UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LENITA LIMA HABER

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia, MG
Dezembro de 1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LENITA LIMA HABER

PROF. Dr. JAIRO ROBERTO MENDONÇA LYRA

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia, MG
Dezembro de 1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Avaliação da Compatibilidade do Uso de Agrotóxicos e o Fungo Entomopatogênico Colletotrichum gloeosporioides em Programas de Manejo Integrado de Pragas em Citrus

LENITA LIMA HABER

APROVADO PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 15/12/99 NOTA: 100,00

PROF. Dr. JAIRO R. M. LYRA
ORIENTADOR

PROF. Dr. JOSÉ M. G. FERRAZ
CO-ORIENTADOR

PROF. Dr. ROBERTO CESNIK
CO-ORIENTADOR

Uberlândia, 15 de dezembro de 1999.

Aos meus Pais, Bichir e Zélia,
toda dedicação pelo apoio,
confiança e incentivo nessa árdua
etapa concluída.

Ao meu namorado Nando, pela ajuda nos momentos difíceis, pelo companheirismo e compreensão nas horas de chatice. Obrigada por tudo e por seu Amor.

Agradecimentos Especiais

Ao meu orientador Professor Dr. Jairo Roberto Mendonça Lyra por mostrar-me o caminho, pela amizade, dedicação e apoio durante a elaboração do projeto e da monografia.

Ao Dr. José Maria Gusman Ferraz pela ajuda e confiança depositadas em mim, sem ao menos me conhecer direito,

Ao Dr. Roberto Cesnik, pelos ensinamentos, orientação durante todo o estágio e por acreditar no meu potencial.

À Embrapa Meio Ambiente por ter aberto as portas e possibilitar o estágio.

Agradecimentos

À Deus pela dádiva da vida!

Aos meus irmãos, Fernanda e Rafael pelo apoio e amizade em todos os momentos, apesar das brigas.

À amiga Taíssa pelos conselhos e incentivos nestes dois anos de amizade e pela ajuda na monografia.

Às amigas Nega, Drika, Cláudia e Fernanda Maria, pelos momentos maravilhosos compartilhados juntos, durante toda nossa caminhada.

Às amigas de república Kat e Jú, pelas conversas, gargalhadas, ajuda nos momentos mais difíceis enfim, por tudo que passamos juntas, valeu demais!

À todos vocês que me ensinaram o verdadeiro valor da amizade. Muito Obrigada, de coração!

Ao Gismar que me orientou durante toda análise estatística.

À todos que direta ou indiretamente me apoiaram .... Obrigada.

"Se não houve frutos, valeu a beleza das flores;
Se não houve flores, valeu a sombra das folhas;
Se não houve folhas, valeu a intenção da semente."

(Henfil)

Resumo

A necessidade de se controlar insetos-praga levou o homem a utilizar inseticidas de forma indiscriminada e irracional, causando um desequilíbrio ecológico e fazendo com que essas pragas adquirissem certa resistência aos produtos químicos. Devido à esses problemas, viu-se a necessidade de um novo método de controle que visasse minimizar os danos. Uma alternativa é o Manejo Integrado de Pragas, onde o controle biológico é uma das ferramentas utilizadas. Nas culturas de citrus, a cochonilha *Orthezia praelonga* é uma das principais pragas, causando danos diretos na produção, sendo o *Colletotrichum gloeosporioides* um dos métodos de controle atualmente utilizado, em conjunto com agrotóxicos. Este trabalho visou testar a ação tóxica de nove agrotóxicos sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, avaliando-se o crescimento e aspecto morfológico das colônias crescidas em meios de cultura. Foram preparados em meio de cultura BDA os produtos Dicofol (Kelthane 480), Propargite (Omite 300 PM), Azocyclotin (Peropal 250 PM), Ethion (Ethion 500), Methidathion (Supration fersol 400 CE), Betacyflutrin (Turbo), Imidacloprid (Winner), Tebuconazole (Folicur) e Cyhexatin (Sipcatin 500 SC), os quais foram vertidos em 12 placas de Petri correspondentes a cada tratamento. Após á solidificação do meio, inoculou-se o fungo. As avaliações foram realizadas ao 5º, 9º e 13º dias após a inoculação, sendo os resultados obtidos, submetidos à análises estatísticas correspondentes. Concluiu-se que os produtos que melhor permitiram o crescimento do fungo foram o propargite, dicofol, imidacloprid e betacyflutin. Existiram diferenças morfológicas, em função da aplicação dos produtos, a nível de crescimento e coloração das colônias.

Resumen

La necesidad de se combatir los insectos-plaga llevó el hombre a utilizar insecticidas de forma abusiva y irracional, produciendo un desequilibrio ecológico y haciendo, a su vez, que dichas plagas fuesen ganando resistencia a los productos quimicos. Debido a esos problemas, hubo la necesidad de cambiar el metodo de control con el objetivo de disminuir los daños. Una alternativa es la lucha integrada, donde la lucha biológica es una de las herramientas utilizadas. En los cultivos de Citrus, el homoptero *Orthezia praelonga* es una de las principales plagas com daños directos en la producción. Uno de los métodos de control actualmente utilizados es el uso del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* en conjunto con productos químicos. Este trabajo tuvo como objetivo probar la acción tóxica de nueve insecticidas sobre el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* evaluando el crescimiento y aspecto morfológico de las colonias que han crescido en medio de cultura. Los productos Dicofol (Kelthane 480), Propargite (Omite 300 PM), Azocyclotin (Peropal 250 PM), Ethion (Ethion 500), Methidathion (Supration fersol 400 CE), Betacyflutrin (Turbo), Imidacloprid (Winner), Tebuconazole (Folicur) e Cyhexatin (Sipcatin 500 SC) fueron preparados en medio de cultivo BDA los cuales fueron puestos en 12 placas Petri correspondientes a cada tratamiento. Trás la solidificacción del medio, se hizo la inoculación del hongo. Las evaluaciones fueron realizadas a los 5º, 9º e 13º dias trás la inoculación y los resultados obtenidos fueron estadisticamente analisados. Se concluyó que los productos que mejor permitieron el crescimiento de hongo *Colletotrichum gloeosporioides* fueron propargite, dicofol, imidacloprid y betacyflutin.

Índice

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

1 – Introdução

Os insetos-praga causam danos econômicos à agricultura e competem com os seres humanos e outros seres vivos na busca de alimentos, além de transmitirem doenças em plantas e animais, inclusive à espécie humana. Constituem o grupo mais numeroso dentre todos os seres vivos encontrados no planeta, com uma estimativa de, no mínimo seis milhões de espécies existentes (AZEVEDO, 1998).

O combate a esses insetos, que são de interesse agrícola, médico veterinário ou florestal baseou-se, durante muito tempo, no uso indiscriminado de inseticidas químicos. Esse fato tem levado à resistências de insetos, tornando-se necessária a busca por novos inseticidas com cada vez mais teor de toxicidade. Esta técnica, porém, desencadeia desequilíbrio biológico, afetando insetos benéficos como polinizadores, parasitas, parasitóides e predadores naturais, além de animais silvestres e domésticos; causando também, sérios danos à saúde humana, principalmente para as pessoas que os aplicam, tendo como conseqüência o envenenamento do ecossistema como um todo e a própria morte de muito seres vivos, inclusive o homem.

Devido a este fato, surgiu uma nova estratégia de controle de pragas, o Manejo Integrado de Pragas (MIP), que consiste na utilização de todos os métodos de controle disponíveis, de uma forma mais racional, uma vez que, a utilização de métodos isolados como medida de manejo de pragas, muitas vezes não resolve o problema.

De um modo geral, o uso de microorganismos para o manejo de insetos-praga da agricultura não é recente e vem sendo empregado, desde a antigüidade, principalmente após os anos 70, devido aos problemas advindos da utilização dos inseticidas químicos (AZEVEDO, 1998).

Torna-se claro que medidas artificiais de manejo contra os insetos-pragas devam ser empregadas, quando possível, para aumentar o controle natural, haja visto que se trata de um agroecossistema. Desse modo, o controle químico, que é o método de controle mais utilizado, deve ser entendido como uma maneira potencial de se aumentar a ação dos inimigos naturais, num contexto geral do controle de pragas (CROCOMO, 1990). Entretanto, isso tem sido muito difícil de se obter com os inseticidas disponíveis, uma vez que a grande maioria deles são substâncias de largo espectro.

Uma das maiores necessidades do MIP é o desenvolvimento de inseticidas específicos. Tais substâncias devem ser suficientemente de espectro pequeno em seus efeitos tóxicos, a fim de promover um pequeno impacto em organismos não visados, mas suficientemente abrangentes para tornar possível seu desenvolvimento e emprego comercial. Apenas alguns poucos inseticidas com tais características estão disponíveis atualmente no mercado e, consequentemente existe uma constante necessidade em se procurar inseticidas

mais seletivos dentro dos que atualmente são comercializados (SMITH & VAN DEN BOSCH, 1967).

Um razoável sucesso no melhoramento da ação desses inseticidas se obtém, simplesmente aplicando-os apenas na área que necessita de tratamento e, ao mesmo tempo combinando-os com iscas ou com atraentes específicos, buscando assim trazer a praga para o inseticida. Esses exemplos, além de outros, tem sido preferidos em casos de seletividade ecológica, na qual o inseticida não seletivo fisiologicamente é usado de forma que não atinja os inimigos naturais diretamente ou o faça em menor intensidade do que a praga (GRAVENA & LARA, 1982).

Nesse contexto, esta seletividade fisiológica relaciona-se com o desenvolvimento de inseticidas de pequeno espectro e baixa toxicidade para animais superiores e com larga margem de segurança para os insetos benéficos, como os polinizadores, parasitóides e predadores. A seletividade fisiológica é pois, uma característica inerente do inseticida que atua, de tal modo a ser tóxico para a praga e preservando simultaneamente, em vários graus, a fauna de insetos benéficos, que compõe o complexo biótico do agroecossistema.

A cochonilha *Orthezia praelonga* Douglas, 1981 (Hemiptera: Ortheziidae) conhecida vulgarmente como "piolho branco" ou "ortézia" é um inseto muito prejudicial às plantas cítricas. Além dessas, pode atacar também outras plantas cultivadas, particularmente as ornamentais e as selvagens. Sua distribuição no Brasil, atinge os Estados do PA, PE, SE, BA, ES, RJ, SP, RS. Em plantas cítricas, *O. praelonga* localiza-se de preferência na face inferior das folhas, proliferando-se intensamente e, praticamente sem inimigos naturais eficientes, afeta em pouco

tempo, toda a árvore. Os principais danos diretos causados às plantas infestadas por *O. praelonga* são decorrentes não só da alimentação do inseto através da sucção da seiva, como também pela introdução de toxinas (ROBBS, 1973). Além disso, esta praga lança suas dejeções adocicadas sobre a parte verde da planta, propiciando o desenvolvimento de um fungo preto, da família *Capnoidaceae*, conhecido por "fumagina". Tal revestimento dificulta as trocas gasosas e a síntese clorofiliana, que se verificam na planta. O conjunto de danos diretos e indiretos é responsável pelo enfraquecimento da planta e pela queda dos frutos antes do seu total desenvolvimento. Os frutos remanescentes apresentam baixos teores de açúcar e ácidos, tornando-se impróprios para a comercialização.

Um dos métodos de controle que vem sendo utilizado é o emprego do fungo entomopatogênico *Colletotrichum gloeosporioides*.

Há pouco tempo, era conhecida apenas a ação tóxica dos agrotóxicos sobre insetos parasitas e predadores. Com o avanço científico alcançado na última década, verificou-se que os agrotóxicos, além de eliminar insetos responsáveis pelo controle biológico podem também, atuar negativamente, inibindo fungos e outros entomopatógenos. A partir desse conhecimento, numerosos trabalhos foram realizados e vêm demonstrando que, da mesma forma que existem produtos altamente tóxicos aos patógenos, ocorrem outros que apresentam grande seletividade aos mesmos.

2- Revisão da Literatura

2.1 - Infestações

PYENSON (1938) apud KOGAN (1964) foi o primeiro a registrar sérios danos causados por *O. praelonga*, à citricultura no Estado de Pernambuco. ROBBS (1947) chama a atenção pela primeira vez de um surto de *O. praelonga* que vinha se apresentando como séria praga de plantas cítricas e ornamentais desde 1943, no antigo Distrito Federal, atual Estado do Rio de Janeiro. Tal infestação assumiu depois forma catastrófica contribuindo para o declínio da citricultura na Baixada Fluminense. Em 1973, foram registrados por ROBBS vários focos da praga no Estado de Sergipe e, no Estado de São Paulo, essa praga foi constatada pela primeira vez no município de Severína, região citrícola de Bebedouro, por GONÇALVES & CASSINO (1987). Dessa data, até 1995, houve uma generalização de ataque pelas principais regiões de citricultura do Estado (PRATES & PINTO, 1987).

Segundo ROBBS (1947), as infestações primárias em pomares cítricos ocorrem normalmente com a introdução de plantas ornamentais infestadas, próximas aos pomares, ou de caixarias utilizadas em pomares atacados. A

disseminação dentro do pomar ou para a vizinhança se dá pelo vento ou pelas pessoas que transitam pelo pomar.

O grande potencial biótico, adaptação as mais diversas condições ambientais, adubações orgânicas, grande número de hospedeiros cultivados e selvagens, aliados a alguns inimigos naturais não eficientes são fatores responsáveis pela agressividade apresentada pela *O. praelonga* (ROBBS, 1973).

2.2 - Danos Causados

Os principais danos diretos causados às plantas infestadas são decorrentes não só da alimentação do inseto, através da sucção da seiva, como pela introdução de toxinas (ROBBS, 1973). Indiretamente tais danos ocorrem por conta de um fungo preto, da família *Capnoidaceae,* conhecido como "fumagina", que utiliza como substrato as dejeções da cochonilha, recobrindo as partes verdes da planta e dificultando assim, a síntese clorofiliana e as trocas gasosas que se verificam na planta. O conjunto de danos diretos e indiretos é o responsável pelo enfraquecimento da planta e pela queda dos frutos, como pela interferência na qualidade dos frutos produzidos, que apresentam baixos teores de açúcar e de ácidos, tornando-os, impróprios para a comercialização.

2.3 - Métodos de Controle

No Estado do Rio de Janeiro foram realizadas algumas tentativas de controle biológico da praga, através da introdução de predadores exóticos, com resultados insatisfatórios (GIACOMETTI, 1962).

O controle rotineiro da praga é realizado com o emprego de inseticidas granulados aplicados ao solo ou em pulverizações na planta toda.

Entre os entomopatógenos associados às mortalidades da praga, são registrados os fungos *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *Verticillum lecanii* Zimm e *Cladosporium herbarum* var. *aphidicola* (PRATES & PINTO, 1987).

2.3.1 - Fungo - " Colletotrichum gloeosporioides"

C. gloeosporioides pertence à Classe dos fungos imperfeitos, cuja Ordem é *Melanconiales* e Família *Melanconiaceae*.

Examinando ninfas de *O. prolonga* coletadas em citros, ROBBS, (1947), constatou a presença de um "fungo vermelho". BATISTA & BEZERRA (1966) o identificaram como *C. gloeosporioides*, fungo este constituído por inúmeras formas especiais e, variando no modo de vida, da saprogênese à patogênese e comumente considerado como um fitofagófago oportunista. Essa identificação foi confirmada em 1990 pelo Instituto de Controle Biológico de Ascot da Inglaterra, sendo esta a primeira constatação desse fungo como patógeno de insetos (CESNIK, informação verbal).

Segundo MELO (1996), esse fungo apresenta variabilidade no sistema de proteínas totais, sendo o padrão de bandas detectadas nas linhagens

fitopatogênicas, diferente daquele das linhagens dos isolados utilizados para o controle da ortézia. No mesmo estudo, o mesmo autor observou que os isolados entomopatogênicos diferiam quanto à cor das colônias, ao crescimento micelial, à esporulação e ao tamanho dos conídios, quando comparados com os isolados fitopatogênicos.

Testes preliminares sobre a eficiência de *C. gloeosporioides* no controle a *O. prelonga*, foram realizados já a partir de 1980, por técnicos da Embrapa Meio Ambiente (CESNIK *et al.*,1993). Aplicações de 800 ml de uma suspensão aquosa (1000000 esporos/ml) por planta tem demonstrado uma considerável redução da praga (CESNIK & OLIVEIRA, 1993).

Testes de eficiência de controle em campo, com uma cepa de *C. gloeosporioides* isolado *Orthezia* foram realizados em um experimento de citros com alta infestação, na região de Limeira, com as seguintes variedades: Lima, Natal e Pêra (laranjas) e Cravo e Ponkan (tangerinas). Anotou-se o número de insetos adultos e a porcentagem da área infestada antes da pulverização com o fungo. Foi observada uma redução significativa da infestação da praga de 66 a 84% e, do número de insetos, de 43 a 82% aos 35 dias. Uma redução da praga de 80 a 96% e do número de adultos de 85 a 96% foi observada aos 70 dias. Após 100 dias da aplicação houve uma leve tendência de reinfestação da praga. Observou-se também uma correlação positiva significativa entre a altura da planta e a porcentagem de infestação nas variedades Natal e Cravo (CESNIK, et al., 1996).

Esta não é a primeira tentativa de se utilizar o *C. gloeosporioides* no controle de organismos indesejáveis. Estudos recentemente conduzidos por

pesquisadores europeus tornaram possível a preparação de um produto conhecido como "Collego", a base de uma estirpe deste fungo, para o controle da planta invasora *Rottboelial* sp.

Onze linhagens de *C. gloeosporioides* que atacam a cochonilha *O. praelonga* foram obtidas a partir de *Orthezia* em cultivos comerciais de citros nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Avaliou-se as linhagens quanto à sensibilidade a benomyl, através da incorporação do fungicida ao meio de cultura (BDA) e quanto ao crescimento em meio líquido (Czapeck Dox) contendo somente carbendazim (BMC) como única fonte de carbono, utilizando-se as seguintes concentrações 1, 10, 50, 100, 500µg/ml. Os resultados demonstraram que todas as linhagens testadas são resistentes às concentrações utilizadas, com uma menor redução na sensibilidade do fungicida na dose de 50µg/ml, quando analisados os valores de ED50. Quando um isolado (CTAA) foi desenvolvido em meio líquido suplementado com carbendazim foi feita a quantificação de consumo do fungicida através de HPLC, onde detectou-se que o fungo utiliza o produto como fonte de carbono. Os resultados demonstraram que estas linhagens adquiriram resistência a benomyl, possivelmente pela pressão exercida diante de sucessivas aplicações para controle de podridão floral do citros (MELO, et al., 1996).

2.4 - Emprego de Agrotóxicos

Segundo ZAMBRONE (1986) agrotóxicos são "substâncias químicas, naturais ou sintéticas, destinada a matar, controlar ou combater de algum modo

as pragas, no sentido mais amplo: tudo aquilo que ataca, lesa ou transmite enfermidades às plantas, aos animais e ao próprio homem". Os agrotóxicos, também conhecidos como defensivos agrícolas ou biocidas, podem ser classificados conforme a sua função, em herbicidas, fungicidas, inseticidas, nematicidas, rodenticidas, acaricidas e molusquicidas (BULL & HATHAWAY, 1986).

Outra classificação dos agrotóxicos é feita pela estrutura química ou princípio ativo, que segundo EDWARDS (1996) apud SCHNEIDER (1996), é o mais importante fator na determinação da estabilidade do agrotóxico no meio ambiente. Assim, tem-se os seguintes grupos de biocidas: organoclorados, organofosforados, piretrinas (naturais e sintéticas), triazinas, dinitrofenóis, clorofenoxiácidos e paraquat.

O controle da praga, em plantas cítricas, tem sido feito através do emprego de inseticidas sistêmicos, à base de aldicarb e dimetoato, ou de fosforados, à base de paration (CATI, 1987), sendo escassos os estudos com o controle biológico.

Os efeitos de 09 fungicidas e 14 inseticidas e acaricidas foram estudados por OLMERTH & KENNETH (1974). Esses autores adicionaram os agrotóxicos ao meio de cultura e, posteriormente, fizeram avaliação do efeito dos mesmos sobre isolados de *Beauveria bassiana, Verticillium lecanni* e *Verticillium*. sp. Através da medição dos diâmetros das colônias. Os agrotóxicos utilizados foram: fluorsilicato de sódio, endosulfan, omite, triclorfon, chlorobenzilate, diazinon, ethion, azinphosmethyl, clorapyrifos, óleo mineral, supracide, dichlorvos e

carbaryl. Nas dosagens recomendadas, apenas o fluorsilicato de sódio inibiu a germinação dos esporos de *B. bassiana*.

ROBERTS & CAMPBELL (1977) efetuaram uma completa revisão sobre a toxicidade de agrotóxicos em fungos entomopatogênicos.

SIKURA & ZHIGAEV (1972) efetuaram pulverizações em macieiras contra *Cydia pomonella* (L.), utilizando o produto biológico Boverin (*Beauveria bassiana*) misturado com os inseticidas carbaryl, triclorfon e dimethoate, observaram que 31% das larvas que sobreviveram a esse tratamento conseguiram transformar-se em adultos e que, das larvas que foram tratadas somente com inseticidas químicos, 55,6% produziram adultos. Os autores concluíram que a aplicação conjunta de Boverin e inseticidas permitiu a redução de 10 vezes na quantidade de aplicação do produto químico referido.

BOLDYREV (1977) conduziu experimentos sobre o controle de *Cydia pomonella* (L.) em macieira por meio de pulverizações de vários microorganismos incluindo o Entobakterin (*Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*) em várias formulações: Dendrobacillin (*B. thuringiensis* var. *dendrolinus*), e Boverin (*Beauveria bassiana*) a 0,5% aplicados isoladamente ou com adição de triclorfon ou phosalone a um décimo da dosagem normal. Foram feitas quatro aplicações, duas para o controle de cada geração da mariposa. A eficiência foi estimada através da coleta de maçãs caídas e daquelas recolhidas normalmente. Os resultados das várias pulverizações foram diferentes de ano para ano mas, em todos os casos, houve aproximadamente o mesmo grau de proteção e também controlaram minadores de folhas e larvas de *Tenthredinidae*.

CASTRO et al. (1980) estudando a importância da ação conjunta de agrotóxicos químicos e biológicos, avaliou a compatibiladade de *B. bassiana* com três herbicidas e um fungicida. Verificou que os herbicidas Trifluralin (Herbiflan) e (Roundup) demonstraram alta compatibilidade e que o herbicida Alachlor (Laço) e o fungicida Chlorothalonil (Daconil) mostraram efeito inibidor tanto na germinação como no crescimento do fungo.

OLIVEIRA et al. (1997), visando subsídios ao MIP no controle de *O. praelonga*, testou ação dos agrotóxicos Abamectin (Vertimec), Acrimathrin (Rufost), Hexythiazox (Savey), Oxicloreto de Cobre (Recop) e Propargite (Omite) inoculado com *C. gloeosporioides*, em meio de cultura BD, e concluíram que o Oxicloreto de Cobre inviabilizou o desenvolvimento do fungo e todos os outros produtos utilizados não inibiram o crescimento do micélio e a esporulação do fungo sendo compatíveis em MIP. O Propargite aumentou consideravelmente a quantidade de esporos produzidos em relação a testemunha, enquanto que Abamectin e Acrimathrin foram idênticos, em relação a testemunha e também colaboraram para um aumento significativo na produção de esporos. Já para a produção de micélio , Abamectin, Propargite e Testemunha tiveram o mesmo desempenho.

3 - Objetivos

Testar a ação tóxica dos produtos ethion (Ethion) 500, tebuconazole (Folicur), dicofol (Kelthane 480), propargite (Omite), azocyclotin (Peropal), cyhexatin (Siphicatin), methidathion (Suprathion), betacyflutrin (Turbo) e imidacloprid (Winner) sobre o fungo entomopatogênico *Colletotrichum gloeosporioides*, um agente de controle da cochonilha *Orthezia praelonga*, avaliando-se o crescimento e o aspecto morfológico das colonias crescidas em meios de cultura.

4- Material e Métodos

4.1 - Local do experimento

Este trabalho foi conduzido e instalado em duas etapas. A parte experimental desenvolveu-se no Laboratório de Artrópodes da Embrapa Meio Ambiente, enquanto que a análise estatística dos dados obtidos e a redação do trabalho realizou-se na Universidade Federal de Uberlândia.

4.2 - Materiais

Foram utilizados para este experimento 09 agrotóxicos, que são os mais utilizados na cultura de citrus, ethion (Ethion) 500, tebuconazole (Folicur), dicofol (Kelthane 480), propargite (Omite), azocyclotin (Peropal), cyhexatin (Siphicatin), methidathion (Suprathion), betacyflutrin (Turbo) e imidacloprid (Winner), nas dosagens recomendadas para uso no campo. Estes agrotóxicos tem ação independente ou em conjunto como inseticidas, fungicidas e acaricidas. As

características gerais dos agrotóxicos estão relacionadas na Tabela 1. Além destes, utilizou-se o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, como meio de inóculo.

Todo material foi manuseado em câmara NUAIRE modelo NO.NU – 425-200 classe II, tipo A/B3, de fluxo unidirecional para verter o meio de cultura e realizar a inoculação do fungo; autoclaves horizontais Tecnal e Market Forge Starialmatic para a esterilização de materiais; microscópio comum ZEISS, balanças digitais Gahaka BG 4400 e Scientech SA 210 da Tecnal, câmara de Newbauer, placas de Petri (100 mm de diâmetro x 20 mm de altura), tubos de ensaio para diluição, Erlenmeyers de 500 ml, Tween 80, álcool 70% e comercial, água destilada, pinças, alça de platina e de Drigalsky, algodão e lamparina a álcool foram também utilizados para a condução do experimento.

Além de todos esses materiais utilizou-se como meios para a inoculação do fungo, os meio de cultura Batata-Dextrose-Agar (BDA) e Glucose-Peptona-Agar (GPA) e o antibiótico Streptomicina.

4.3 – Metodologia

4.3.1 – Testes para verificação e determinação da metodologia de inoculo do fungo Colletotrichum gloeosporioides

Com a finalidade de verificar a metodologia de inoculação que melhor se adequaria a este trabalho, foram previamente realizados três diferentes bioensaios, dois em meio de cultura BDA e um terceiro em meio BD, utilizando-se

Tabela 1 - Características gerais dos produtos utilizados.

Nome Técnico	Nome Comercial	Firma	Formulação	Classe	% de i.a. na formulação	Dose de i.a./ha (g/ml)	Grupo	Classe Toxicológica
Azocyclotin	Peropal 250 PM	Bayer S.A.	PM	Acaricida	25%	100g	Organoestânico	I
Cyhexatin	Sipcatin 500 SC	Sipcam Agro S.A.	SC	Acaricida	500g/L	500ml/100L de água	Organo-estânico	III
Dicofol	Keltane 480	Rohm and Haas Química Ltda	CE	Acaricida	480g/L	77ml/100L de água	Organoclorado	II
Ethion	Ethion 500 Rhodia Agro	Rhodia Agro Ltda	CE	Inseticida e Acaricida	500g/L	150ml/100L de água	Organofosforado	I
Dinocap	Karathane CE	Rhom and Haas Química Ltda.	CE	Fungicida	396g/L	18,45g/100L de água	Dinitrofenil	I
Methidathion	Supration Fersol 400 CE	Fersol Indústria e Comércio Ltda	CE	Inseticida	400g/L	200ml/100L de água	Organofosforado	I
Propargite	Omite 300 PM	Uniroyal Química S.A.	PM	Acaricida	300g/Kg (30%p/p)	250 ml/100Kg de água	*	II
Tebuconazole	Folicur PM	Bayer S.A.	PM	Fungicida	250g/Kg	100ml/100L de água	Triazóis	III
Betacyflutrin	Turbo	Bayer S.A.	CE	Inseticida	5% m/v (50g/l)	*	piretróides	II
Imidacloprid	Winner	Bayer S.A.	CE	Inseticida	20% m/v (200g/l)	2,5 ml por planta	nitroguaninas	III

* Obs.: Não há informações sobre esse agrotóxicos no Compêndio de Agrotóxicos Agrícola

os mesmos agrotóxicos, Karathane e Kelthane, nas concentrações de 0,2 e 0,3 ml, respectivamente.

Para a realização dos bioensaios em meio sólido, foram preparadas vinte placas de Petri com o meio de cultura BDA, sendo dez placas para cada produto. O meio de cultura foi preparado adicionando-se, em dois Erlenmeyers de 500ml devidamente identificados com o nome de cada produto, 11,7 g de BDA (já pronto) em 300 ml de água destilada. Os frascos foram adequadamente fechados a fim de esterilizá-los por 20 minutos em autoclave à temperatura de 120°C e à pressão de uma atmosfera. Esperou-se até que o meio de cultura apresentasse temperatura de aproximadamente 35° – 36°C para que fosse possível a adição de 0,065 g do antibiótico em ambos os frascos, e a adição das concentrações específicas de cada pesticida no seu respectivo frasco. Após tal procedimento, o meio de cultura foi levado à Câmara de fluxo para que fosse vertido, em quantidades iguais, nas placas de Petri, que foram numeradas de 01 a 10 e identificadas com o nome do respectivo agrotóxico, indicando o tratamento. Depois de solidificado o meio, procedeu-se a inoculação do fungo onde, nas cinco primeiras placas, de cada tratamento, a inoculação foi feita através de uma alíquota conhecida da suspensão de esporos do fungo *C. gloeosporioides* numa concentração de $8x10^6$ esporos. Nas placas restantes, inoculou-se o fungo ao meio de cultura através do micélio, devidamente cortado em forma de circulo com aproximadamente 1cm de diâmetro, retirados de uma placa de Petri onde havia uma colônia de *C. gloeosporioides* desenvolvida em fase de esporulação. Seguido a inoculação, foram realizadas avaliações da área de crescimento do fungo.

O terceiro bioensaio foi realizado em meio de cultura liquido BD e para tal, utilizaram-se 10 Erlenmeyers de 250 ml contendo, cada um 100 ml do meio, 0,0216 g do

antibiótico e, em cinco deles foram adicionados 0,3 ml de Kelthane e nos outros cinco, 0,2 ml de Karathane. Depois de homogeneizados, acrescentou-se 3 "rodinhas" do micélio do fungo, como especificado acima. Os Erlenmeyers foram devidamente fechados e levados a um agitador numa rotação de 110 rpm por um período de 7 dias, após o qual, retirou-se uma alíquota de 0,5 ml de cada tratamento. O micélio, com esporos, foi filtrado à vácuo e após seco, avaliado o peso.

Após comparação dos resultados dos três bioensaios, optou-se desenvolver o trabalho em meio de cultura sólido, com a inoculação do fungo através de uma alíquota conhecida da suspensão de esporos, por meio de uma alça de platina.

Os resultados dos bioensaios em meio de cultura BDA, estão relacionados na Tabela 2 e o meio de cultura BD está relacionado na Tabela 3.

Tabela 2 - Resultado das médias das avaliações dos diâmetros, em cm^2, das colônias crescidas em meio de cultura BDA, em dois produtos.

INÓCULO	CIRCULO				ALÍQUOTA DA SUSPENÇÃO ESPOROS			
	KARATHANE		KELTHANE		KARATHANE		KELTHANE	
DATA	**> DIÂM**	**<DIÂM.**	**> DIÂM.**	**<DIÂM.**	**> DIÂM.**	**<DIÂM.**	**> DIÂM.**	**<DIÂM.**
09/08	2.6 cm	1.8 cm	3.1 cm	2.2 cm	1.2 cm	0.8 cm	1.9 cm	1.1 cm
10/08	3.0 cm	2.2 cm	3.5 cm	2.7 cm	1.4 cm	1.2 cm	2.8 cm	2.0 cm
11/08	3.2 cm	2.5 cm	3.8 cm	3.0 cm	1.9 cm	1.5 cm	3.3 cm	2.7 cm
12/08	3.4 cm	2.7 cm	4.1 cm	3.4 cm	2.2 cm	1.9 cm	3.9 cm	3.4 cm
13/08	3.6 cm	3.0 cm	4.8 cm	3.7 cm	2.6 cm	2.2 cm	4.6 cm	4.1 cm

Tabela 3 – Resultado da pesagem em gramas do micélio do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, em meio de cultura BD.

REPETIÇÕES	KARATHANE	KELTHANE
01	0.0455	0.4026
02	0.0195	0.5641
03	0.0483	0.4381
04	0.0369	0.4707
05	0.0403	0.5991

4.3.2 – Repetições

Foram utilizadas, por tratamento, doze placas devidamente esterilizadas, totalizando 120 placas de Petri.

4.3.3 – Preparação do meio de cultura BDA

Pelo fato de não ter ocorrido solidificação do meio de cultura GPA onde foram adicionados os agrotóxicos ethion, dicofol, propargite, azocyclotin, methidathion, betacyflutrin e imidacloprid optou-se então, por desenvolvê-lo em meio de cultura BDA uma vez que este proporciona ao *C. gloeosporioides* um ótimo desenvolvimento, de acordo com informações de técnicos da Embrapa Meio Ambiente.

Foram selecionados, pelo volume, 10 Erlenmeyers de 500 ml correspondente à cada tratamento, incluindo a testemunha, onde foram preparados os meios de cultura. Foi

adicionado em cada frasco 11,7 g de BDA já pronto em 300 ml de água destilada. Todos os Erlenmeyers foram devidamente fechados e levados por 20 minutos em autoclave à temperatura de 120°C e à pressão de uma atmosfera para que fossem esterilizados. Em seguida foram colocados em cima de uma placa agitadora ETICA Mod.174 e quando o conteúdo se encontrou a uma temperatura de aproximadamente 35° - 36°C foram adicionados os 0,065 g do antibiótico Streptomicina e os agrotóxicos nas concentrações utilizadas em pomares de citrus no município paulista de Barretos, segundo a Tabela 4. O conteúdo de cada Erlenmeyer, correspondente a um tratamento, foi transferido em quantidades iguais para as doze placas, as quais constituíram as repetições, que foram devidamente numeradas e identificadas com o nome do agrotóxico, bem como o tratamento testemunha. O experimento foi repetido para os tratamentos dicofol (Kelthane 480), tebuconazole (Folicur), cyhexatin (Siphicatin) e azocyclotin (Peropal), para verificação ou não do crescimento das colônias, uma vez que no primeiro experimento as colônias do fungo não cresceram frente a esses produtos.

4.3.5 – Inoculação

Após 24 horas, foi realizada a inoculação do fungo com o auxílio de uma alça de platina, na parte central da placa. O potencial de inóculo por alça foi de $12,9 \times 10^6$ esporos/ml. As placas inoculadas foram levadas a uma câmara de crescimento mantida sob condições de iluminação com foto fase de 12x12 horas e temperatura de 25 ± 2°C.

Tabela 4 - Concentrações dos agrotóxicos utilizadas para preparação de 300 ml de meio de cultura BDA..

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÕES (ml)
Ethion (Ethion 500)	0,4 ml
Tebuconazole (Folicur)	0,2 ml
Dicofol (Kelthane)	0,4 ml
Propargite (Omite)	0,4 ml
Azocyclotrin (Peropal)	0,35 ml
Cyhexatin (Sipcatin)	0,2 ml
Methidathion (Suprathion)	0,4 ml
Betacyclitrin (Turbo)	0,3 ml
Imidacloprid (Winner)	0,3 ml

4.3.6 - Avaliações

Decorridos 5 dias da inoculação, efetuou-se a primeira medição do diâmetro das colônias de todos os tratamentos com o auxílio de um leitor de área foliar, onde foram feitas três leituras de cada colônia, anotando-se a média de crescimento.

O procedimento acima descrito foi efetuado ao 5º, 9º e 13º dias após a inoculação do fungo.

4.3.7 - Análise estatística

A partir dos resultados obtidos das três medições do diâmetro das colônias do fungo, foram feitas análises de variância e efetuado o Teste de Tukey para análise das médias de crescimento nas três medições que fosse possível a avaliação dos resultados.

5 – Resultados e Discussão

As avaliações foram realizadas a partir dos dados obtidos em relação ao diâmetro médio e aspectos morfológicos apresentados pelas colônias dos tratamentos que permitiram o desenvolvimento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

A Tabela 5 mostra a análise de variância dos parâmetros analisados e, de acordo com os resultados obtidos, a interação tratamento x época foi significativa ao nível de 1% de probabilidade de acordo com o teste F. Portanto, a análise dos tratamentos foi realizada levando-se em consideração as épocas de avaliação.

Tabela 5 - Quadro da Análise de Variância para as variáveis analisadas em meio de cultura BDA.

Causas da variação	G.L.	Q.M.	Valor F
Tratamento	9	84,475	197,573
Época	2	100,519	235,100
Tratamento*Época	18	8,180	19,131**
Resíduo	309	0,427	
Média	2,39		
C.V. (%)	27,34		

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo Teste F.

5.1 – Ação tóxica dos agrotóxicos em meio de cultura BDA

Os resultados obtidos com relação ao diâmetro médio das colônias de *C. gloeosporioides* encontram-se na Tabela 6. Todos os produtos a seguir descritos diferiram significativamente e ao nível de 1% de probabilidade em relação à testemunha.

A maioria dos trabalhos realizados visando detectar os possíveis efeitos dos produtos fitossanitários sobre entomopatógenos é referente à fungos entomopatogênicos, em grande maioria conduzidos *in vitro*, entretanto, o maior problema desse tipo de estudo é a falta de padronização das condições dos testes, não permitindo na maioria das vezes, que sejam feitas comparações entre produtos assim sendo, na presente discussão, buscamos ao máximo aproximar nossos resultados com uma discussão coerente.

5.1.1 – Dicofol (Kelthane)

O maior desenvolvimento relativo das colônias ocorreu na primeira e segunda avaliações, as quais corresponderam, respectivamente, aos períodos compreendidos entre o 1º e 5º e 6º e 9º dias, após a inoculação. O menor desenvolvimento compreendeu a 2º avaliação, sendo superado nesta pelo propargite e imidacloprid, porém não apresentando diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade aos 4 primeiros produtos, em nenhuma época de avaliação.

HALL (1981), trabalhando com *Verticillium lecanii* observou a compatibilidade do mesmo com o agrotóxico em questão.

Não foi encontrado porém, na literatura, trabalhos mais específicos com o produto acima citado, entretanto podemos supor que existiu algum tipo de antagonismo entre as moléculas do produto e as toxinas de baixo peso molecular liberadas pelo fungo, haja visto que tais moléculas podem ser alteradas por fatores externos (ROBERTS, 1981), necessitando de estudos mais profundos para elucidar o fato.

5.1.2 – Propargite (Omite)

As colônias do fungo submetidas a este agrotóxico apresentaram desenvolvimentos intermediários na 1ª e 2ª avaliações, ocorrendo na 3ª seu melhor desenvolvimento, quando comparado ao dicofol, imidacloprid e betacyflutrin, entretanto, não diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade dos demais agrotóxicos. Os resultados obtidos estão de acordo com OLIVEIRA et al. (1997), onde foi constatado que este produto não inibiu o crescimento micelial do fungo e também com OLMERTH & KENNETH (1974) que, trabalhando de maneira semelhante com outros fungos não comprovaram inibição do crescimento dos fungos.

5.1.3 – Imidacloprid (Winner)

O maior desenvolvimento relativo ocorreu do 9º ao 13º dia após a inoculação, o que corresponde à 3ª avalição. Foi superado na 1ª e 2ª avaliações pelo dicofol e propargite, porém não apresentando diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade em relação a estes mesmos agrotóxicos nas demais medições. As nitroguaninas são compostos químicos relativamente recentes, poucos são os trabalhos

sobre a toxicidade em mamíferos e esta quantidade chega a ser praticamente nula em se tratando de ação sobre fungos entomopatogênicos, assim sendo, o que podemos deduzir a partir dos resultados obtidos é que o inseticida em questão, especificamente suas moléculas, parecem não afetar o normal desenvolvimento do fungo. Pois é sabido que existem substâncias que são letais para microorganismos, outras possuem efeitos fungistáticos ou bacteriostático e, finalmente, produtos que em doses normais ou subletais podem favorecer seu crescimento, reprodução e/ou virulência (LECUONA, 1991).

5.1.4 – Betacyflutrin (Turbo)

Apesar de não ter apresentado diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade em relação aos produtos retro citados, este apresentou a 4ª melhor média nas três medições. O fato de que o betacyflutin tenha possibilitado um crescimento relativamente considerável do fungo pode ser devido ao deu baixo poder residual, característica esta de um produto do grupo dos piretróides.

5.1.5 – Ethion (Ethion 500)

As colônias do fungo submetidas a este tratamento apresentaram a 5ª média em todas as avaliações, diferindo significativamente do dicofol (Kelthane) na 1º avaliação; do propargite (Omite) e dicofol (Kelthane) na 2ª e, na 3ª avaliação, do propargite (Omite), dicofol (Kelthane), imidacloprid (Winner) e betacyflutrin (Turbo). Segundo OLMERTH &

KENNETH (1974) este produto não inibiu o crescimento dos fungos *Verticillium* sp., *V. lecanni* e *B. bassiana*.

5.1.6 – Methidathion (Supration) e Azocyclotin (Peropal)

As colônias submetidas ao tratamento Methidathion apresentaram as piores médias em todas as avaliações, diferindo significativamente de todos os outros tratamentos, com exceção ao azocyclotin, que não possibilitou o desenvolvimento de colônias de *C. gloeosporioides*. Podemos supor que as matérias ativas de tais produtos apresentaram um efeito altamente antagonista, não possibilitando o crescimento normal do fungo. Maiores estudos devem ser realizados para se determinar o que ocorre a nível molecular.

5.1.7 – Cybexatin (Sipcatin) e Tebuconazole (Folicur)

Como mostra a Tabela 6, estes dois produtos não permitiram o desenvolvimento de colônias do fungo *C. gloeosporioides*. A ação de alguns produtos fitossanitários sobre entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das dosagens utilizadas. Sendo assim, supõe-se que, talvez, em dosagens menores, que sejam compatíveis tanto com o desenvolvimento do fungo como associadas à mortalidade da praga, possibilitem a utilização destes produtos em Manejo de Pragas em Citrus.

5.1.8 – Testemunha

As colônias do fungo submetidas a este tratamento obtiveram as maiores médias de crescimento em todas as avaliações, haja visto que o meio de cultura estava isento de agrotóxicos químicos, diferindo significativamente de todos os outros agrotóxicos, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6 - Teste de Tukey para médias de crescimento (mm^2) dos tratamentos, dentro das três avaliações do fator época em meio de cultura BDA.

Tratamento	1º Avaliação		2º Avaliação		3º Avalição	
Testemunha	9,80	A[1]	27,52	A	60,16	A
Dicofol	5,50	AB	10,81	B	30,80	B
Propargite	3,27	BC	10,47	B	23,85	B
Imiacloprid	3,00	BC	9,22	BC	22,57	B
Betacyclotrin	2,78	BC	7,72	BC	21,65	B
Ethion	0,71	CD	4,12	C	13,04	C
Methidathion	0,19	D	0,20	D	0,45	D
Azocyclotrin	0,10	D	0,10	D	0,10	D
Cyhexatin	0,10	D	0,10	D	0,10	D
Tebuconazole	0,10	D	0,10	D	0,10	D

[1] Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 1% de significância.

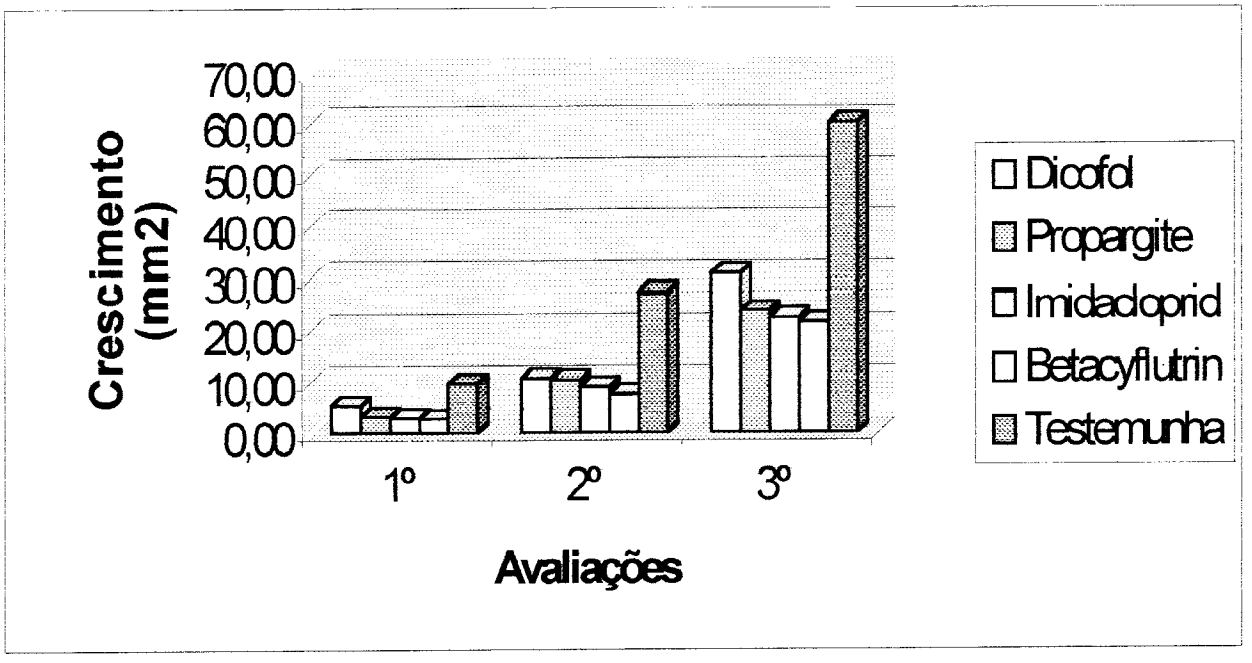

Figura 1 - Médias de crescimento, em (mm^2), de colônias do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* em meio de cultura com agrotóxicos químicos, ao 5º, 9º e 13º dias de desenvolvimento.

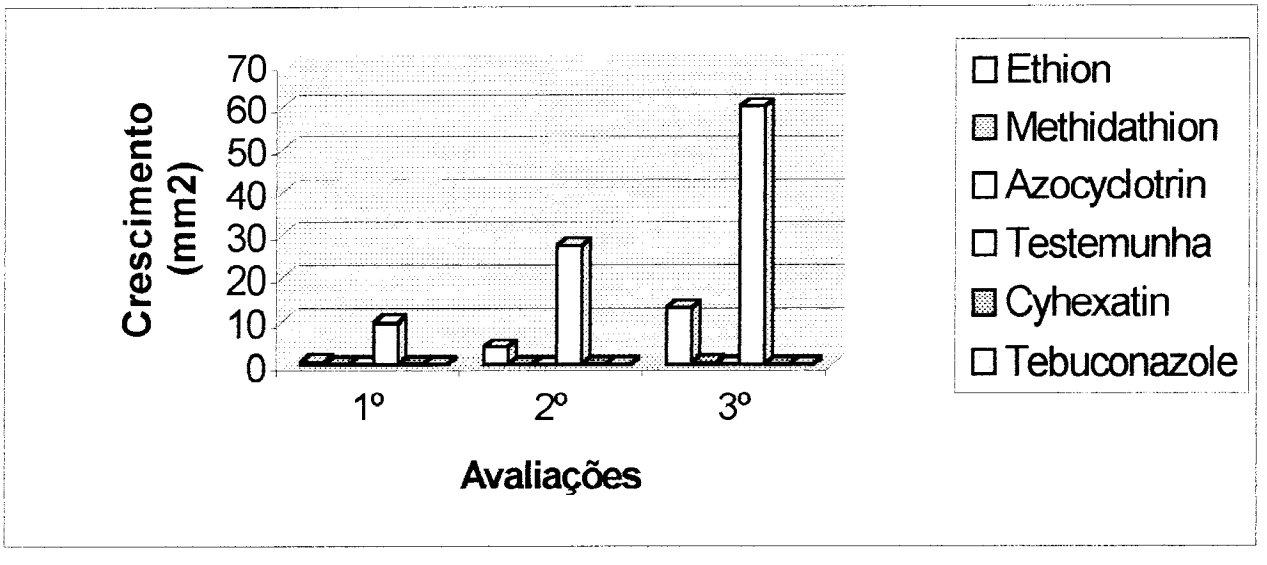

Figura 2 - Médias de crescimento, em (mm^2), de colônias do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* em meio de cultura com agrotóxicos químicos, ao 5º, 9º e 13º dias de desenvolvimento.

5.3 – Aspectos Morfológicos das Colônias

De um modo geral, as colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* apresentaram alterações quanto à sua morfologia quando comparadas às das testemunhas, para todos os produtos testados. Modificações estas, observadas quanto à redução nos diâmetros, superfície de esporulação e coloração das colônias.

Alguns trabalhos ressaltam a capacidade inerente a alguns produtos químicos de produzir quebras ou mutações no material genético dos microorganismos, podendo haver assim, um efeito direto na patogenicidade e virulência (MESSIAS, 1979; AZEVEDO et al., 1977) e possivelmente também em aspectos morfológicos. Nossos resultados, portanto, podem ser um indicativo de que os produtos avaliados ocasionaram algum tipo de alteração a nível genético, entretanto, estudos dessa natureza devem ser feitos para a comprovação de tais hipóteses.

5.3.1 – Testemunha

As colônias submetidas a esse tratamentos, 13 dias após a inoculação, apresentaram-se circulares com aproximadamente 60 mm^2 , com esporos brancos ou cinza, cobrindo toda a superfície. Estas colônias não apresentaram altura superior a 1mm, (Figuras 3).

5.3.2 – Imidacloprid (Winner) e Betacyflutrin (Turbo)

Como é mostrado nas figuras 4 e 5, esses produtos diferiram morfologicamente da testemunha quanto ao tamanho e coloração, pois todas as colônias apresentaram diâmetros inferiores e coloração alaranjada para ambos tratamentos.

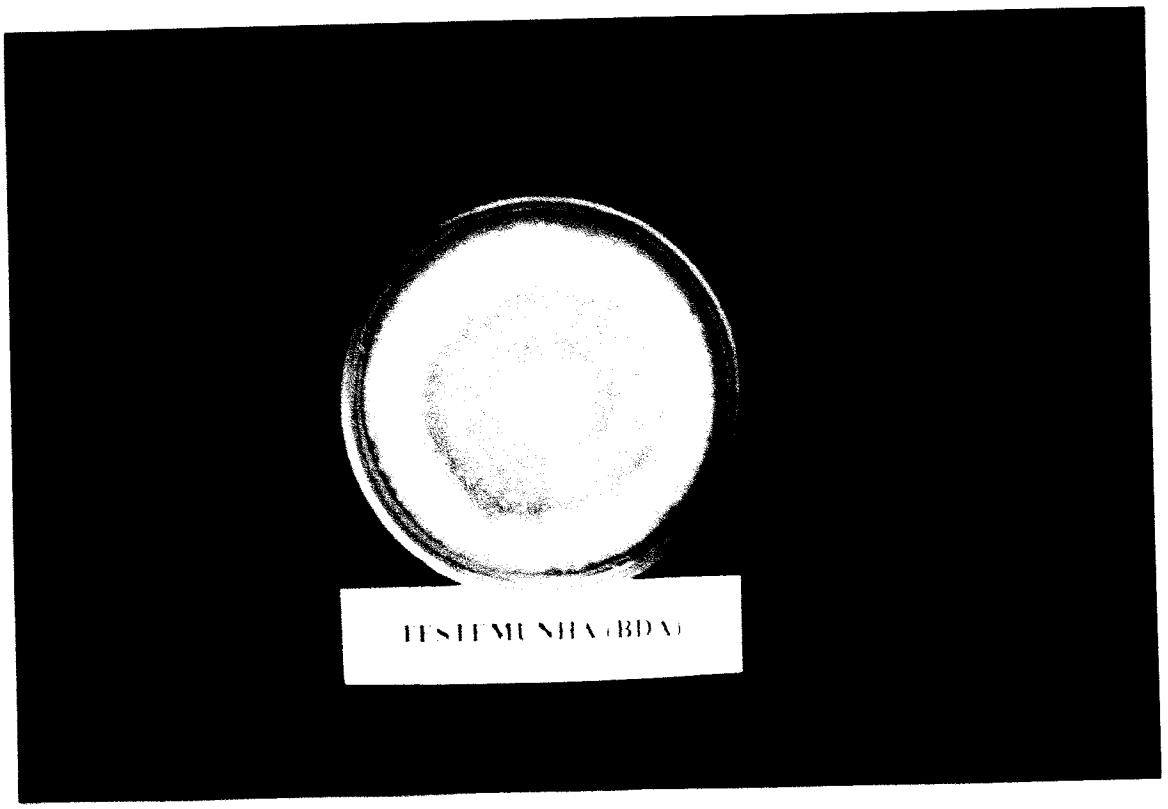

Figura 3 - Crescimento da colônia no tratamento Testemunha, em meio de cultura BDA.

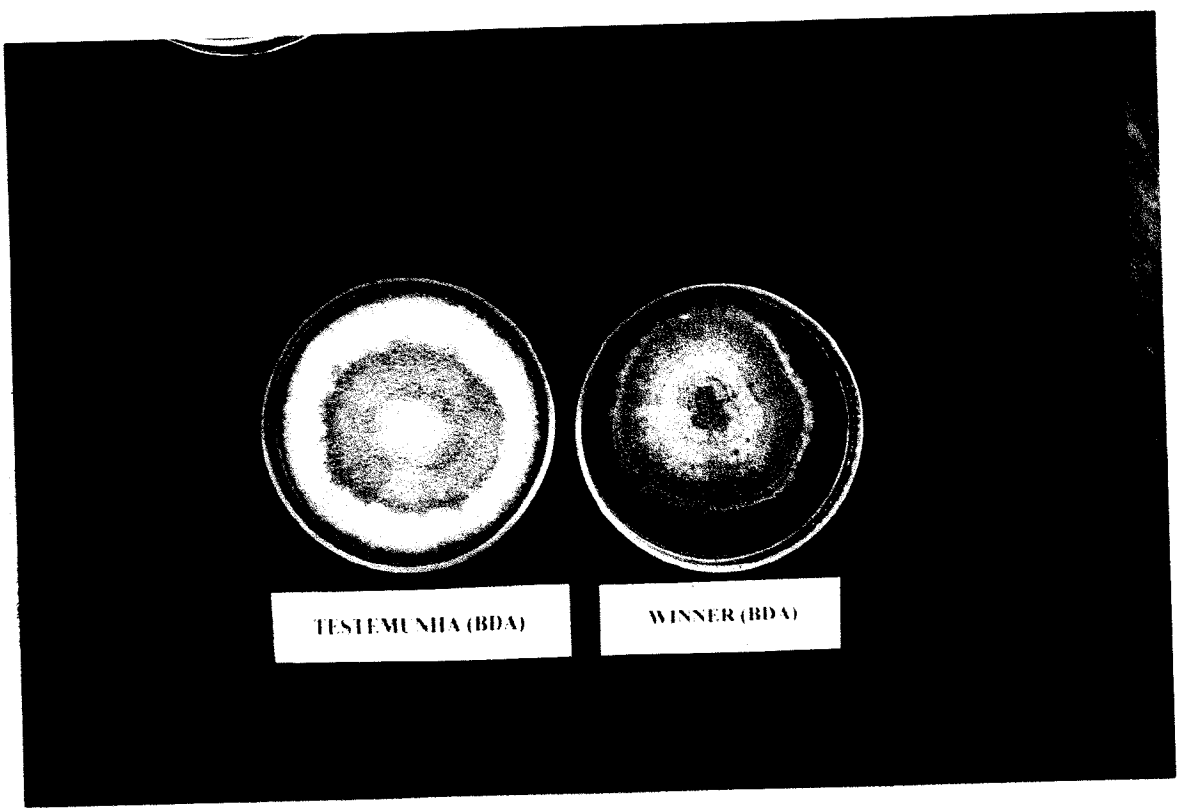

Figura 4 - Comparação do crescimento das colônias nos tratamentos Testemunha e Imidacloprid.

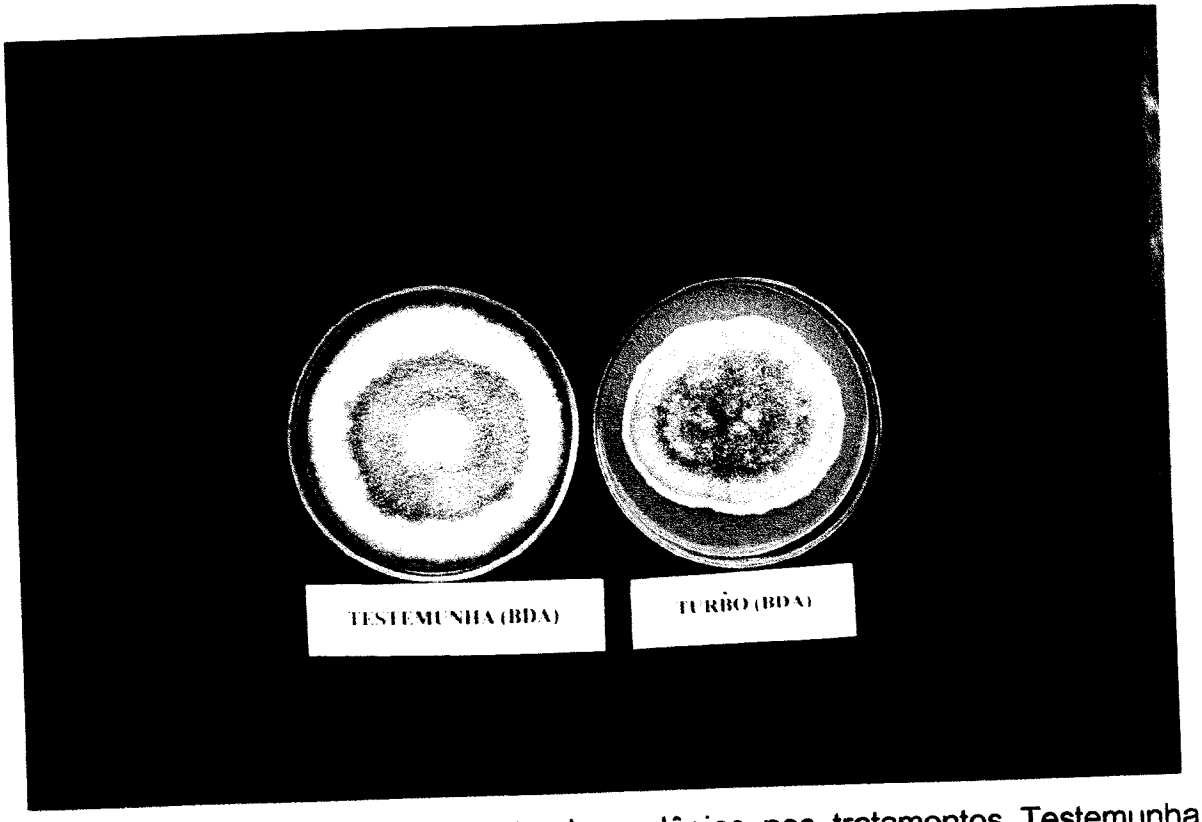

Figura 5 - Comparação do crescimento das colônias nos tratamentos Testemunha e Betacyflutrin.

5.3.3 – *Ethion (Ethion), Dicofol (Kelthane), Propargite (Omite) e Methidathion (Suprathion)*

As colônias com crescimentos nesses tratamentos, apresentaram diferenças apenas quanto ao tamanho das colônias, sendo este de diâmetro inferior quando comparados à testemunha BDA (Figuras 6, 7, 8 e 9).

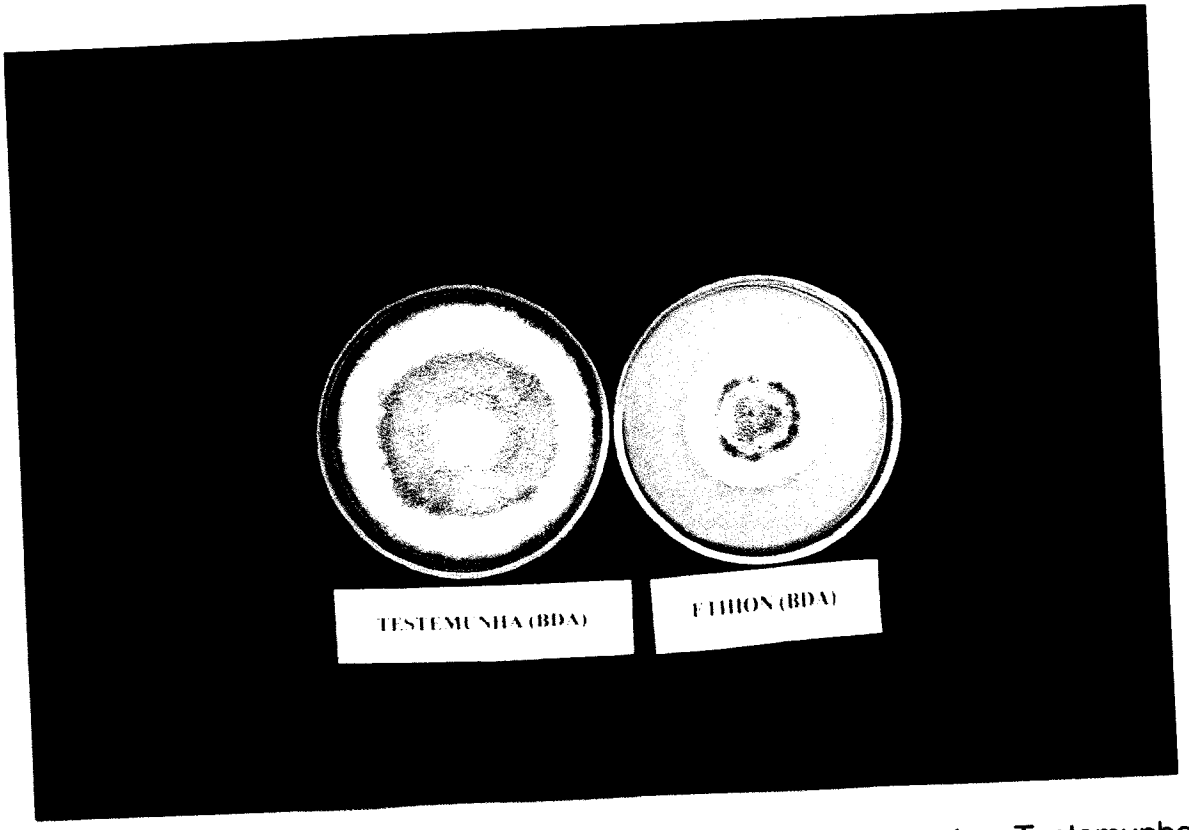

Figura 6 - Comparação do crescimento das colônias nos tratamentos Testemunha e Ethion.

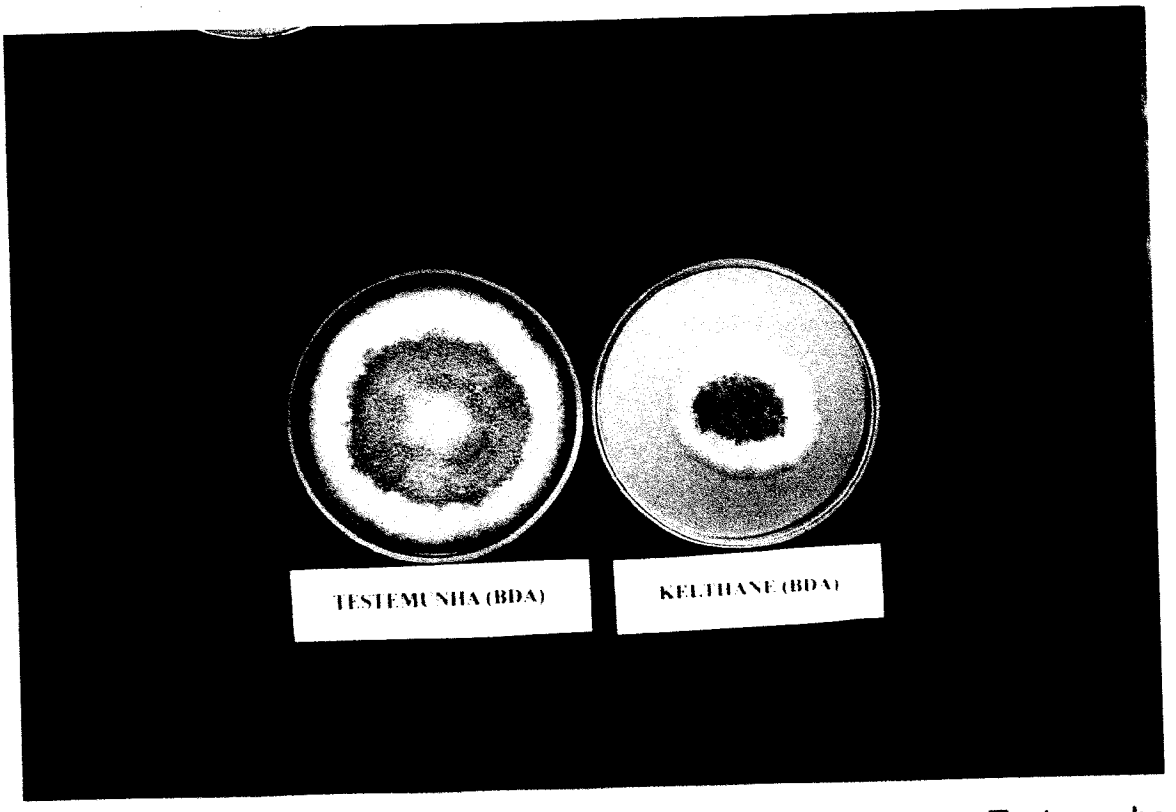

Figura 7 - Comparação do crescimento das colônias nos tratamentos Testemunha e dicofol.

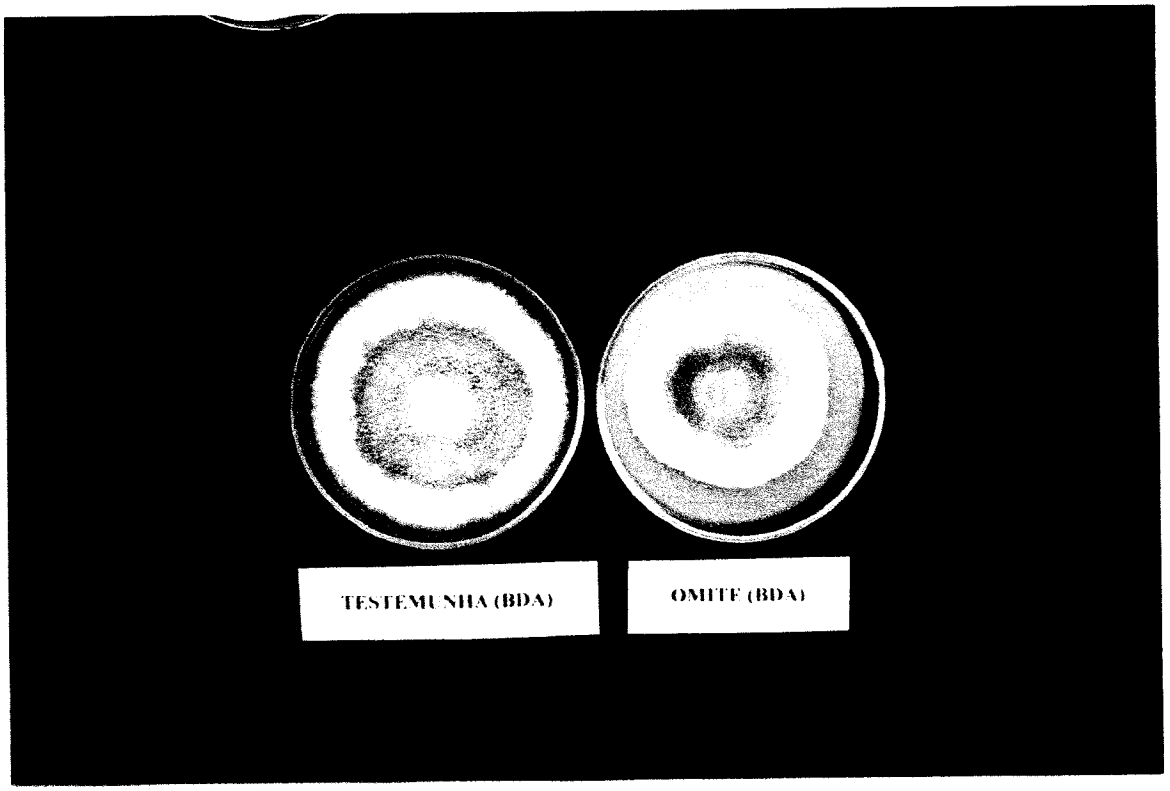

Figura 8 - Comparação do crescimento das colônias nos tratamentos Testemunha e propargite.

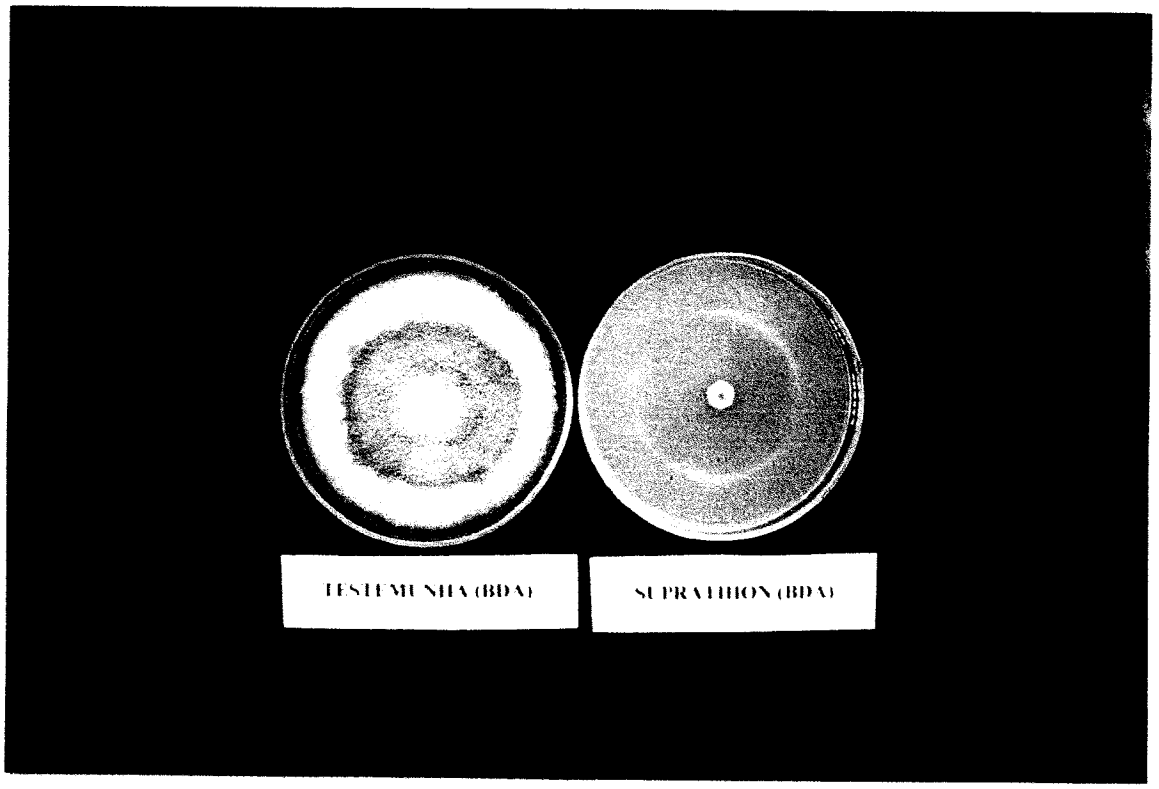

Figura 9 - Comparação do crescimento das colônias nos tratamentos Testemunha e methidathion.

6 – Conclusões

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- Os produtos que apresentaram maior compatibilidade ao *Colletotrichum gloeosporioides* foram Propargite (Omite 300 PM), Dicofol (Kelthane 480), Betacyflutrin (Turbo) e Imidacloprid (Winner). Testes a nível de campo serão necessários para a confirmação dos resultados. Sendo assim, esses produtos podem ser utilizados em programas de Manejo Integrados de Pragas em citrus no controle de *Orthezia praelonga*, uma vez que os mesmos podem afetar negativamente a praga sem inibir o desenvolvimento do fungo .

- Os produtos Ethion (Ethion 500), Tebuconazole (Folicur PM), Azocyclotrin (Peropal 250 PM), Cyhexatin (Sipcatin 500 SC) e Methidathion (Suprathion Fersol 400 CE), destacaram-se com maior eficiência no que diz respeito à inibição do crescimento do fungo. Sendo assim, não seriam, talvez, recomendados para uso em conjunto com *Colletotrichum gloeosporioides*.

- Para os produtos que permitiram o desenvolvimento do fungo, verificou-se uma perda de eficiência dos mesmos, em relação ao fungo, uma vez que as colônias apresentaram altos índices de crescimento na terceira avaliação.

- Existiram diferenças morfológicas em função da aplicação dos produtos dicofol, propargite, azocyclotin, ethion, methidathion, betacyflutrin e imidacloprid, quanto ao crescimento e coloração das colônias, uma vez que as moléculas os princípios ativos atuam diferentemente com as moléculas do fungo.

7 - Referências Bibliográficas

AZEVEDO, J. L. Controle microbiano de insetos-praga e seu melhoramento genético. In: MELO, I. S. & AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico.** V. 1, 1998, 262p.

AZEVED0, J.L., SANTANA E. P. and BONATELLI, R. JR. Resistence and mitotic estability to chloronet and 1,4-oxathin in *Aspergilus nidulans*. **Mutation Research** v. 48, p. 163-172, 1977.

BATISTA, A.C. & BEZERRA, J.L.. Sobre o parasitismo de *Colletotrichum gloesporioides* Penz e outros fungos em *Orthezia praelonga* Douglas. **Broteria**, Lisboa, v.35, p.1-2, 1966.

BOLDYREV, M.I. Against the codling moth. **Zashchita Rastenii**, Moscow, 10(5): 24, 1977.

BULL, D. & HATHAWAY, D. **Pragas e Venenos: agrotóxicos no Brasil e no Terceiro Mundo.** Petrópolis, Vozes/OXFAN/FASE, 1986, 236p.

CASTRO, M.A.; ANDRADE, C.F.S.; WALKER, A.O.; HABID, M.E. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill com quatro agrotóxicos químicos. In: VI Congresso Brasileiro de Entomologia, Campinas, p.361, 1980.

CESNIK, R. & OLIVEIRA, G.C.G. *Colletotrichum gloeosporioides* isolado de *Ortezia praelonga* causando patogenicidade em *Coccoloba* sp.. **Summa Phytopathologica**, v.19, n.1, p.50, 1993.

CESNIK, R.; OLIVEIRA, G.C.G. & ROBBS, C.F. ***Colletotrichum gloeosporioides* isolado da *Ortezia praelonga*, um possível fitopatógeno?** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14.,1993, Piracicaba. Resumos. Piracicaba, SEB, 1993. p.310.

CESNIK, R.; FERRAZ, J.M.G.; OLIVEIRA, R.C.A.L.; ARELLANO, F.; MAIA, A.H.N. **Controle de *Orthezia praelonga* com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* isolado *Orthezia*, na região de Limeira, SP.** In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5., 1996, Foz do Iguaçu, PR. Anais: sessão de posters. Londrina: CNPSo / COBRAFI, 1996. P.363

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL (CATI). **Citros:** recomendações para o controle das principais pragas e doenças em pomares do Estado de São Paulo em 1986/87. 2.ed.revisada. Campinas: CATI, 1987. 34p. (Boletim técnico, 165).

CROCOMO, W.B. **Manejo de Pragas**. Editora Universidade Estadual Paulista, São Paulo, CETESB, 1990.

GIACOMTTI, D.C. Áreas citrícolas brasileiras e a ocorrência de *Orthezia* spp. Boletim do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, Rio de Janeiro, 21: 61-4, 1962.

GONÇALVES, C.R. & CASSINO, P.C.R.. **O problema da *Orthezia praelonga* na citricultura.** In: ENCONTRO NACIONAL DE CITRICULTURA, 5., Rio de Janeiro, 1987. 5p. (Mimeografado).

GRAVENA, S. & LARA, P.M. **Controle Integrado de pragas e receituário agronômico.** In: GRAZIANO NETO, F.. Uso de Agrotóxicos e Receituário Agronômico, São Paulo, Ed. Agroedições, p. 123-161, 1982.

HALL, R.A. The fungus *Verticillium lelcanii* as a microbial isecticidae against aphids and scales, 1981. **In**: BURGES, H.D. Microbial Control of Pests and Plants diseases, 1970-1980. London, Academic Press, p. 483-512.

KOGAN, M. Nota sobre as espécies do gênero *Orthezia* Bosq d'Antic, 1784, de importância econômica e que ocorrem no Brasil. **Agronomia**, Rio de Janeiro, v.22, p.134-144, 1964.

LECUONA, R.E. y DIAZ, B.M. Acción de ciertos insecticidas frente al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*. **In**: Congreso Argentino de Entomologia, 2º, Córdoba, 1991.

MELO,I.S. **Caracterização bioquímica e morfológica de *Colletotrichum gloesporioides*, agente de controle biológico de *Orthezia praelonga*.** In: ANÁLISE DE RISCO E IMPACTO AMBIENTAL DO USO DE AGENTES MICROBIANOS DE CONTROLE. Relatório anual / EMBRAPA/ CNPMA, 1996. Projeto 11.0.94.225.

MESSIAS, L.C. Parassexualidade em *Metarhizium anisopliae* (Matsch.) Sorokin. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 73p., 1979.

OLIVEIRA, R.C.A.L.; CESNIK, R.; RIBEIRO, A.S. **Crescimento micelial e produção de esporos do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* isolado**

***Orthezia* na presença de acaricidas-inseticidas-fungicidas.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16.; ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTAS, 7., 1997, Salvador, BA. Resumos. Salvador: SEB / EMBRAPA – CNPMF, p.295, 1997.

OLMERT, I. & KENNETH, R.G. Sensitivity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanni* and *Verticillium* sp. To fungicides and insecticides. **Environmental Entomology**, College Park, 3(1): 33-38, 1974.

PRATES, H.S. & PINTO, W.B.S. *Orthezia*: uma praga potencial. **Casa da Agricultura**, Campinas, v.9, n.6, p.16-19, 1987.

ROBBS, C.F. O piolho branco da laranjeira, uma ameaça à citricultura do Distrito Federal. **Boletim do Campo**, Rio de Janeiro, v.3, n.19, p.1-4, 1947.

ROBBS, C.F. Frutíferas e hortaliças cultivadas, enfermidades e pragas nos Estados de Guanabara e Rio de Janeiro. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, v.3, p.11-18, 1973.

ROBERTS, D.W. and CAMPBELL, A . S. Stability of Entomopathogenic fungi. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, College Park, 10(3): 19-76, 1977.

ROBERTS, D.W. Toxins of entomopathogenic fungi. In: BURGES, H.D. ed. Microbial control of pests and planta deseases, 1970-1980. London, Academic Press. V. 2, p. 201-236.

SCHNEIDER, M.O. **Bacia do Rio Uberabinha: uso agrícola do solo e meio ambiente**. São Paulo, 1996, Tese de Doutorado, 157p.

SIKURA, I.A., and ZHIGAEV, G.N. The effectiveness of Boverin against the codling moth. **Zashchita Rastenni**, Moscow, 17(2): 21-22, 1972.

SMITH, R.F. & VAN DEN BOSH, B. **Integrate control**. In: KILGORE, W.W. & DOUTT, R.L. (eds) Pest Control. Biological, Physical and Selected Chemical Methods, New York Academic Press, p. 295-340, 1967.

ZAMBRONE, F.A..D. Perigosa Família. **Ciência Hoje**. Rio de Janeiro, v. 4, n.22, jan/fev. 1986, p.44.