas testados, revelando uma alta frequência de antagonismo para os defensivos da classe inseticida. A fungitoxicidade de adjuvantes aparenta ser menos severa, como já demonstrado por Souza et al (2024), uma vez que esses produtos testados mostraram-se sinérgicos ou aditivos. Essa prevalência de incompatibilidade, contrastando com casos específicos de sinergia, demonstra a importância crítica da seleção cuidadosa de produtos para compor a mesma calda de pulverização.

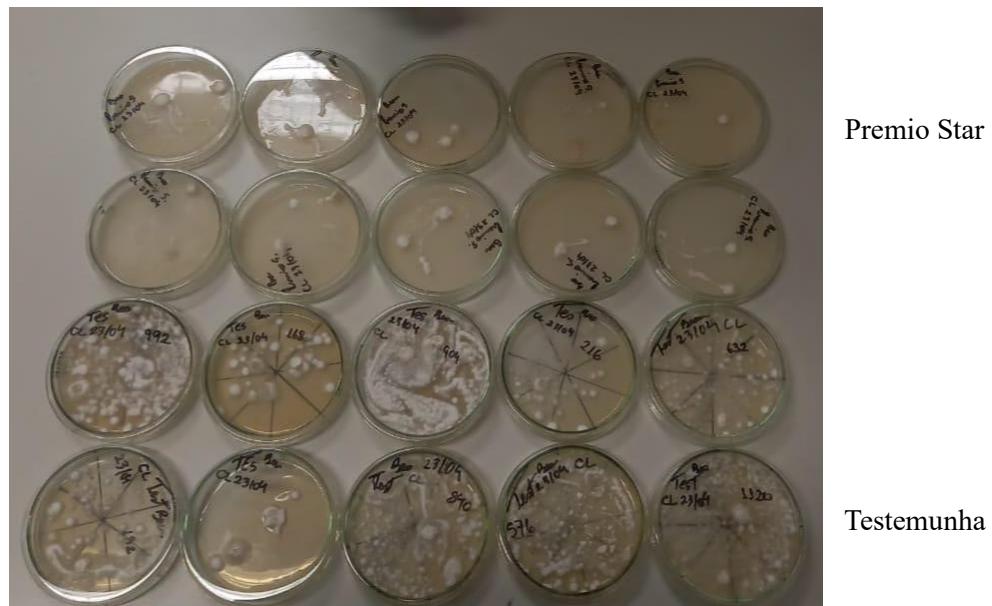
As diferenças entre as espécies fúngicas foram claramente evidenciadas pelos dados. *Beauveria bassiana* apresentou a maior taxa de antagonismo geral, com 50,0% dos produtos testados impactando negativamente seu crescimento (Gráfico 1). Além disso, demonstrou maior sensibilidade a determinados produtos, como Super Gun, que exibiu efeito sinérgico para *Metarhizium anisopliae*, e aditivo para *B. bassiana*. Outro exemplo relevante foi Premio Star, que causou inibição total (-100%) em *B. bassiana* (Figura 2), enquanto reduziu o crescimento de *M. anisopliae* em apenas -14,46% (Figura 3), mas afetou a maturação do fungo, retardando o início da esporulação. Esses resultados destacam a importância de testes de compatibilidade específicos para cada combinação entre fungo e produto químico, garantindo a eficácia do controle biológico sem comprometer a viabilidade dos microrganismos utilizados (Chandler et al., 2011).

Gráfico 1- Frequência de cada tipo de interação tendo em vista os 6 produtos testados.



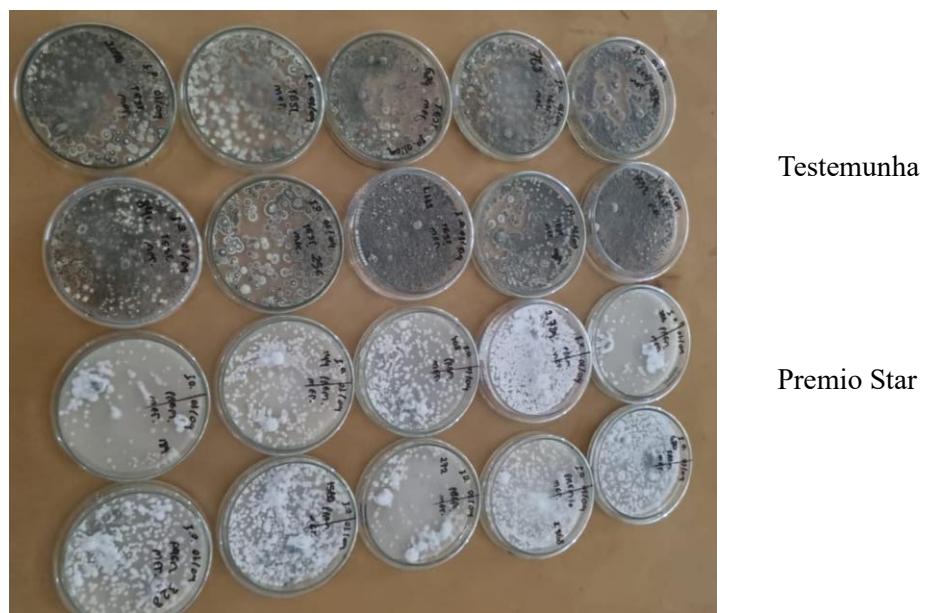
Fonte: Autores

Figura 2- Desenvolvimento de *Beauveria bassiana* em meio BDA puro (Testemunha) e com o inseticida Premio Star, mostrando forte antagonismo.



Fonte: Autores

Figura 3- Desenvolvimento de *Metarhizium anisopliae* em meio BDA puro (Testemunha) e com o inseticida Premio Star, mostrando efeito aditivo.



Fonte: Autores

Os resultados obtidos devem ser interpretados no contexto de testes realizados com esporos de fungos, e não com formulações comerciais de produtos biológicos, em avaliações conduzidas exclusivamente sob condições de desenvolvimento *in vitro* desses agentes de controle. Embora esses ensaios sejam úteis para uma triagem

inicial e para a identificação de efeitos de toxicidade direta, eles não reproduzem integralmente a complexidade das interações que ocorrem no ambiente agrícola (Midthassel et al., 2016). Variáveis como condições ambientais, comportamento na planta hospedeira e do inseto-alvo podem influenciar significativamente os efeitos observados. No entanto, a incompatibilidade estatisticamente demonstrada dos inseticidas Curbix, Bold e Premio Star neste estudo constitui um indicativo substancial do risco associado à sua integração com *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Em contrapartida, o potencial sinérgico evidenciado por adjuvantes como Atumus justifica investigações mais aprofundadas sob condições de campo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que a compatibilidade entre agentes de controle biológico e defensivos químicos varia significativamente em função da formulação utilizada. Observou-se uma alta frequência de interações antagônicas, especialmente entre os inseticidas testados e os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, com casos de inibição total do crescimento fúngico. Por outro lado, os adjuvantes demonstraram maior potencial de compatibilidade, apresentando efeitos sinérgicos ou aditivos em grande parte dos tratamentos, com destaque para o produto Atumus, que promoveu um crescimento expressivo das colônias de ambos os fungos.

As diferenças de resposta entre as espécies fúngicas foram evidentes, com *B. bassiana* sendo mais sensível às formulações testadas, enquanto *M. anisopliae* apresentou maior tolerância e maior frequência de interações positivas. Esses resultados reforçam a importância de testes prévios de compatibilidade antes da formulação de caldas contendo misturas de defensivos químicos e agentes biológicos, de forma a preservar a eficácia do controle biológico e evitar perdas por antagonismo.

5 REFERÊNCIAS

ALVES, S.B. (Ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998a. cap.8, p.217-238.

AKBAR, S.; FREED, S.; HAMEED, A.; GUL, H. T.; AKMAL, M.; MALIK, M. N.; KHAN, M. B. **Compatibility of Metarhizium anisopliae with different insecticides and**

fungicides. African Journal of Microbiology Research, v. 6, p. 3956-3962, 2012.

ARNOSTI, A.; DELALIBERA JUNIOR, I.; CONCESCHI, M. R.; D'ALESSANDRO, C. P.; TRAVAGLINI, R. V.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. **Interactions of adjuvants on adhesion and germination of *Isaria fumosorosea* on adults of *Diaphorina citri*.** Scientia Agricola, Piracicaba, v. 76, n. 6, p. 487-493, Nov./Dec. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-992X-2017-0240>

BEHIE, S. W.; JONES, S. J.; BIDOCHKA, M. J. **Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi Beauveria and Metarhizium.** Fungal Ecology, v. 13, p. 112-119, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.08.001>

CHANDLER, D.; BAILEY, A. S.; TATCHELL, G. M.; DAVIDSON, G.; GREAVES, J.; GRANT, W. P. **The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management.** Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 366, p. 1987-1998, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0390>

FARAJI, S.; SHADMEHRI, A. D.; MEHRVAR, A. **Compatibility of entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae with some pesticides.** Journal of Entomological Society of Iran, v. 36, p. 137-146, 2016.

GREENFIELD, M.; JIMENEZ, M. I. G.; ORTIZ, V.; VEGA, F. E.; KRAMER, M.; PARSA, S. **Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation.** Biological Control, v. 95, p. 40-48, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.002>

HALDER, J.; SRIVASTAVA, C.; DHINGRA, S.; DUREJA, P. **Effect of essential oils on feeding, survival, growth and development of third instar larvae of *Helicoverpa armigera* (Hübner).** National Academy Science Letters, v. 35, n. 4, p. 271-276, 2012.

HALDER, J.; MAJUMDER, S.; RAI, A. B. **Compatibility and combined efficacy of entomopathogenic fungi and neonicotinoid insecticides against *Myzus persicae* (Sulzer): an ecofriendly approach.** ENTOMOLOGIA HELLENICA, v. 30, p. 24-32, 2021.

KHORASIYA, S. G.; RAGHAVANI, K. L.; BHARADIYA, A. M.; BHUT, J. B. **Compatibility of Beauveria bassiana with different insecticides.** International Journal of Chemical Studies, v. 6, p. 556-558, 2018.

LIU, N. **Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions.** Annual Review of Entomology, v. 60, p. 537-559, 2015.

MIDTHASSEL, A.; LEATHER, S. R.; WRIGHT, D. J. **Compatibility of *Amblyseius swirskii* with Beauveria bassiana: two potentially complimentary biocontrol agents.** BioControl, v. 61, p. 437-444, 2016. DOI: <10.1007/s10526-016-9718-3>

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JUNIOR, A. **Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides.** Neotropical

Entomology, v. 30, n. 2, p. 263-268, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000200009>

PELIZZA, S. A.; SCORSETTI, A. C. **Compatibility between entomopathogenic fungi and biorational insecticides in toxicity against *Ronderosia bergi* under laboratory conditions.** BioControl, v. 60, p. 81-91, 2015. DOI: [10.1007/s10526-014-9606-7](https://doi.org/10.1007/s10526-014-9606-7)

RAI, A. B.; LOGANATHAN, M.; HALDER, J.; VENKATARAVANAPPA, V.; NAIK, P. S. **Eco-friendly Approaches for Sustainable Management of Vegetable Pests.** Varanasi: IIVR, 2014a. 104 p. (IIVR Technical Bulletin, n. 53).

SOUSA, F. C.; COSTA, I. S.; GUIMARÃES, A. M.; LEITE, S. M. **M. Desenvolvimento *in vitro* de agentes de controle biológico em mistura com diferentes agroquímicos.** Pompeia, SP: FATEC Pompeia, 2024. 12 p.

TIAGO, Patricia Vieira; OLIVEIRA, Neiva Tinti de; LIMA, Elza Áurea de Luna Alves. **Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 44, n. 4, p. 645-651, abr. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000400012>

YADAV, D. S.; RANADE, Y.; MHASKE, S.; GHULE, S. **Compatibility of insecticides with *Metarhizium brunneum* (Petch) and *Beauveria bassiana* (Bals.) for bio-intensive management of pink mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) in grapes.** Journal of Biological Control, v. 33, n. 3, p. 253-263, 2019. DOI: [10.18311/jbc/2019/22728](https://doi.org/10.18311/jbc/2019/22728)