

EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS E AMBIENTES DO FUNGO  
ENTOMÓGENO *Nomuraea rileyi* (FARLOW) SAMSON E SEU  
COMPORTAMENTO NA PRESENÇA DE  
DEFENSIVOS AGRÍCOLAS

LUIZ CANICIO LOCH  
ENGº AGRº - UFRGS

Prof. Dr. HIROSHI KIMATI  
ORIENTADOR

Tese apresentada à Escola  
Superior de Agricultura "Luiz de  
Queiroz", da Universidade de São  
Paulo, para obtenção do título de  
Doutor em Fitopatologia.

PIRACICABA  
Estado de São Paulo - Brasil  
junho, 1978

À

memória de minha mãe CAROLINA.

Ao

meu pai AUGUSTO ALFREDO a quem tudo devo,

minha gratidão.

À

minha esposa HELOISA,

meus filhos LUIZ FERNANDO e RODRIGO,

ao

meu pai,

DEDICO.

## AGRADECIMENTOS

O autor deseja expressar seus sinceros agradecimentos às seguintes pessoas e instituições:

- ao Prof. Dr. HIROSHI KIMATI (Orientador);
  - ao Prof. Dr. FERDINANDO GALLI;
  - ao Prof. Dr. ERIC BALMER;
  - ao Prof. Dr. CAIO O. N. CARDOSO;
  - ao Prof. Dr. CLÉLIO L. SALGADO;
  - ao Prof. Dr. TASSO LEO KRUGNER;
  - ao Prof. Dr. DÉCIO BARBIN;
  - ao Prof. Dr. HASIME TOKFUSHI;
  - ao Prof. Dr. J.P. DA COSTA NETO;
  - à Profa. Dra. ELKE J.B.N. CARDOSO;
  - ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> JORGE YAMASHITA (EMBRAPA-Londrina, PR);
  - ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> M.S. RAMON MONTOYA H. (Colômbia);
  - ao colega ANTONIO LOURENÇO GUIDONI;
  - à colega AUGUSTA C. DE CAMARGO CARMELO;
  - ao Departamento de FITOTECNIA da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul-Porto Alegre;
  - ao Departamento de FITOPATOLOGIA da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo;
  - ao Programa de Ensino Agrícola Superior (PEAS);
- a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

## ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. RESUMO.....	1
2. INTRODUÇÃO .....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
4.1. Exigências Nutricionais de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	15
4.1.1. Experimento 1 .....	17
4.1.2. Experimento 2 .....	17
4.1.3. Experimento 3 .....	18
4.1.4. Experimento 4 .....	18
4.2. Influência do Regime de Luz e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> ....	19
4.3. Influência do Tempo de Incubação e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de <i>N. rileyi</i> ....	20
4.4. Influência da Concentração de Inóculo e Período de Incubação na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> ...	20
4.5. Influência de Defensivos Agrícolas sobre o Fungo <i>Nomuraea rileyi</i> .....	21
5. RESULTADOS .....	27
5.1. Exigências Nutricionais de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	27
5.2. Influência do Regime de Luz e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> . ..	28
5.3. Influência do Tempo de Incubação e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	29
5.4. Influência da Concentração de Inóculo e Períodos de Incubação sobre a Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	30
5.5. Influência do 1º Grupo de Fungicidas sobre o Desenvolvimento Micelial de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	31
5.6. Influência do 1º Grupo de Fungicidas na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	31

	<u>Página</u>
5.7. Influência do 2º Grupo de Fungicidas no Desenvolvimento Micelial de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	33
5.8. Influência do 2º Grupo de Fungicidas na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	35
5.9. Influência do 1º Grupo de Inseticidas no Desenvolvimento Micelial de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	36
5.10. Influência do 1º Grupo de Inseticidas na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> . .....	36
5.11. Influência do 2º Grupo de Inseticidas no Desenvolvimento Micelial de <i>Nomuraea rileyi</i> . .....	36
5.12. Influência do 2º Grupo de Inseticidas na Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	39
5.13. Influência de Herbicidas no Desenvolvimento Micelial e Esporulação de <i>Nomuraea rileyi</i> . .....	39
5.14. Teste de Patogenicidade dos Esporos de <i>Nomuraea rileyi</i> .....	40
6. DISCUSSÃO .....	41
7. CONCLUSÕES .....	47
8. SUMMARY .....	49
9. LITERATURA CITADA .....	51
10. APÊNDICE .....	55

## 1. RESUMO

Um isolado do fungo entomógeno *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, oriundo de Londrina (PR), foi estudado com referência a alguns aspectos de sua nutrição e de seu comportamento na presença de 16 fungicidas, 16 inseticidas e 8 herbicidas indicados para a cultura da soja.

Foram levados em consideração fatores como regime luminoso, dosagem de extrato de levedura, concentração do inóculo e dias de incubação na esporulação do fungo. Também tentou-se verificar a deficiência nutricional de *N. rileyi*.

Os defensivos agrícolas foram testados "in vitro" em três concentrações (10, 100 e 1000 ppm) e os cálculos destas dosagens foram feitos considerando-se apenas o ingrediente ativo presente no produto comercial.

Além dos aspectos nutricionais estudados, observou-se que o hábito de crescimento de *N. rileyi* não se apresenta, inicialmente, com aspecto leveduriforme quando é cultivado sobre meio mínimo enriquecido com extrato de levedura.

Foi verificado que a presença de luz e a quantidade de extrato de levedura influenciam positivamente a esporulação do fungo. As duas concentrações de inóculo usadas ( $10^4$  e  $10^6$  esporos/ml) não tiveram efeito

sobre a quantidade de esporos produzidos pelo fungo. Observou-se também que a caseína mais vitaminas pode substituir parcialmente o extrato de levedura, porém, o crescimento e a esporulação do fungo são retardadas.

Os fungicidas, de maneira geral, inibiram tanto o crescimento como a esporulação do fungo, entretanto, o Dodine e o Chloroneb mostraram-se completamente inócuos nas três concentrações usadas. Dos 16 inseticidas testados, o CGA 15.324, Lindane, Parathion e Fenitrothion inibiram o desenvolvimento micelial e esporulação de *N. rileyi* e Phosalone, Toxafeno + Phosalone, Endossulfan e Camphechlor inibiram apenas a esporulação do fungo.

De 8 herbicidas testados sobre o fungo, apenas o Dinoseb inibiu o desenvolvimento do micélio e a esporulação do fungo.

Pode ser concluído, através do estudo com defensivos, que o processo de esporulação de *N. rileyi* é mais sensível aos produtos químicos testados do que o desenvolvimento micelial.

## 2. INTRODUÇÃO

Apesar do grande número de defensivos agrícolas com as mais diversas finalidades atualmente em uso no Brasil e no mundo, existe grande potencialidade para lançar-se mão de organismos existentes na natureza para o controle de diferentes pragas da agricultura. Os produtos químicos, além de seu papel destruidor de pragas, agem, muitas vezes, de maneira total destruindo tanto a praga como seus inimigos naturais. Aqueles produtos, além disso, ainda podem provocar malefícios a organismos tais como peixes, aves e outros animais de maior porte, inclusive o homem.

O controle biológico ainda está pouco explorado e difundido em virtude de várias razões. Uma delas é o pouco conhecimento ainda existente acerca da biologia dos organismos que podem atuar neste tipo de controle. Outro aspecto é que os microrganismos tais como bactérias e fungos entomógenos muitas vezes são difíceis de serem desenvolvidos em meio de cultura artificial na ausência de hospedeiro. Esses conhecimentos básicos, além de outros, são imprescindíveis para a obtenção de resultados promissores em tal tipo de técnica agronômica.

Visto que o controle biológico não pode ser usado em todos os casos, devem ser considerados os vários tipos de controle de maneira integrada de sorte que um não interfira negativamente sobre o outro. O controle integrado vale-se tanto do uso de produtos químicos como dos agentes vivos controladores naturais de pragas. Para tanto, vários aspectos

devem ser considerados e conhecidos para que o sistema seja realmente eficiente. No caso de utilização de fungos é muito importante a produção de esporos viáveis e patogênicos em grande número em laboratório, visando sua utilização no campo. Outro aspecto de fundamental importância no controle integrado é o conhecimento da ação dos vários tipos de defensivos agrícolas sobre a população de agentes vivos atuantes no controle das pragas.

Visto que *Nomuraea rileyi* é um fungo entomógeno de atuação bastante expressiva no controle de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* em soja, um dos objetivos do presente trabalho é a obtenção de informações sobre a influência de alguns fatores na produção de esporos daquele fungo em laboratório. Outra finalidade é estudar a influência de vários defensivos agrícolas sobre o microrganismo em questão.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

O fungo entomógeno *Nomuraea rileyi*, referido pelos autores por denominações diversas tais como *Beauveria rileyi*, *Botrytis rileyi* ou *Spicaria rileyi*, foi reestudado por KISH et alii (1974) em virtude das con fusões taxonômicas existentes. Esses autores, através do exame das carac terísticas daqueles fungos, chegaram à conclusão de que se tratava do mes- mo organismo ao qual deram a nova denominação de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. KISH et alii (1974) deram ainda a seguinte descrição do fungo : "as colônias sobre malte-ágar a 25°C crescem bastante lentamente atingindo um diâmetro de 0,7 a 1,2 cm dentro de um mês, consistindo de um feltro ba- sal do qual surgem conidióforos eretos, geralmente muito próximos entre si, ocasionalmente cobertos com um sobrecrescimento flocoso de micélio aéreo e as estruturas conidiais esporulantes ocorrendo somente em áreas localiza - das. No início, a cor da colônia é verde-pálida, quase um verde "Turtle" pálido mudando para verde "Olivine" e "Malachite". Ausência de odor e exsudato. Reverso incolor ou amarelado. Hifas vegetativas lisas, septa das, hialinas e levemente pigmentadas, 2 - 3  $\mu$ m em diâmetro. Conidiófo - ros eretos, septados, surgindo de hifas submersas, até 160  $\mu$ m em comprimen to e 2,2 - 5 mm em diâmetro suportando apicalmente nos seus septos 2 - 4 verticilos de ramificações a distâncias de 10 - 25  $\mu$ m, cada um deles supor tando verticilos compactos de duas a três fiáides, formando juntos cacho envolvendo o conidióforo. Ramificações de 5,5 - 8 x 2,5 - 4  $\mu$ m, geralmen te cilíndricas curtas, ocasionalmente com uma base inchada, com pescoço ausente ou mais curto. Conídios em cadeias divergentes secas, amplamente

elipsóides, às vezes cilíndricos ou quase cilíndricos, lisos, verde-pálidos, verdes em massa, 3,5 - 4,5 x 2 - 3,1  $\mu$ m. Na natureza, o fungo cobre as larvas com um feltro branco, bastante denso, de hifas, das quais surgem conidióforos bastante próximos uns dos outros formando uma coluna algo verde-pálida."

GETZIN (1961) já havia descrito a colônia de *N. rileyi*, referindo que o crescimento no meio de cultura, a partir de esporos, é mucoso, semelhante àquele de leveduras ou bactérias. Este crescimento mucoso era seguido por hifas brancas típicas, como estágio vegetativo maduro do fungo.

Uma série de autores já enfatizou a grande potencialidade do uso de *Nomuraea rileyi* para o controle biológico (JOHNSON et alii, 1976; SMITH et alii, 1976; IGNOFFO et alii, 1975; KISH et alii, 1974 e BELL, J. V., 1975). A ocorrência do fungo *N. rileyi* já tem sido extensivamente registrada em vários Estados do Brasil, porém, maior ênfase ao fungo tem sido dada nos Estados Unidos da América do Norte, onde tem sido conduzida a maioria dos trabalhos.

A ocorrência cosmopolita desse fungo está associada a várias espécies de insetos. Assim, citam-se como suscetíveis, entre outros os seguintes: *Trichoplusia ni* (GETZIN, 1961), *Pseudoplusia includens* (GUDAUSKAS e CANERDAY, 1966), *Anticarsia gemmatalis* (HEINRICHS e da SILVA, 1975), *Heliothis* spp (ROACH, 1975 e BURLEIGH, 1975), *Galleria mellonella* (BELL, 1975) e *Heliothis subflexa* (BELL et alii, 1976). O espectro de hospedeiros é confirmado e ampliado pelo trabalho de PUTTLER et alii (1976) que citam como suscetíveis as seguintes espécies de insetos: *Trichoplusia ni*, *Heliothis zea*, *Heliothis virescens*, *Plathypena scabra*, *Spodoptera exigua*, *Peridroma saucia*, *Pseudoplusia includens* e *Anticarsia gemmatalis*.

GETZIN (1961) conduziu um trabalho usando 5 instares de *Trichoplusia ni* e fez uma aplicação dermal de uma suspensão de esporos (1 x 10<sup>6</sup> esporos por ml), de *N. rileyi*. Verificou que a maior suscetibilidade daquelas larvas se manifestou no primeiro e segundo ínstar, apresentando uma mortalidade de 58%. Gradualmente, conforme pode ser observado pelo

estudo, a suscetibilidade diminuiu até chegar à resistência total no quinto ínstar das larvas, onde não foi mais observada nenhuma morte devida à infecção por *N. rileyi*.

Para utilização de fungos entomógenos, em controle biológico, torna-se necessária a produção em massa de esporos em laboratório. Para tanto, é imprescindível definir um meio de cultura sobre o qual o fungo consiga crescer e esporular abundantemente, bem como estabelecer as condições ótimas para o desenvolvimento do microrganismo. Diversos trabalhos têm sido feitos por autores com o objetivo de encontrar um meio adequado para *N. rileyi*.

GETZIN (1961) cultivou o fungo sobre um meio de cultura constituído por 5% de batata, 1% de gema de ovo fresco, 1% de fermento seco ativo, 1% de Bacto-peptona e 1,5 de ágar, obtendo esporos do fungo.

GUDAUSKAS e CANERDAY (1966) utilizaram o mesmo meio de cultura referido por GETZIN para desenvolvimento de *N. rileyi* e relatam que, mantendo o fungo incubado à temperatura de 25°C, o micélio cresceu rapidamente e houve formação de abundantes conídios num período de 7 a 10 dias.

Em trabalho realizado por BEHNKE e PASCHKE (1966), foram testados vários meios de cultura para crescimento e esporulação de *N. rileyi*. Os autores do trabalho observaram que intensa esporulação foi obtida sobre infusão de feno-ágar, ao passo que o melhor crescimento vegetativo se verificou sobre farinha de trigo-ágar e batata-dextrose-ágar.

Em 1974, BELL e HAMALLE usaram o meio Sabcuraud-ágar com 1% de extrato de levedura, sobre o qual verificaram a germinação dos esporos de *N. rileyi* conservados de maneiras diversas.

KISH et alii (1974), ao reunirem sob o nome de *Nomuraea rileyi* as denominações anteriores deste fungo entomógeno, cultivaram-no sobre malte-ágar à temperatura de 25°C e obtiveram conídios nestas condições.

Em seu experimento sobre produção de esporos, em meio líquido e sólido, BELL (1975) usou o meio Sabouraud-maltose com 1% de extrato de levedura, com e sem ágar. No meio líquido houve maior produção de esporos do que no meio sólido; entretanto, os conídios obtidos naquele meio não se mostraram patogênicos quando testados sobre *Galleria mellonella* e os produzidos em meio sólido foram patogênicos àquele inseto.

Em trabalhos feitos posteriormente, como os de IGNOFFO et alii (1975), KISH (1975), IGNOFFO et alii (1976) e PUTTLER et alii (1976), sempre foi usado o meio de cultura Sabouraud-maltose-ágar (SMA) enriquecido com 0,5 ou 1% de extrato de levedura para crescimento e esporulação de *N. rileyi* e parece que aquele meio de cultura tem satisfeito até hoje aos pesquisadores.

KISH e ALLEN (1976) determinaram a produção de esporos por  $\text{mm}^2$  de área do corpo de larvas de *Pseudoplusia includens* e chegaram a determinar a equação de regressão para o cálculo do número de esporos produzidos por  $\text{mm}^2$  de área do corpo da larva.

Quanto à temperatura de incubação de *N. rileyi*, a totalidade dos autores é unânime em considerar 25°C como a melhor para esporulação daquele fungo. Já em 1961, GETZIN citou que o melhor crescimento se dava àquela temperatura e que a esporulação ocorria entre 8 a 14 dias de incubação do fungo. GUDAUSKAS e CANERDAY (1966) citam que obtiveram abundante esporulação a 25°C sobre o meio de cultura de gema de ovo, num período de 7 a 10 dias. Da mesma forma, BEHNKE e PASCHKE (1966), KISH et alii (1974), BELL (1975), KISH (1975) e IGNOFFO et alii (1975) em seus estudos com *N. rileyi* sempre incubaram o microrganismo à temperatura de 25°C. Apenas IGNOFFO et alii (1976) fizeram um estudo mais crítico acerca da influência da temperatura de incubação sobre o crescimento e esporulação daquele fungo. Verificaram que não houve crescimento do fungo quando ele foi exposto continuamente a temperaturas de 5, 35, 37 ou 40°C. A 15°C o crescimento foi registrado somente após 10 dias de incubação, ao passo que, a 20, 25 e 30°C o crescimento era evidente após 5 dias de incubação e o melhor crescimento foi obtido na temperatura de 25°C. A temperatura ótima para

esporulação do fungo, ainda segundo o estudo dos mesmos autores, coincidiu com aquela para crescimento, ou seja, 25°C.

Pelo que se depreende da literatura consultada e acima citada apesar de terem sido usados diferentes meios de cultura para crescimento e esporulação de *N. rileyi*, não houve preocupação de analisar com certa profundidade os possíveis fatores nutricionais envolvidos, restando, portanto, muito estudo a ser feito nesse sentido. Também, pelo que se conhece de fungos em geral (COCHRANE, 1958; LILLY e BARNETT, 1951), outros fatores que podem influir na formação de esporos, como luz, período de incubação e concentração de inóculo não foram considerados.

Além da necessidade de obtenção de esporos em massa em laboratório, é condição essencial que os esporos produzidos apresentem viabilidade e patogenicidade. BEHNKE e PASCHKE (1966) realizaram testes de patogenicidade com esporos produzidos sobre infusão de feno-ágar. Os esporos aí produzidos e inoculados em *Trichoplusia ni* mataram 80% das larvas em 10 dias.

Outro estudo, conduzido por BELL e HAMALLE (1974), mostrou que os esporos de *N. rileyi* conservados sobre sílica-gel permaneceram viáveis após um período de 3 anos de armazenamento a -20°C. Entre os fungos entomógenos testados por esses autores, *N. rileyi*, após 3 anos naquelas condições, ainda conseguiu causar mortalidade de 84% das larvas de *Trichoplusia ni*, decorridos 6 a 8 dias após a inoculação no inseto.

BELL (1975) também realizou um estudo sobre a patogenicidade dos esporos de *N. rileyi* produzidos em meio de cultura. Usou Sabouraud-maltose na forma líquida (sem ágar), e na forma sólida (com ágar). No meio líquido houve maior produção de esporos, porém, esses haviam perdido a patogenicidade, visto que, quando inoculados em lagartas de *Galleria mellonella*, não conseguiram infectá-las. Aqueles produzidos em meio sólido causaram 98% de mortalidade nas lagartas em 14 dias.

BAJAN (1973), trabalhando com duas espécies de *Paecilomyces*,

mostrou que a patogenicidade ao inseto *Leptinotarsa decemlineata* diminuía de acordo com o método de cultivo dos fungos antes de sua inoculação. Assim, este estudo mostrou que, cultivando *P. fumoso-roseus* e *P. farinosus* separadamente e juntando seus esporos na oportunidade da inoculação do inseto, a patogenicidade de ambos mostrou-se diminuída. Mostrou ainda que houve efeito sinérgico quando, antes da inoculação, as duas espécies eram cultivadas juntas sobre o mesmo meio de cultura.

Aspecto muito importante no estudo de microrganismos com potencial para emprego em controle biológico e, para uso em controle integrado, é a questão da compatibilidade ou não do microrganismo com defensivos agrícolas. Isto se revela de grande importância para todos aqueles microrganismos que controlam pragas porque o controle integrado de insetos está intimamente relacionado com a ação de defensivos agrícolas sobre organismos úteis. O desconhecimento dessa ação pode redundar em desequilíbrio biológico sendo, portanto, imprescindível que se estudem as possíveis interações dos defensivos com os componentes bióticos úteis. As informações decorrentes destes estudos são de importância fundamental para o êxito de tal tipo de controle.

IGNOFFO et alii (1975) estudaram a influência de 44 defensivos agrícolas sobre *N. rileyi*. Neste estudo, os autores utilizaram três concentrações de cada produto, a saber: a dose média recomendada na bula, a metade e a décima parte desta dose. Dentre os produtos, os autores utilizaram 8 fungicidas, 11 herbicidas e 25 inseticidas. Os resultados do estudo mostraram que, dos 8 fungicidas testados, 7 inibiram o crescimento de *N. rileyi*, mesmo naquelas dosagens 10 vezes inferiores àquela recomendada. Assim, Bravo (chlorotalonil) e Ferbam foram os dois fungicidas mais efetivos. Além desses, Dithane M-45 (Mancozeb), Duter (Hidróxido de trifenil estanho), Fungisperse (Enxofre + Zineb) e Manzate (Maneb) também inibiram o crescimento de *N. rileyi*. Ainda nesse mesmo estudo, os autores mostraram que 4 dos 11 herbicidas testados inibiram o crescimento do fungo. Dos 25 inseticidas, 13 causaram alguma inibição do microrganismo. Esse estudo foi conduzido em laboratório, sendo usado o meio de cultura SMA.

Por outro lado, JOHNSON et alii (1976) fizeram um trabalho utilizando três defensivos (Benomyl, Benomyl + Metil-parathion e Benomyl + Carbaryl) e avaliaram a ação desses produtos sobre o desenvolvimento natural de *N. rileyi* sobre lagartas de *Anticarsia gemmatalis* no campo. Esses autores citam que o efeito da aplicação de Benomyl se refletiu no fato de que, para populações comparáveis, na testemunha, após uma semana da aplicação do tratamento, a taxa de infecção por *N. rileyi* foi 10 vezes maior. Os tratamentos nos quais foram incluídos Carbaryl e Metil-parathion reduziram as populações de *Anticarsia gemmatalis*, reduzindo, assim, o substrato para o desenvolvimento de *N. rileyi*. Os autores desse trabalho apontam duas consequências dos tratamentos: 1º) apesar de as populações de larvas nas testemunhas diminuíram inicialmente, após duas aplicações de defensivos as populações de lagartas foram maiores nas parcelas tratadas do que na testemunha; 2º) o início das condições de epizootia, nas parcelas tratadas, foi retardado, no mínimo, por três semanas.

Para *N. rileyi*, os estudos ainda são relativamente escassos, entretanto, para outros microrganismos a disponibilidade de dados já é bem maior, conforme pode ser atestado pela literatura. A importância do estudo da compatibilidade de defensivos agrícolas com microrganismos úteis pode ser ressaltada ainda por estudos conduzidos com diversos agentes cujo valor em controle integrado e biológico é indiscutível.

RAMARAJE et alii (1967) estudaram a ação de inseticidas sobre os fungos entomógenos *Beauveria bassiana* e *Metarrhizium anisopliae* quanto ao seu crescimento e esporulação em meio líquido e sólido. Utilizaram 5 dosagens para cada produto químico empregado. Os estudos realizados mostraram que o BHC, em qualquer concentração, tanto no meio líquido como no sólido, inibiu o crescimento dos dois fungos. *B. bassiana* não cresceu em qualquer concentração de Endrin, no meio líquido e cresceu pobremente na concentração mais baixa (0,04%) sobre meio sólido, onde tanto *B. bassiana* como *M. anisopliae* foram totalmente inibidos em concentrações mais altas. O Folidol, conforme os autores, favoreceu o crescimento de *B. bassiana* em meio líquido, apenas sua esporulação foi retardada. No meio sólido, esse fungo cresceu sem maiores problemas. *M. anisopliae*

cresceu e esporulou nas concentrações mais baixas (0,04 a 0,06%) de Foli - dol, em meio líquido, sendo que em concentrações superiores apenas se desenvolveu vegetativamente. O crescimento de *B. bassiana* em meio líquido foi inibido por DDT a 0,1 e 0,5%, havendo desenvolvimento nas demais concentrações, resultando, porém, em retardamento da esporulação. Por outro lado, *M. anisopliae* não se desenvolveu somente em concentração de 0,5% em meio líquido. Em meio sólido, os dois fungos não conseguiram crescer na maior concentração de DDT (0,5%). Por último, o inseticida Dimecron foi o mais inócuo dos produtos testados, tanto no meio líquido como no sólido. Este produto, nas concentrações mais baixas, favoreceu o crescimento de *B. bassiana*.

OLMERT e KENNETH (1974) também se ocuparam do estudo do efeito de produtos químicos sobre fungos entomógenos. Usaram, em seu estudo, os fungos *B. bassiana*, *Verticillium lecanii* e *Verticillium* sp., sobre os quais testaram 9 fungicidas e 14 inseticidas e acaricidas. Os resultados desse trabalho mostraram que todos os produtos químicos, com exceção do Levanola ("White Summer Oil"), causaram alguma inibição do crescimento de *Verticillium* em concentrações  $10^{-4}$  das dosagens recomendadas para uso. Os autores verificaram também grandes variações em sensibilidade, para um determinado fungicida, entre isolados de uma mesma espécie fúngica em ambos os gêneros. Isso aconteceu com os fungicidas Captan, Oxicloreto de cobre, Dinocap e Binapacryl e com os inseticidas Trichlorfon e óleo parafínico. Em ambos os gêneros (*Beauveria* e *Verticillium*) e em todos os isolados, a maior inibição foi causada pelos fungicidas Benomyl e Maneb, nas dosagens recomendadas e na concentração  $10^{-1}$  daquelas. Em outro extremo, oxicloreto de cobre e dinocap foram os menos ativos sobre todos os fungos (exceção apenas para um isolado de *B. bassiana*).

Dos inseticidas, nas dosagens recomendadas, o Fluorosilicato de sódio, Dichlorvos e Cloropyrifos foram os que causaram maior inibição do crescimento de *Verticillium* spp. Somente o Fluorosilicato de sódio inibiu a germinação dos esporos de *B. bassiana*.

Entre os microrganismos que atuam no controle de insetos também se situa a bactéria *Bacillus thuringiensis*, com a qual vários trabalhos têm sido conduzidos. Numa revisão sobre *B. thuringiensis*, HEIMPEL (1967) cita que esse organismo é compatível com 26 defensivos agrícolas. É de notar-se, assim, que esta bactéria é altamente resistente aos diversos defensivos, o que é muito importante em controle integrado.

SUTTER et alii (1971) estudaram a compatibilidade de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* com diversos inseticidas e em diferentes dosagens. Esse estudo mostrou que, dos 12 inseticidas testados, apenas o Aldrin, Heptachlor e DDT em dosagens de 0,93, 2,25 e 4,5 ppm reduziram significativamente as taxas de crescimento da bactéria. Em outro estudo, realizado por CREIGHTON e McFADEN (1974), com *B. thuringiensis*, os autores observaram ações complementares de baixas doses da bactéria com Hidroclorato de Chlordimeform no controle de lagartas de *Trichoplusia ni*. Os resultados mostraram que o produto químico e a bactéria foram igualmente eficientes no controle do inseto, porém a mistura da bactéria com o produto químico deu controle excepcional da lagarta. Também CHEN et alii (1974) conduziram um trabalho semelhante ao anterior. Aqui, os autores testaram o efeito de vários inseticidas sobre *B. thuringiensis* e verificaram que havia efeito de sinergismo entre alguns produtos e a bactéria. Tal efeito foi observado na sobrevivência de esporos do microrganismo. Carbaryl foi um produto que mostrou claramente esta ação de sinergismo com a bactéria. Também Methomyl, Phosmet e Carbofuran mostraram ação sinérgica. Stirophos, por sua vez, mostrou efeito inibidor sobre a bactéria e Trichlorfon e Propoxur não mostraram nenhum efeito sobre a bactéria.

Aspecto bastante importante nos trabalhos em que são testados os efeitos de defensivos sobre fungos entomógenos é o que diz respeito à metodologia adotada. Nem sempre a mesma metodologia é aplicável em todos os casos. O método usado por IGNOFFO et alii (1975) no estudo da ação de vários defensivos agrícolas sobre *N. rileyi* difere completamente daquele usado por OLMERT e KENNETH (1974) em estudos semelhantes conduzidos com *Beauveria* e *Verticillium*. A técnica usada por IGNOFFO et alii (1975) consistiu em fazer diluições dos produtos químicos (defensivos) em água desti

lada esterilizada. Uma hora após a inoculação do meio de cultura com os conídios, os autores utilizaram discos de papel (6 mm de diâmetro) esterilizados, os quais eram mergulhados nas soluções dos defensivos e, a seguir, colocados no centro das placas sobre o meio de cultura. A avaliação foi feita pelos autores através da medida do diâmetro do halo de inibição formado ao redor do disco contendo o defensivo.

Na técnica usada por OLMERT e KENNETH (1974) para *Beauveria* e *Verticillium*, os defensivos foram adicionados ao meio de cultura e, posteriormente, os diâmetros das colônias fúngicas foram medidos para avaliação do efeito dos defensivos sobre os dois fungos.

Pela metodologia diferente usada, bem como pela maneira diferente da avaliação usada nos dois trabalhos acima referidos, pode-se compreender que dificilmente os resultados obtidos nos dois trabalhos teriam condições de serem comparados.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

##### 4.1. Exigências Nutricionais de *Nomuraea rileyi*

Para esses ensaios e para os restantes foi utilizado o fungo *N. rileyi* isolado de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* provenientes de Londrina, Estado do Paraná.

O fungo foi isolado diretamente das lagartas transferindo-se, com auxílio de uma agulha histológica, os esporos para o meio de cultura. Sempre se acrescentaram 200 ppm de sulfato de estreptomicina ao meio de cultura para evitar a contaminação por bactérias. Foram necessárias três repicagens para obtenção de cultura pura do fungo. Durante o crescimento e esporulação as culturas foram mantidas a temperaturas ao redor de 25°C. Uma vez esporuladas, as colônias foram mantidas em incubadora até o dia de seu uso em experimento. O meio de cultura usado para crescimento, esporulação e conservação foi Sabouraud-maltose-ágar (SMA), cuja composição por litro é a seguinte: 10 gramas de Neopeptone (DIFCO), 40 gramas de maltose e 10 gramas de extrato de levedura (DIFCO).

Durante os trabalhos experimentais sempre que necessário foram feitas repicagens das culturas armazenadas.

Os ensaios sobre exigências nutricionais de *Nomuraea rileyi* foram conduzidos utilizando-se os meios de cultura SMA e o meio mínimo

(MM) de PONTECORVO e colaboradores (1953) modificado por KIMATI (1975) através da substituição de traços de  $\text{FeSO}_4$  e de  $\text{ZnSO}_4$  por uma solução de micronutrientes preparada de acordo com LILLY e BARNETT (1951), com o emprego de 723,4 mg de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ , 439,8 mg de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  e 203,0 mg de  $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  dissolvidos em 1.000 mililitros de água destilada e clarificada com ácido sulfúrico. Os demais constituintes do meio mínimo foram : glicose 10 gramas;  $\text{NaNO}_3$  6 gramas;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,5 gramas;  $\text{KCl}$  0,5 grama;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  0,5 gramas; solução de micronutrientes 1,0 ml; ágar 15 gramas.

Os meios de cultura foram esterilizados a  $121^\circ\text{C}$  durante 20 minutos. O sulfato de estreptomicina sempre foi adicionado aos meios de cultura, colocando-se o antibiótico nas placas de Petri e derramando-se, a seguir, o meio de cultura. Sempre foram colocados 20 mililitros do meio por placa de Petri. Feito isso, preparou-se a suspensão de esporos a partir das culturas armazenadas. Para tanto, esterilizaram-se aproximadamente 10 mililitros de água destilada contendo uma gota de TWEEN 80. Transferiram-se, com o auxílio de uma alça de platina ou agulha histológica com ponta em forma de lança, os conídios do fungo para a água esterilizada. A determinação da concentração de esporos da suspensão foi feita através da câmara de Neubauer (hemocitômetro).

Com o meio de cultura já solidificado nas placas, colocou-se 0,1 mililitro da suspensão de esporos em cada placa, espalhando-se posteriormente os esporos com o auxílio de alça de Drigalski para haver distribuição uniforme dos conídios sobre toda a superfície do meio de cultura. Em todos os experimentos foram usadas três repetições e o delineamento seguido foi o de tratamentos inteiramente casualizados. As placas com o meio de cultura e os esporos do fungo foram depois transferidas para incubadora.

#### 4.1.1. Experimento 1.

Nesse experimento procurou-se determinar a deficiência nutricional de *N. rileyi* através da técnica da auxanografia. Para isso foi instalado um ensaio utilizando-se o meio mínimo e suplementando-o com extrato de levedura (DIFCO), 10 g/litro, e caseína hidrolisada (Nutritional Biochemicals Corporation), 1,5 g/litro. A testemunha constou de meio mínimo sem adição de um ou outro nutriente.

A metodologia empregada seguiu aquela descrita no item 4.1. e os resultados foram avaliados após 10 dias de incubação do fungo numa temperatura variando entre 23 e 29°C. A avaliação foi feita através do crescimento e esporulação ou não do fungo nessas condições e meios.

#### 4.1.2. Experimento 2.

Esse experimento foi instalado usando-se diversos meios de cultura, tendo por objetivo a avaliação do crescimento e esporulação ou não do fungo nesses meios. Foram utilizados: meio mínimo, meio mínimo suplementado com 1,5 g de caseína hidrolisada por litro, meio mínimo suplementado com 10 g de extrato de levedura por litro, meio mínimo suplementado com 10 g de Neopeptone (DIFCO) por litro, Sabouraud-maltose-ágar e Sabouraud-maltose-ágar sem extrato de levedura (DIFCO).

A metodologia seguida na instalação do experimento foi aquela descrita no item 4.1., e a incubação foi feita em condições ambientes, variando a temperatura entre 22 e 28°C.

A avaliação foi feita após 14 dias de incubação através do crescimento e esporulação ou não do fungo sobre aqueles meios de cultura.

#### 4.1.3. Experimento 3.

Após o ensaio com os diferentes meios de cultura tentou-se verificar a deficiência do fungo *N. rileyi* para algum elemento. Assim, instalou-se um experimento utilizando-se 8 vitaminas. As vitaminas utilizadas foram: biotina, tiamina, piridoxina, riboflavina, inositol, PABA, ácido fólico e ácido nicotínico.

Preparou-se solução estoque de cada vitamina utilizando-se 80 ml de água destilada, 20 ml de álcool etílico absoluto e 10mg de cada vitamina. As soluções assim preparadas em frascos Erlenmeyer foram envoltas em papel alumínio, tampadas e conservadas em geladeira até o momento de seu emprego.

Na oportunidade do preparo do meio mínimo com vitaminas, foi adicionado 1 ml da solução de vitamina para cada litro de meio de cultura, de modo que um tratamento recebeu as 8 vitaminas e nos outros meios omitiu-se sucessivamente sempre uma vitamina. Os dois outros tratamentos constaram do uso do meio mínimo e do SMA. O meio de cultura com as vitaminas foi esterilizado a 121°C durante 15 minutos, e a metodologia foi aquela descrita no item 4.1.

A avaliação dos resultados foi feita de maneira idêntica àquela descrita no experimento anterior, deixando-se o fungo incubado em condições ambientes durante 10 dias em temperatura que oscilou entre 23 e 28°C.

#### 4.1.4. Experimento 4.

Esse experimento foi semelhante ao experimento 3, com a diferença de que se acrescentou 1,5 g de caseína hidrolisada (Nutritional Biochemicals Corporation) por litro de meio mínimo. Assim, todos os tratamentos, com exceção do meio mínimo e do SMA, além das vitaminas, receberam caseína hidrolisada.

O fungo foi incubado em condições ambientes durante 14 dias e com oscilação de temperatura entre 22 e 28°C. Uma segunda observação foi realizada após 25 dias de incubação.

#### 4.2. Influência do Regime de Luz e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de *Nomuraea rileyi*

Verificado preliminarmente que o fungo em estudo não esporulava na ausência de extrato de levedura, em meio mínimo, foi instalado o presente experimento para verificar a existência ou não de interação entre três regimes de luz e quantidades crescentes de extrato de levedura (DIFCO) acrescentadas ao meio mínimo.

A metodologia seguida foi aquela descrita no item 4.1. Os regimes testados foram os seguintes: luz contínua, luz alternada (10 horas de luz seguidas por 14 horas de escuro) e escuro contínuo.

As placas submetidas ao regime de escuro contínuo foram embrulhadas em papel alumínio e assim permaneceram até o final do experimento. Aquelas com luz alternada, após 10 horas de regime de luz foram embrulhadas em papel alumínio durante 14 horas e assim sucessivamente até o final do experimento.

Outra variável em estudo constou de extrato de levedura adicionado ao meio mínimo nas quantidades de 2, 4 e 8 gramas por litro de meio. O fungo foi incubado em uma Biotronette Mark III Environmental Chamber sob lâmpadas fluorescentes distantes 53 cm das placas de Petri. O experimento obedeceu ao delineamento inteiramente casualizado.

Após 16 dias de incubação foi feita a avaliação contando-se o número de esporos produzidos por placa de Petri. Para tanto, recolheram-se os esporos das placas colocando água destilada sobre as colônias e fazendo a raspagem dos esporos com o auxílio de um pincel de artista. Recolhidos os esporos, obteve-se a quantidade dos mesmos realizando leituras com a câmara de Neubauer (hemocitômetro).

#### 4.3. Influência do Tempo de Incubação e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de *N. rileyi*.

Este experimento teve como objetivo testar as duas variáveis indicadas acima.

A metodologia usada seguiu aquela descrita no item 4.1. As quantidades de extrato de levedura acrescentadas a um litro de meio mínimo foram, respectivamente, 2, 4 e 8 gramas.

Os dias de incubação foram arbitrados em 8, 10, 12 e 14 dias. A avaliação dos resultados foi feita de maneira idêntica àquela descrita no item 4.1., retirando os esporos das placas e contando seu número através da câmara de Neubauer.

O fungo foi incubado em uma Biotronette Mark III Environmental Chamber e a temperatura de incubação oscilou entre 22 e 29°C.

#### 4.4. Influência da Concentração de Inóculo e Período de Incubação na Esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Foram preparadas duas suspensões de esporos contendo respectivamente  $10^4$  e  $10^6$  esporos por mililitro. As suspensões foram preparadas fazendo-se a contagem dos esporos através da câmara Neubauer e ajustando as concentrações para o número desejado de esporos por mililitro. O restante da metodologia seguiu aquela descrita no item 4.1.

O fungo foi incubado em uma Biotronette Mark III Environmental Chamber, oscilando a temperatura entre 23 e 27°C durante o experimento. O fungo desenvolveu-se sobre meio mínimo enriquecido com 10 gramas de extrato de levedura e na inoculação foram usados 0,2 ml de cada concentração de esporos por placa de Petri com o meio de cultura.

A avaliação foi realizada obtendo o número de esporos produzidos pelo fungo por placa de Petri após 8, 10, 12 e 14 dias de incubação

respectivamente. A contagem do número de esporos sempre foi feita usando-se o hemocitômetro (câmara de Neubauer).

#### 4.5. Influência de Defensivos Agrícolas sobre o Fungo *Nomuraea rileyi*.

Para os ensaios com defensivos o fungo foi cultivado e mantido em tubos de cultura contendo SMA inclinado, dentro de refrigerador, evitando-se, desta maneira, que o organismo continuasse a se desenvolver. Este método de conservação também teve por objetivo diminuir a contaminação das culturas por outros fungos.

Neste grupo de experimentos estudou-se a ação de 40 defensivos agrícolas sobre o crescimento micelial e esporulação de *N. rileyi*. Os produtos químicos que entraram nesses ensaios estão especificados nas Tabelas 1, 2 e 3, de acordo com o nome comercial, ingrediente ativo e concentração do ingrediente ativo.

Tabela 1. Relação dos fungicidas utilizados nos experimentos.

Produto Comercial	Ingrediente Ativo	Concentração do Ingrediente Ativo (%)
1º Grupo de Fungicidas		
Benlate	Benomyl	50,0
Demosan 65 W	Chloroneb	65,0
Tecto 60	Thiabendazol	60,0
Rodisan	Ziram	50,0
Cercobin M-70	Tiofanato metílico	70,0
Melprex	Dodine	65,0
Captan 75 PM Nortox	Captan	75,0
Manzate D	Maneb + Zn	82,0
Ortho Difolatan 50 PM	Captafol	50,0
2º Grupo de Fungicidas		
Derosal 60 PM	Carbendazim	60,0
Ferbam	Ferbam	76,0
Polyram Combi	Methiram	80,0
Antracol	Propineb	70,0
Brestan	Acetato de trifenil estanho	20,0
Daconil 2787	Chlorotalonil	75,0
Dithane M-45	Mancozeb	82,0
Benlate	Benomyl	50,0

Tabela 2. Relação dos inseticidas utilizados nos experimentos.

Produto Comercial	Ingrediente Ativo	Concentração do Ingrediente Ativo (%)
1º Grupo de Inseticidas		
Unden	Propoxur	20,0
Dimecron	Phosphamidon	50,0
Curacron	CGA 15.324	50,0
Fertilindane-20	Lindane	20,0
Folidol etílico 60	Parathion	60,0
Dimetoato 50 E	Dimethoato	50,0
Azodrin 60	Monocrotophos	60,0
Sumithion 50	Fenitrothion	50,0
2º Grupo de Inseticidas		
Zolone-350	Phosalone	35,0
Kilval	Vamidothion	40,0
Toxalone EC 500	{ Toxafeno	40,0
	{ Phosalone	10,0
Thiodan-EC	Endossulfan	35,0
Dipterex 80	Trichlorfon	80,0
Lannate	Methomyl	90,0
Toxaben 60	Campechlor	60,0
Sevin 85	Carbaryl	85,0

Tabela 3. Relação dos herbicidas utilizados nos experimentos.

Produto Comercial	Ingrediente Ativo	Concentração do Ingrediente Ativo (%)
Blazer LC	Acifluorfen sódico	48,0
Lorox	Linuron	50,0
Lexone	Metribuzin	70,0
Trifluralina	Trifluralina	44,5
Laço	Alachlor	43,0
Dual 500 EC	Metolachlor	50,0
Vernam 6 E	Vernolate	77,8
Premerge	Dinoseb	51,0

Foram feitos 5 experimentos com os defensivos, utilizando-se os produtos nas dosagens de 10, 100 e 1.000 ppm do ingrediente ativo de cada defensivo comercial. Desta maneira, foram utilizados 40 produtos químicos.

A metodologia de instalação dos experimentos foi aquela descrita no item 4.1. Para a aplicação dos produtos sobre o fungo utilizaram-se discos de papel absorvente (SCHLEICHER & SCHLEICHER INC.) de 6,35 mm de diâmetro, os quais, após serem esterilizados, foram mergulhados nas soluções dos defensivos e colocados no centro da placa sobre o meio de cultura já contendo os esporos do fungo. Em cada placa foram colocados 20 ml do meio de cultura (SMA). O tratamento-testemunha, em todos os experimentos com defensivos, constou de placas sobre cujo meio de cultura foi colocado um disco de papel que havia sido mergulhado em água destilada esterilizada.

A seguir, o fungo foi incubado à temperatura ambiente. Em

todos os experimentos desse tipo foram feitas duas avaliações. A primeira referiu-se à inibição do desenvolvimento micelial do fungo e a segunda, à inibição de esporulação. Os resultados foram expressos medindo-se o diâmetro maior e menor do halo de inibição formado nos dois casos. Na primeira avaliação mediram-se os diâmetros da área onde não se desenvolveu o micélio. Mediram-se também os diâmetros da área em que visualmente havia micélio branco sem presença de massa verde típica de esporos de *N. rileyi*.

No primeiro experimento foi usado o 1º grupo de fungicidas (Tabela 1). A concentração da suspensão de inóculo usado neste experimento foi de aproximadamente  $25 \times 10^6$  esporos de *Nomuraea rileyi* por mililitro. Neste experimento e no seguinte, os discos foram colocados sobre o meio de cultura 16 horas após a inoculação do meio de cultura com os esporos. Esse ensaio foi conduzido em condições ambientes onde a temperatura oscilou entre 23 e 27°C. A primeira avaliação (inibição de crescimento micelial) foi feita com 7 dias de incubação do fungo. A segunda avaliação foi feita com 10 dias de incubação do fungo nas mesmas condições, medindo-se o diâmetro maior e menor do halo de inibição de esporulação formado.

No experimento seguinte, foram usados os fungicidas Carbendazim, Propineb, Chlorotalonil, Mancozeb, Methiram, Acetato de trifenil estanho, Ferbam e Benomyl.

A instalação do experimento seguiu a mesma marcha do anterior, sendo que a temperatura de incubação do fungo variou entre 23 e 26°C. A concentração de inóculo usada foi de  $26 \times 10^6$  esporos por mililitro de suspensão. A primeira avaliação (inibição de crescimento micelial) foi feita 6 dias após a inoculação dos meios, ao passo que as medidas dos halos de inibição de esporulação foram realizadas após o 10º dia de incubação do fungo.

No terceiro e quarto experimentos utilizaram-se os inseticidas constantes da Tabela 2. A metodologia de instalação dos experimentos foi idêntica àquela descrita para os dois anteriores com fungicidas.

No experimento com Propoxur, Monocrotophos, Dimethoato, Phosphamidon, CGA 15.324, Lindane, Parathion e Fenitrothion, a variação de temperatura ficou entre 22 e 26°C. A concentração de esporos utilizada foi de  $67 \times 10^6$  esporos por mililitro. Os discos de papel foram colocados sobre o meio, 17 horas após a inoculação do meio com os esporos. A primeira avaliação foi feita após 6 dias de incubação do fungo e a segunda, após 9 dias.

No experimento em que se usaram Carbaryl, Phosalone, Vamidothion, Toxafeno + Phosalone, Endossulfan, Trichlorfon, Methomyl e Camphechlor a temperatura manteve-se entre 23 e 28°C e a concentração de inóculo usada foi de  $32 \times 10^6$  esporos por mililitro. O disco com o inseticida foi colocado sobre o SMA depois de 10 horas de inoculação do fungo no meio.

A primeira avaliação foi feita após 6 dias de incubação e a segunda, após 14 dias.

No último dos experimentos com defensivos foram usados os herbicidas referidos na Tabela 3. Nesse ensaio, a concentração do inóculo usado foi de  $42 \times 10^6$  esporos por mililitro e a temperatura observada durante o experimento oscilou entre 22 e 27°C. Os discos de papel embebidos nas soluções dos herbicidas foram colocados sobre o meio de cultura 10 horas após a inoculação do fungo.

Da mesma forma como nos experimentos anteriores, foram realizadas duas avaliações. Na primeira, 9 dias após a inoculação, mediu-se o halo de inibição de crescimento micelial e na segunda, 14 dias após a inoculação, foi medido o halo de inibição de esporulação provocado pelos herbicidas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Exigências Nutricionais de *Nomuraea rileyi*.

Nos estudos preliminares foi verificado que o fungo *N. rileyi* não se desenvolveu sobre meio mínimo. Da mesma forma, quando cultivado sobre meio mínimo ao qual foram acrescentadas 1,5 g de caseína hidrolisada por litro de meio, o fungo também não se desenvolveu. Entretanto, se desenvolveu e esporulou sobre o meio mínimo ao qual foram acrescentados 10 g de extrato de levedura.

Em virtude desses resultados o fungo foi submetido à análise auxanográfica para verificação de deficiência vitamínica. Entretanto, o fungo não se desenvolveu sobre nenhum meio, indicando não ser deficiente em nenhuma das vitaminas utilizadas.

Posteriormente, utilizando-se ainda a análise auxanográfica, com adição de 1,5 g de caseína por litro de meio, verificou-se lento desenvolvimento de *N. rileyi* sobre todos os meios. Após um período de incubação de 25 dias, observou-se alguma esporulação sobre todos os meios, com exceção do meio mínimo sobre o qual o fungo nunca se desenvolveu durante os experimentos.

Uma observação realizada durante os experimentos é de que o fungo *N. rileyi* apresentou desenvolvimento vegetativo diferente quando

crescendo sobre meio mínimo enriquecido com extrato de levedura e sobre o meio Sabouraud-maltose ágar. Enquanto sobre o último o fungo apresenta inicialmente crescimento leveduriforme, naquele isso não ocorre, pois, o crescimento vegetativo sempre se iniciou com o surgimento do micélio branco após alguns dias de incubação.

### 5.2. Influência do Regime de Luz e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Observou-se que, sem adição de extrato de levedura ao meio mínimo, não ocorreu esporulação do fungo tanto na presença como na ausência de luz (Tabela 1). Quando foram acrescentados 2 e 4 g de extrato de levedura por litro de meio mínimo, *N. rileyi* esporulou apenas na presença de luz, ao passo que na presença de 8 g de extrato de levedura por litro de meio, o fungo esporulou em ambos os regimes com a diferença de que, na ausência de luz, a esporulação somente ocorreu quando foram adicionados 8 g de extrato de levedura ao meio mínimo.

Tabela 1. Influência de regime luminoso e de quantidade de extrato de levedura na esporulação de *Nomuraea rileyi* em meio mínimo.

Regime de Luz	Número de conídios ( $\times 10^6$ ) por placa*, nas dosagens (g/l) de extrato de levedura indicadas.			
	0	2	4	8
Luz contínua	0,0	3193,07	6863,33	12232,08
Escuro contínuo	0,0	0,00	0,0	169,27

\* Média de 3 repetições.

### 5.3. Influência do Tempo de Incubação e Dosagem de Extrato de Levedura na Esporulação de *Nomuraea rileyi*

Os dados revelaram que há diferença muito significativa para os dias de incubação, as quantidades de extrato de levedura adicionadas ao meio mínimo e para a interação dias de incubação x dosagem de extrato de levedura (Tabela 1.1 do Apêndice).

Tabela 2. Influência de quantidade de extrato de levedura e período de incubação na esporulação de *Nomuraea rileyi*

Extrato de levedura (g/l) no meio mínimo	Número de esporos ( $\times 10^6$ ) produzidos por placa* nos dias de incubação indicados				Médias**
	8	10	12	14	
2	5,4 c	398,3 b	795,8 b	624,5 b	355,1 b
4	110,5 b	297,6 b	2134,0 b	264,5 b	599,6 b
8	4889,2 a	8700,0 a	8897,3 a	11421,6 a	5079,7 a
Médias***	1666,6 b	2999,2 a	3677,1 a	3895,4 a	1893,1

\* Média de 3 repetições, significância dentro das colunas

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

Não houve diferença estatística para a produção de esporos por *N. rileyi* com 8, 10, 12 e 14 dias de incubação quando foram acrescentados 8 gramas de extrato de levedura a um litro de meio mínimo (Tabela 1.2. do Apêndice), entretanto, para 2 e 4 g, a diferença mostrou-se estatisticamente muito significativa, com vantagem para 10, 12 e 14 dias de incubação. Com quantidades crescentes de extrato de levedura acrescentadas ao meio mínimo, há tendência do aumento de número de esporos produzidos por *N. rileyi* (Tabela 2). Essa mesma tendência é verificada quando aumentam os períodos de incubação do fungo. Com 8 dias de incubação do fungo, a maior es-

população se verificou com 8 g de extrato de levedura adicionados ao meio mínimo e a menor foi verificada com a adição de 2 g. Observa-se a mesma tendência com 10, 12 e 14 dias de incubação (Tabela 1.3 do Apêndice).

#### 5.4. Influência da Concentração de Inóculo e Períodos de Incubação Sobre a Esporulação de *Nomuraea rileyi*

A análise estatística (Tabela 2.1 do Apêndice) mostrou que  $10^6$  esporos por mililitro de suspensão foi mais efetivo na produção de esporos por *N. rileyi* do que a concentração inferior. Por outro lado, para os dias de incubação, a análise estatística (Tabela 2.2. do Apêndice) mostrou diferença muito significativa, acontecendo o mesmo para a interação dias de incubação x concentração de esporos.

Verifica-se tendência para aumento de produção de esporos pelo fungo quando aumenta a concentração de esporos e também quando aumenta o período de incubação.

Tabela 3. Influência de concentração de inóculo e período de incubação na esporulação de *Nomuraea rileyi* em meio mínimo.

Concentração de inóculo (esporos/ml)	Número de esporos ( $\times 10^6$ ) produzidos por placa* nos dias de incubação indicados				Médias **
	8	10	12	14	
$10^4$	13,59 b	5121,50 a	9579,58 a	10941,67 a	6414,08 b
$10^6$	3135,88 a	10716,67 a	10266,67 a	7033,33 a	7788,14 a
Médias***	1574,73 b	7919,08 a	9923,12 a	8987,50 a	7101,11

\* Média de 3 repetições

\*\* Médias (nas colunas) não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

### 5.5. Influência do 1º Grupo de Fungicidas sobre o Desenvolvimento micelial de *Nomuraea rileyi*.

Na concentração de 10 ppm, apenas o Captafol conseguiu inibir o crescimento do fungo (Tabela 4). O Chloroneb, Tiofanato metílico e o Dodine, nas 3 concentrações usadas, não conseguiram inibir o desenvolvimento micelial de *N. rileyi*.

A análise de variância (Tabela 3 do Apêndice) para os fungicidas que causaram inibição a 100 e 1000 ppm mostrou haver diferença estatística muito significativa entre os fungicidas, dosagens e a interação fungicidas X dosagens. O teste de Tukey (Tabela 3.1. do Apêndice), ao nível de 1%, para as médias dos fungicidas, indicou que aqueles que menos inibiram o desenvolvimento micelial foram o Ziram e o Captan, sendo que o Benomyl mostrou a maior ação inibidora.

Para os fungicidas dentro das dosagens, o teste de Tukey a 1% mostrou que, na dosagem de 100 ppm, os fungicidas mais e menos ativos foram, respectivamente, o Benomyl e o Captan, ao passo que, a 1000 ppm o Ziram e o Captan foram os menos prejudiciais e o Benomyl, o mais prejudicial.

A análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação fungicidas X dosagens (Tabela 3.1 do Apêndice) indicou que os fungicidas analisados diferiram muito significativamente quando comparados em relação à dosagem de 100 e 1000 ppm. Apenas o Ziram não mostrou diferença na ação inibidora do desenvolvimento do micélio de *N. rileyi* quando usado a dosagem de 100 e 1000 ppm.

### 5.6. Influência do 1º Grupo de Fungicidas na Esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Somente o Captafol conseguiu inibir a esporulação de *N. rileyi* quando usado na dosagem de 10 ppm. A Tabela 4 também mostra que o Chloroneb e o Dodine, em qualquer dosagem utilizada, não inibiram a esporulação do fungo.

Tabela 4. Influência de 9 fungicidas no desenvolvimento do micélio e esporulação de *Nomuraea rileyi* sobre SMA - 1º grupo de fungicidas.

Ingrediente	Diâmetro * (mm) médio dos halos de inibição de micélio (m) e esporulação (e) nas dosagens (ppm) indicadas						Médias		
	10		100		1000		**		
Ativo	m	e	m	e	m	e	m	e	e
Benomyl	0,0	0,0	19,5 d	26,0 c	31,5 c	54,5 c	25,5 d	40,2 d	
Chloroneb	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
Thiabendazol	0,0	0,0	0,0	0,0	19,8	29,7			
Ziram	0,0	0,0	9,0 ab	20,2 b	10,0 a	38,0 b	9,5 a	29,1 c	
Tiofanato metílico	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	37,8			
Dodine	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0			
Captan	0,0	0,0	8,3 a	8,3 a	12,0 a	18,3 a	10,1 a	13,3 a	
Maneb + Zn	0,0	0,0	11,5 bc	14,8 ab	33,0 c	39,0 b	22,5 c	26,9 bc	
Captafol	8,7	13,7	12,0 c	21,8 b	20,8 b	24,5 a	16,4 b	23,1 b	

\* Médias de 3 repetições.

\*\* Médias dos valores referentes a 100 e 1000 ppm. Médias (dentro das colunas) não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. (m) = 5,13%

C.V. (e) = 9,70%

Dos 5 fungicidas que causaram inibição de esporulação nas dosagens de 100 e 1000 ppm, observou-se diferença muito significativa para fungicidas, dosagens e interação fungicidas X dosagens (Tabela 4 do Apêndice).

Pelo teste de Tukey ao nível de 1% (Tabela 4.1 do Apêndice) verifica-se que o fungicida mais ativo na inibição da esporulação de *N. rileyi* é o Benomyl e o menos ativo, o Captan.

Por outro lado, a análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação fungicida X dosagem (Tabela 4.1 do Apêndice) mostrou que todos os 5 fungicidas analisados causaram inibição de esporulação diferente nas dosagens de 100 e 1000 ppm. O teste de Tukey a 1% mostrou que na dosagem de 100 ppm o fungicida menos inibidor da esporulação foi o Captan, ao passo que a 1000 ppm o Captan e o Captafol se mostraram como os menos inibidores. O efeito mais pronunciado sobre a esporulação do fungo foi causado pelo Benomyl em ambas as concentrações (100 e 1000 ppm).

#### 5.7. Influência do 2º Grupo de Fungicidas no Desenvolvimento Micelial de *Nomuraea rileyi*

Neste grupo de fungicidas (Tabela 5) na dosagem de 10 ppm apenas o Chloroneb e o Acetato de trifenil estanho conseguiram inibir o crescimento micelial do fungo. O Propineb teve ação inibidora somente na dosagem de 1000 ppm.

A análise de variância (Tabela 5 do Apêndice) para os fungicidas que causaram inibição nas dosagens de 100 e 1000 ppm mostrou diferença muito significativa para fungicidas, dosagens e interação fungicidas X dosagens.

A Tabela 5.1 do Apêndice indica que não há diferença estatística entre as dosagens de 100 e 1000 ppm do fungicida Chlorotalonil, ao passo que, os demais fungicidas mostram diferenças naquelas duas concentrações.

Tabela 5. Influência de 8 fungicidas no desenvolvimento do micélio e esporulação de *Nomuraea rileyi* sobre SMA - 2º grupo de fungicidas.

Ingrediente Ativo	Diâmetro * (mm) médio dos halos de inibição de micélio (m) e esporulação (e) nas dosagens (ppm) indicadas												Médias **	
	10			100			1000							
	m	e		m	e		m	e		m	e		m	e
Carbendazim	0,0	0,0		23,0 c	37,0 d		36,8 c	57,0 e		29,9 d	47,0 e			
Propineb	0,0	0,0		0,0	0,0		19,7	29,8						
Chlorotalonil	0,0	21,8		27,0 c	27,0 c		28,7 b	28,7 b		27,8 d	27,8 c			
Mancozeb	0,0	0,0		8,7 a	8,7 a		33,0 c	35,5 c		20,8 c	22,1 b			
Methiram	0,0	0,0		11,2 a	16,5 b		24,8 b	51,5 b		18,0 b	24,0 bc			
Acetato de trifenil estanho	8,3	8,3		10,8 a	10,8 a	*	15,3 a	15,3 a		13,0 a	13,0 a			
Ferbam	0,0	0,0		8,7 a	32,0 d		14,7 a	38,3 c		11,7 a	35,2 d			
Benomyl	0,0	0,0		16,0 b	17,7 b		25,8 b	46,2 d		20,9 c	31,9 d			

\* Média de 3 repetições

\*\* Médias dos valores referentes a 100 e 1000 ppm. Médias (dentro das colunas) não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. (m) = 6,28%

C.V. (e) = 6,65%

O teste de Tukey a 1% (Tabela 5.1 do Apêndice) mostra que os fungicidas mais ativos na inibição do crescimento micelial de *N. rileyi* foram o Carbendazin e o Chlorotalonil. Por outro lado, analisando os fungicidas dentro das concentrações de 100 e 1000 ppm, o teste de Tukey a 1% (Tabela 5.1 do Apêndice) mostra que os fungicidas Mancozeb, Methiram, Acetato de trifenil estanho e Ferbam foram os que menos inibiram o crescimento e o Carbendazin e o Chlorotalonil os que mais inibiram o desenvolvimento micelial do fungo na dosagem de 100 ppm.

O mesmo teste (Tukey a 1%) mostrou que, a 1000 ppm, os mais efetivos na inibição do crescimento de *N. rileyi* foram o Carbendazin e o Mancozeb e os menos efetivos, o Acetato de trifenil estanho e o Ferbam.

#### 5.8. Influência do 2º Grupo de Fungicidas na Esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados desse experimento. Dos 8 fungicidas, apenas 2 inibiram a esporulação de *N. rileyi* na dosagem de 10 ppm. O Propineb inibiu a esporulação somente quando empregado na dosagem de 1000 ppm.

Para os fungicidas que causaram inibição a 100 e 1000 ppm, a análise de variância (Tabela 6 do Apêndice) mostrou diferença muito significativa para fungicidas, dosagens e interação fungicidas X dosagens.

A análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação fungicidas X dosagens mostrou que somente o fungicida Chlorotalonil não apresentou diferença quando usado nas dosagens de 100 e 1000 ppm.

O teste de Tukey a 1% (Tabela 6.1 do Apêndice) indicou que o Acetato de trifenil estanho foi o menos e o Carbendazin o mais inibidor da esporulação do fungo.

Analisando os produtos dentro das concentrações (Tukey a 1%), a análise estatística mostrou que o Acetato de trifenil estanho foi o menos inibidor dos fungicidas nas duas concentrações, apesar de se mostrar equivalente ao Mancozeb na dosagem de 100 ppm. O Carbendazin causou a maior inibição de esporulação em ambas as dosagens, porém, mostrou-se equivalente ao Ferbam na dosagem de 100 ppm.

#### 5.9. Influência do 1º Grupo de Inseticidas no Desenvolvimento Micelial de *Nomuraea rileyi*.

A Tabela 6 mostra os resultados obtidos nesse experimento.

Dos 8 produtos usados, apenas 4 inibiram o desenvolvimento micelial de *N. rileyi*. Com exceção do CGA 15.324, os demais inseticidas causaram inibição somente na dosagem mais elevada.

#### 5.10. Influência do 1º Grupo de Inseticidas na Esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Observa-se que, dos 8 inseticidas testados, apenas 4 inibi - ram a esporulação de *N. rileyi*. Com exceção do CGA 15.324, o efeito dos inseticidas só foi observado na dosagem de 1000 ppm (Tabela 6).

#### 5.11. Influência do 2º Grupo de Inseticidas no Desenvolvimento Micelial de *Nomuraea rileyi*.

Nenhum dos inseticidas deste grupo inibiu o desenvolvimento micelial de *N. rileyi*, em qualquer das dosagens testadas (Tabela 7).

Tabela 6. Influência de 8 inseticidas no desenvolvimento do micélio e esporulação de *Nomuraea rileyi* sobre SMA - 1º grupo de inseticidas.

Ingrediente ativo	Diâmetro * (mm) médio dos halos de inibição de micélio (m) e esporulação (e) nas dosagens (ppm) indicadas					
	10		100		100	
	m	e	m	e	m	e
Propoxur	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Monocrotophos	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dimethoato	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Phosphamidon	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CGA 15.324	0,0	0,0	3,0	27,5	13,2	47,0
Lindane	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	5,3
Parathion	0,0	0,0	0,0	0,0	10,3	24,0
Fenitrothion	0,0	0,0	0,0	0,0	15,5	25,0

\* Médias de 3 repetições

Tabela 7. Influência de 8 inseticidas no desenvolvimento do micélio e esporulação de *Nomuraea rileyi* sobre SMA - 2º grupo de inseticidas.

Ingrediente ativo	Diâmetro * (mm) médio dos halos de inibição do micélio (m) e esporulação (e) nas dosagens (ppm) indicadas									Médias **
	10			100			1000			
	m	e		m	e		m	e		
Carbaryl	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0		0,0
Phosalone	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0		23,0
Vamidothion	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0		0,0
Toxafeno + Phosalone	0,0	6,0 a		0,0	26,5 a		0,0	36,8 a		23,1 a
Endossulfan	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	42,3		
Trichlorfon	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0		0,0
Methomyl	0,0	0,0		0,0	0,0		0,0	0,0		0,0
Camphechlor	0,0	21,3 b		0,0	34,8 a		0,0	36,0 a		30,7 b

\* Média de 3 repetições

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. (e) = 14,06%

### 5.12. Influência do 2º Grupo de Inseticidas na Esporulação de *Nomuraea rileyi*

Observa-se que apenas 2 inseticidas tiveram efeito, nas 3 dosagens, na esporulação do fungo. Outros 2 tiveram efeito inibidor sobre a esporulação somente na dosagem de 1000 ppm (Tabela 7).

A análise estatística (Tabela 7.1 e 7.2 do Apêndice) foi feita levando em consideração apenas os 2 produtos que causaram inibição nas 3 dosagens utilizadas. Os dados originais foram transformados para  $\log(x + 2)$  (Tabela 7 do Apêndice).

A análise estatística dos dados (Tabela 7.1 do Apêndice) mostrou haver diferença estatística ao nível de 5% para inseticidas e ao nível de 1% para dosagem, não havendo acusado diferença para a interação inseticida X dosagem. O Camphechlor mostrou maior poder de inibição de esporulação de *N. rileyi*, apesar de não haver diferença entre as dosagens de 10, 100 e 1000 ppm. O inseticida Toxafeno + Phosalone nas dosagens de 100 e 1000 ppm inibiu mais a esporulação do fungo do que na dosagem de 10 ppm.

A análise estatística (Tabela 7.2 do Apêndice) mostrou que só há diferença no efeito inibidor dos 2 inseticidas na dosagem de 10 ppm.

### 5.13. Influência de Herbicidas no Desenvolvimento Micelial e Esporulação de *Nomuraea rileyi*

Neste experimento foram testados 8 herbicidas. Apenas o Dinoseb causou inibição tanto do desenvolvimento micelial como da esporulação. Este efeito foi observado apenas na dosagem de 1000 ppm do produto.

#### 5.14. Teste de Patogenicidade dos Esporos de *Nomuraea rileyi*.

Das 10 lagartas de *Heliothis virescens* inoculadas com esporos de *N. rileyi*, 7 morreram devido à infecção pelo fungo. Na testemunha não inoculada (10 lagartas), observou-se apenas uma morte, durante um período de observação de 15 dias. Foram utilizadas apenas lagartas de 1º ínstar.

## 6. DISCUSSÃO

No estudo das exigências nutricionais de *Nomuraea rileyi* verificou-se que o mesmo não se desenvolve sobre meio mínimo. Entretanto, há crescimento e esporulação abundante quando se adicionam, a um litro de meio mínimo, 10 gramas de extrato de levedura mas apenas leve crescimento micelial quando são acrescentados 1,5 gramas de caseína hidrolisada. Esses resultados mostram que o fungo é deficiente em algum nutriente. Usou-se a técnica auxanográfica para verificar se a deficiência em questão se referia a vitaminas. Verificou-se, entretanto, que não se trata de deficiência de vitaminas, pois o fungo não se desenvolveu em nenhum meio ao qual foram adicionadas as mesmas. Em virtude desse resultado foi instalado outro ensaio usando novamente a técnica auxanográfica, porém, adicionando ao meio mínimo, além das vitaminas, 1,5 gramas de caseína hidrolisada por litro de meio. Novamente, após um período de 14 dias de incubação do fungo os resultados foram idênticos ao primeiro experimento. Entretanto, acompanhando o desenvolvimento do fungo durante 25 dias, pôde ser verificado que em todas as placas, menos naquelas contendo meio mínimo, o fungo se desenvolve muito lentamente e chega a esporular de maneira muito escassa.

O fungo *N. rileyi* não apresenta deficiência vitamínica por quanto cresce e esporula, ainda que lentamente, em meio mínimo ao qual se acrescentam as vitaminas, excluindo sucessivamente uma delas. Isso é verdadeiro para aquelas 8 vitaminas empregadas neste trabalho. Talvez a deficiência possa ser evidenciada para alguma outra vitamina o que, entretanto, parece pouco provável.

O extrato de levedura influi decisivamente na rapidez de crescimento e esporulação de *N. rileyi*, pois estes dois aspectos fisiológicos do fungo são muito acelerados na presença daquele nutriente. Ainda mais, verificou-se que o fungo responde decididamente à quantidade de extrato de levedura presente no meio de cultura. Assim, o fungo na presença de 8 gramas de extrato de levedura por litro de meio mínimo esporula abundantemente num período de 10 dias de incubação e não se observa diferença marcante quando se deixa o mesmo incubado por mais 2 ou 4 dias. O mesmo não acontece quando o referido microrganismo está na presença de quantidades menores de extrato de levedura. Isso confirma a atuação do extrato de levedura na rapidez de crescimento e esporulação e outra evidência disso é que o fungo nunca se desenvolve sobre o meio mínimo, na ausência daquele nutriente.

O extrato de levedura é uma substância de composição bastante complexa a qual, além de uma série de vitaminas, contém outros fatores, às vezes indispensáveis aos microrganismos. Por conter vitaminas, essa substância se presta para determinar grosseiramente a deficiência vitamínica de alguns microrganismos. Aqueles que não crescem em sua ausência, são ensaiados auxanograficamente para deficiência em vitaminas. Isso muitas vezes é confirmado como o foi para *Colletotrichum graminicola* para biotina, por KIMATI (1975). Em outros casos, como para *N. rileyi*, o mesmo não acontece. Para esse último fungo a evidência indica que existe no extrato de levedura algum fator que age favoravelmente sobre o crescimento e esporulação do fungo, acelerando ambos os processos.

Foi observado que *N. rileyi* apresenta hábito de crescimento diferente sobre SMA e meio mínimo enriquecido com extrato de levedura. Enquanto no primeiro o fungo inicialmente se apresenta com aspecto leveduriforme, no segundo meio tal não acontece. Desta maneira, quando o fungo é cultivado em meio mínimo acrescido de extrato de levedura, seu hábito não apresenta a característica leveduriforme descrita por KISH et alii (1974). Esse fato pode ser explicado em função da composição dos dois meios acima referidos, onde apenas o extrato de levedura é comum. Sendo comum aos dois meios, é muito provável que este nutriente não seja o responsável por

esse fenômeno, podendo um ou outro nutriente, ou mesmo a interação entre eles ser responsabilizado por tal diferença no hábito de crescimento.

O fenômeno da ação da luz sobre a esporulação de fungos já é bastante conhecido e estudado para uma série de microrganismos (LILLY e BARNETT, 1951 e HAWKER, 1957). É sabido que alguns não esporulam no escuro, outros o fazem de maneira mais abundante nesta condição. Estes aspectos, naturalmente, estão intimamente relacionados com a fisiologia do organismo. *N. rileyi* esporula de modo mais intenso na presença de luz. Na sua ausência também produz esporos, mas, apenas quando dispõe de quantidade considerável de extrato de levedura. O fungo incubado durante 14 dias no escuro só conseguiu formar um número relativamente pequeno de esporos quando crescendo sobre meio mínimo ao qual foram acrescentados 8 gramas de extrato de levedura. Esse fato parece evidenciar que, em parte, o extrato de levedura consegue substituir a presença de luz. Por outro lado, talvez, com um período mais longo de incubação, *N. rileyi* esporulasse, também, naqueles meios, no escuro, onde o extrato de levedura esteve presente em menor quantidade. Os fatos, porém, mostram que a luz, da mesma forma como a quantidade de extrato de levedura, aceleram o processo de esporulação do fungo.

A concentração do inóculo pode ter influência na produção de esporos pelos fungos. Além disso, o tipo de inoculação também pode influir sobre a quantidade de esporos produzidos (LILLY, V.G., 1963). O lento crescimento de *N. rileyi*, referido por KISH et alii (1974) e confirmado no presente trabalho, não favorece o sistema de inoculação através do método de inoculação puntiforme visto que o diâmetro da colônia, após 30 dias de incubação, atinge pouco mais de 1 centímetro. Quando se tem por objetivo a produção do maior número possível de esporos de *N. rileyi* é necessário recorrer ao método de inoculação por inundação do meio de cultura com a suspensão de esporos. A concentração de esporos, entre  $10^4$  e  $10^6$  esporos por ml, não exerce muita influência sobre a esporulação visto que o número de esporos produzidos praticamente não foi diferente para ambas as concentrações. Isso indica que as concentrações usadas continham número suficiente de esporos para que o meio na placa de Petri fosse totalmente colonizado pelo fungo num período de 10, 12 ou 14 dias de incubação.

O uso de controle integrado requer que os defensivos agrícolas não prejudiquem aqueles organismos que são úteis no controle de pragas. Foi verificado neste trabalho que uma série de defensivos se mostraram, de uma maneira ou outra, prejudiciais ao fungo entomógeno *N. rileyi*.

É de esperar que produtos desenvolvidos para o controle de fungos fitopatogênicos sejam mais efetivos sobre *N. rileyi* do que produtos para o controle de insetos ou de ervas daninhas. Isso realmente foi confirmado no presente trabalho, apesar de alguns fungicidas se mostrarem completamente inócuos ao fungo, da mesma forma que vários inseticidas e a maioria dos herbicidas testados. Por outro lado, alguns inseticidas mostraram um poder inibidor maior do que certos fungicidas.

Os vários defensivos foram estudados em sua ação sobre *N. rileyi*, encarados sob dois aspectos diferentes para se ter uma idéia mais completa e real de sua influência. É claro que, se determinado produto inibe o crescimento de micélio, a esporulação também fica prejudicada visto que, para haver esporulação é necessário que primeiro se processe o crescimento vegetativo. Também é verdade que um produto pode inibir a esporulação sem inibir o crescimento do micélio. Foi verificado neste estudo que a maioria dos produtos inibidores do desenvolvimento micelial também causam inibição da esporulação e isto é de grande importância visto que os esporos de *N. rileyi* são a única maneira pela qual o fungo consegue ser disseminado no campo e, assim, atingir novas lagartas de insetos.

Os herbicidas podem agir sobre o fungo, principalmente sobre os esporos que têm a possibilidade de permanecer no solo, de uma estação à outra da cultura e, por isso, convém ser conhecido seu efeito sobre o microrganismo. Verificou-se que os herbicidas estudados praticamente não afetam o fungo.

IGNOFFO et alii (1975) conduziram um estudo semelhante e puderam verificar que os fungicidas Ferbam e Chlorotalonil são os mais inibidores do crescimento de *N. rileyi*. No presente trabalho foi confirmada apenas a ação do Chlorotalonil que, junto com o Carbendazim e o Benomyl,

mostrou o efeito mais deletério sobre o fungo. O Ferbam, contudo, foi um dos fungicidas que menos inibiu o desenvolvimento do micélio. Sendo, contudo, muito prejudicial à esporulação. Isso pode ser explicado pelo fato de terem sido usados diferentes isolados do fungo nos dois trabalhos, que podem responder de maneira diferente quando na presença do mesmo produto, apesar de se terem comportado de maneira idêntica quando sob a ação de um terceiro produto. Deve ser ressaltado ainda que no trabalho desenvolvido por IGNOFFO et alii (1975) foram utilizadas as dosagens recomendadas dos produtos e ainda frações destas dosagens, o que torna as comparações mais difíceis. No presente trabalho, usaram-se sempre três dosagens idênticas para cada ingrediente ativo a fim de facilitar as comparações entre os diversos produtos testados.

É interessante assinalar que o Benomyl é um produto sistêmico de desenvolvimento relativamente recente e de amplo espectro de ação. Além disso, seu efeito fungitóxico é bastante acentuado sobre vários fungos fitopatogênicos, o que o leva a ser indicado em várias circunstâncias. Em trabalho desenvolvido por BOLKAN e CUPERTINO (1976), por exemplo, o Benomyl, junto com o Captafol e o Chlorotalonil, mostrou ser muito efetivo na redução de incidência de *Phomopsis sojae* nas sementes de soja, quando foi pulverizado na parte aérea da planta.

Já foi revelado por OLMERT e KENNETH (1974) que o Benomyl foi o produto que mais inibiu os fungos entomógenos *Beauveria* e *Verticillium*. IGNOFFO et alii (1975) e JOHNSON et alii (1976) comprovaram o efeito deletério do Benomyl sobre *N. rileyi* e isso foi novamente comprovado no presente trabalho. Além disso, ficou também comprovado que o Chlorotalonil e o Captafol inibem *N. rileyi*. Nota-se, portanto, que se por um lado estes produtos são benéficos no controle de fungos fitopatogênicos, por outro lado, agem provocando desequilíbrio biológico e destruindo organismos úteis. Este aspecto é de fundamental importância e deve ser lembrado toda vez que o objetivo for controle integrado.

BELL e HAMALLE (1974) e BELL (1975) estudaram a patogenicidade dos esporos de *N. rileyi*, encarando, porém, a questão sob ângulos dife-

rentes. Enquanto os dois primeiros estudaram a patogenicidade de esporos conservados sobre sílica-gel a  $-20^{\circ}\text{C}$ , o segundo autor encarou a patogenicidade de esporos produzidos em meio líquido e sólido. Foi verificado que esporos conservados sobre sílica-gel permaneceram patogênicos durante 3 anos e que esporos produzidos em Sabouraud-maltose líquido não apresentavam patogenicidade quando inoculados sobre larvas. Apesar de que no presente trabalho os esporos sempre fossem produzidos sobre meio sólido e que o período de conservação não fosse tão prolongado, testou-se sua patogenicidade após manipulação e conservação em diversas condições em laboratório. Os resultados mostraram que, mesmo após um ano, os esporos ainda se conservam patogênicos a larvas de 1<sup>o</sup> ínstar de *Heliothis virescens*.

## 7. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1. O hábito de crescimento de *N. rileyi* não apresenta aspecto leveduriforme quando cultivado sobre meio mínimo enriquecido com extrato de levedura;

2. O fator que age na rapidez de esporulação de *N. rileyi* está presente no extrato de levedura e não é representado pelas vitaminas biotina, tiamina, riboflavina, piridoxina, inositol, PABA, ácido fólico ou ácido nicotínico;

3. A esporulação de *N. rileyi* é influenciada positivamente pela presença de extrato de levedura no meio de cultura e pela luz;

4. A influência do período de incubação de *N. rileyi* é anulada quando o extrato de levedura está presente em quantidade suficiente para o fungo no meio de cultura;

5. Dos fungicidas testados, Dodine e Chloroneb não tem efeito nenhum sobre o desenvolvimento micelial e esporulação do fungo entomógeno *N. rileyi*; todos os demais fungicidas testados causam inibição do fungo;

6. Os inseticidas CGA 15.324, Lindane, Parathion e Fenitrothion inibem o desenvolvimento micelial e esporulação de *N. rileyi*; Toxafe\_ no + Phosalone, Phosalone Endossulfan e Camphechlor somente causam inibi\_ ção da esporulação daquele fungo;

7. Dos herbicidas testados, apenas o Dinoseb causa efeito negativo sobre o desenvolvimento micelial e esporulação de *N. rileyi*;

8. A esporulação de *N. rileyi* é mais sensível aos defensi - vos testados do que o desenvolvimento do micélio.

## 8. SUMMARY

An isolate of the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson from Londrina - State of Paraná (Brasil) was studied with reference to some of its nutritional and behavioural aspects in the presence of forty pesticides used today and those that could be used in soybeans, in future.

The effects on the fungus sporulation by the presence or absence of light, amount of yeast extract, inoculum concentration and periods of incubation were studied.

Also the effects of some agricultural pesticides at three concentrations, (10, 100 and 1000 ppm), of the active ingredient, were tested for their effect on this fungus.

It was found that *N. rileyi* does not show the cultural appearance of bacteria or yeasts as described by KISH et alii (1974), when grown on a minimum medium enriched with yeast extract.

The presence of light and the amount of yeast extract positively influenced the process of sporulation of the fungus. Two concentrations of inoculum ( $10^4$  and  $10^6$  spores/ml) showed no difference in sporulation of the fungus. The amount of yeast extract in the medium was found to enhance the process of sporulation of *N. rileyi*; the microorganism sporu

lated more slowly in the presence of casein hydrolysis plus vitamins in the minimum medium than it did in the presence of yeast extract.

The fungicides generally inhibited growth and sporulation of the fungus, except Dodine and Chloroneb which had no visible effect in all the tests.

Of the fourteen insecticides tested, only CGA 15.324, Lindane, Parathion and Fenitrothion inhibited the mycelial growth and sporulation, whereas Toxafeno + Phosalone, Phosalone, Endosulfan and Camphechlor inhibited only sporulation.

Of the eight herbicides tested, seven did not inhibit the fungus; only Dinoseb reduced both the amounts of mycelia and sporulation.

It can be concluded that the sporulation process of *N. rileyi* is more sensitive to pesticides than its mycelial growth is.

## 9. LITERATURA CITADA

- BAJAN, CECYLIA. 1973. Changes in the Pathogenicity of the Entomopathogenic Fungi under the Influence of the Method of Culture and Infection . Ekologia Polska 21(47):731-42.
- BEHNKE, C.N. e J.D. PASCHKE. 1966. *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles and *Aspergillus flavus* Link, Entomogenous Fungi of the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni* (Hubner) in Indiana and Wisconsin. Journal of Invertebrate Pathology 8:103-8.
- BELL, J.V. 1975. Production and Pathogenicity of the Fungus *Spicaria rileyi* from Solid and Liquid Media. Journal of Invertebrate Pathology 26:129-30.
- BELL, J.V. e R. HAMALLE. 1974. Viability and Pathogenicity of Entomogenous Fungi after Prolonged Storage on Silica gel at -20°C. Canadian Journal of Microbiology 20:639-42.
- BOLKAN, H.A. e F. P. CUPERTINO. 1976. Effect of Foliar Applications of Fungicides on the Control of Seed-borne *Phomopsis* and Yield of Soybean Fitopatologia Brasileira 1(3):215-8.
- BURLEIGH, J.G. 1972. Population Dynamics and Biotic Controls of the Soybean Looper in Louisiana. Environmental Entomology 3:290-4.
- BURLEIGH, J.G. 1975. Comparison of *Heliothis* spp. Larval Parasitism and *Spicaria* Infection in Closed and Open Canopy Cotton Varieties. Environmental Entomology 4(4):574-6.

- CHEN, KER-SANG, B.R. FUNKE, J.T. SCHULZ, R.B. CARLSON e F.I. PROSHOLD. 1974. Effects of Certain Organophosphate and Carbamate Insecticides on *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology 67(4):471-3.
- COCHRANE, V.W. 1958. Physiology of Fungi. New York, John Wiley & Sons, Inc. 524 p.
- CREIGHTON, C.S. e T.L. McFADDEN. 1974. Complementary Actions of Low Rates of *Bacillus thuringiensis* and Chlordimeform Hydrochloride for Control of Caterpillars on Cole Crops. Journal of Economic Entomology 67(1):102-4.
- GETZIN, L.W. 1961. *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles, an Entomogenous Fungus of *Trichoplusia ni* (Hubner). Journal of Insect Pathology 3:2-10
- GUDAUSKAS, R.T. e T.D. CANERDAY. 1966. Pathogenicity of *Spicaria rileyi* to *Pseudoplusia includens*. Journal of Invertebrate Pathology 8:277
- HAWKER, LILIAN E. 1957. The Physiology of Reproduction in Fungi. Cambridge, Cambridge University Press. 128 p.
- HEIMPEL, A.M. 1967. A Critical Review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuriengiensis* Berliner and Other Crystalliferous Bacteria. Annual Review of Entomology 12:287-322.
- HEINRICHS, E.A. e R.F.P. DA SILVA. 1975. Estudo de Níveis de População de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 e *Plusia* sp em soja no Rio Grande do Sul. Agronomia Sulriograndense 11(1):29-35.
- IGNOFFO, D.M., D.L. HOSTETTER, C. GARCIA e R.E. PINNELL. 1975. Sensitivity of the Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi* to Chemical Pesticides Used on Soybeans. Environmental Entomology 4(5):765-8.
- IGNOFFO, C.M., B. PUTTLER, N.L. MARSTON, D.L. HOSTETTER e W.A. DICKERSON. 1975. Seasonal Incidence of the Entomopathogenic Fungus *Spicaria rileyi* Associated with Noctuid Pests on Soybeans. Journal of Invertebrate Pathology 25:135-7.

- IGNOFFO, C.M., N.L. MARSTON, D.L. HOSTETTER, B. PUTTLER e J.V. BELL. 1976. Natural and Induced Epizootics of *Nomuraea rileyi* in Soybean Caterpillars. Journal of Invertebrate Pathology 27:191-8
- IGNOFFO, C.M., C. GARCÍA e D.L. HOSTETTER. 1976. Effects of Temperature on Growth and Sporulation of the Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi*. Environmental Entomology 5(5):935-6.
- JOHNSON, D.W., LESLIE P. KISH e G.E. ALLEN. 1976. Field Evaluation of Selected Pesticides on the Natural Development of the Entomopathogen *Nomuraea rileyi*, on the Velvetbean Caterpillar in Soybean. Environmental Entomology 5(5):964-6.
- KIMATI, H. 1975. Taxonomia, Esporulação e Patogenicidade de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. (Sensu Arx, 1975), Piracicaba, S.P. 103 p. (Tese de Livre-Docência).
- KISH, LESLIE P., R.A. SAMSON e G. E. ALLEN. 1974. The Genus *Nomuraea* Maublanc. Journal of Invertebrate Pathology 24:154-8.
- KISH, LESLIE. 1975. The Biology and Ecology of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. Dissertation Abstract, Michigan 36(7):3236B.
- KISH, LESLIE P. e G.E. ALLEN. 1976. Conidial Production of *Nomuraea rileyi* on *Pseudoplusia includens*. Mycologia 68:436-9.
- LILLY, V. G. 1963. The Relation of Fungus Physiology to Physiology of Disease. In: The Physiology of Fungi and Fungus Diseases. West Virginia University Agricultural Experiment Station Bulletin 488T, p. 33 - 64.
- LILLY, V.G. e H.L. BARNETT. 1951. Physiology of the Fungi. New York, Mc Graw-Hill Book Company Inc. 464 p.

- OLMERT, I. e R. G. KENNETH. 1974. Sensitivity of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* and *Verticillium* sp. to Fungicides and Insecticides. Environmental Entomology 3(1):33-8
- PUTTLER, B., C.M. IGNOFFO e D.L. HOSTETTER. 1976. Relative Susceptibility of Nine Caterpillar Species to the Fungus *Nomuraea rileyi*. Journal of Invertebrate Pathology 27:269-70
- RAMARAJE URS, N.V., H.C. GOVINDU e K.S. SHIVASHANKARA SHASTRY. 1967. The Effect of Certain Insecticides on the Entomogenous Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 9:398-403.
- ROACH, S.H. 1975. *Heliothis* spp.: Larvae and Associated Parasites and Diseases on Wild Host Plants in the Pee Dee Area of South Carolina. Environmental Entomology 4(5):725-8.
- SMITH, J.W., E.G. KING e J.V. BELL. 1976. Parasites and Pathogens Among *Heliothis* Species in the Central Mississippi Delta. Environmental Entomology 5(2):224-6.
- SUTTER, G.R., M.D. ABRAHAMSON, E.W. HAMILTON e I.D. VICK. 1971. Compatibility of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* and Chemical Insecticides. 1. Effect of Insecticide Doses on Bacterial Replication Rate. Journal of Economic Entomology 64(6):1348-50.

10. APENDICE

Tabela 1. Influência de extrato de levedura e período de incubação na esporulação de *Nomuraea rileyi* em meio mínimo. Dados transformados para  $\log(x + 2)$ .

Gramas de extrato de levedura/litro de meio mínimo	Número de esporos ( $\times 10^6$ ) produzidos por placa* nos dias de incubação indicados				Médias**
	8	10	12	14	
2	0,62 c	2,56 b	2,89 b	2,77 b	2,21 b
4	1,90 b	2,31 b	3,18 ab	2,32 b	2,43 b
8	3,67 a	3,93 a	3,95 a	4,05 a	3,90 a
Médias	2,06 b	2,93 a	3,34 a	3,05 a	2,84

\* Os dados representam a média de 3 repetições

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. = 11,49%

Tabela 1.1. Análise de variância da influência do período de incubação e da adição de extrato de levedura ao meio mínimo sobre a esporulação de *Nomuraea rileyi*. Dados transformados para  $\log(x + 2)$

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Incubação (I)	3	8,15612	2,71871	25,39**
Extr. Leved. (EL)	2	20,23352	10,11676	94,49**
I x EL	6	4,97308	0,82885	7,74**
Resíduo	24	2,56940	0,10706	
Total	35	35,93212		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 1.2. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação dias de incubação x quantidade de extrato de levedura, mais aqueles devidos à incubação.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Dias/2 g	3	10,26859	3,42286	31,97**
Dias/4 g	3	2,61871	0,87290	8,15**
Dias/8 g	3	0,24189	0,08063	0,75
Resíduo	24	2,56940	0,10706	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 1.3. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação extrato de levedura x dias de incubação, mais aqueles devidos a extrato de levedura.

Causa de Variação	GL	SQ	QM	F
Extr. Leved./8 dias	2	14,01144	7,00572	65,44**
Extr. Leved./10 dias	2	4,61587	2,30793	21,56**
Extr. Leved./12 dias	2	1,77797	0,88898	8,30**
Extr. Leved./14 dias	2	4,80130	2,24065	20,93**
Resíduo	24	2,56940	0,10706	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação de médias (Tukey) para os dados transformados

	1%	5%
de dias .....	0,53	0,42
de dias d. extr. leved. ....	0,93	0,74

Tabela 2. Influência de concentração de inóculo e período de incubação na esporulação de *Nomuraea rileyi* em meio mínimo. Dados transformados para log (x + 1)

Concentração de esporos/ml de suspensão	Número de esporos ( $\times 10^6$ ) produzidos por placa* nos dias de incubação indicados				Médias**
	8	10	12	14	
$10^4$	0,76 b	3,76 a	3,97 a	4,04 a	3,13 b
$10^6$	3,34 a	4,02 a	3,99 a	3,81 a	3,79 a
Médias	2,05 b	3,89 a	3,98 a	3,92 a	3,46

\* Os dados representam a média de 3 repetições

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. = 10,04%

Tabela 2.1. Análise de variância da influência do período de incubação e da concentração da suspensão de esporos utilizada na inoculação, sobre a esporulação de *Nomuraea rileyi*. Dados transformados para log (x + 1)

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Dias de incub. (D)	3	16,18010	5,39336	44,65 **
Conc. esporos (C)	1	2,81246	2,81246	23,28 **
D x C	3	7,35491	2,45163	20,29 **
Resíduo	16	1,93244	0,12077	
Total	23	28,27991		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 2.2. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação concentração de esporos x dias de incubação, mais aqueles devidos à concentração de esporos.

Causa da Variação	GL	QM	F
Conc. esporos/8 dias	1	9,98183	82,65 **
Conc. esporos/10 dias	1	0,10624	0,88
Conc. esporos/12 dias	1	0,00053	0,00
Conc. esporos/14 dias	1	0,07877	0,65
Resíduo	16	0,12077	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação de médias (Tukey) para os dados transformados

	1%	5%
de dias .....	0,74	0,57
de dias d. conc.esporos..	1,04	0,81

Tabela 3. Análise de variância da influência de 5 fungicidas em 2 doses sobre o desenvolvimento micelial de *Nomuraea rileyi*.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Fungicidas (F)	4	1216,95	304,23	410,01 **
Dosagens (D)	1	662,70	662,70	893,12 **
F x D	4	385,38	96,34	129,84 **
Resíduo	20	14,84	0,74	
Total	29	2279,84		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 3.1. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação fungicidas x dosagens, mais aqueles devidos à dosagem.

Causa da Variação	GL	QM	F
Dosagem/A	1	216,00000	291,10 **
Dosagem/B	1	1,50000	2,02
Dosagem/C	1	20,17000	27,18 **
Dosagem/D	1	693,37000	934,46 **
Dosagem/E	1	117,04000	157,73 **
Resíduo	20	0,74200	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

#### Comparação de médias (Tukey)

	1%	5%
de fungicidas .....	1,86	1,48
de fungicidas d. dosagem .....	2,63	2,10

A = Benomyl                      D = Maneb + Zn

B = Ziram                              E = Captafol

C = Captan

Tabela 4. Análise de variância da influência de 5 fungicidas em 2 doses, sobre a esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Fungicida (F)	4	2282,22	570,55	85,92 **
Dosagem (D)	1	2075,01	2075,01	312,63 **
F x D	4	657,11	164,27	24,74 **
Resíduo	20	132,84	6,64	
Total	29	5147,18		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 4.1. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação fungicida x dosagem, mais aqueles devidos à dosagem.

Causa da Variação	GL	QM	F
Dosagem/A	1	1218,38	183,49 **
Dosagem/B	1	477,04	71,84 **
Dosagem/C	1	150,00	22,59 **
Dosagem/D	1	876,04	131,93 **
Dosagem/E	1	10,66	1,60
Resíduo	20	6,64	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação de médias (Tukey)

	1%	5%
de fungicidas .....	5,56	4,45
de fungicidas d. dosagem .....	7,87	6,29

A = Benomyl

D = Maneb + Zn

B = Ziram

E = Captafol

C = Captan

Tabela 5. Análise de variância da influência de 7 fungicidas em 2 doses sobre o desenvolvimento do *Nomuraea rileyi*.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Fungicidas (F)	6	1690,78	281,79	172,87 **
Dosagens (D)	1	1168,14	1168,14	716,65 **
F x D	6	520,82	86,80	53,25 **
Resíduo	28	45,67	1,63	
Total	41	3425,41		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 5.1. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação dosagem x fungicidas, mais aqueles devidos à dosagem.

Causa da Variação	GL	QM	F
Dosagem/A	1	287,04	176,09 **
Dosagem/B	1	4,17	2,55
Dosagem/C	1	888,17	544,89 **
Dosagem/D	1	280,16	171,87 **
Dosagem/E	1	30,37	18,63 **
Dosagem/F	1	54,01	33,13 **
Dosagem/G	1	145,04	88,98 **
Resíduo	28	1,63	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação de médias (Tukey)

	1%	5%
de fungicidas .....	2,83	2,30
de fungicidas d. dosagem .....	4,0	3,30

A = Carbendazim      E = Acetato de trifenil estanho

B = Chlorotaloni,    F = Ferbam

C = Mancozeb        G = Benomyl

D = Methiram

Tabela 6. Análise de variância da influência de 7 fungicidas em 2 doses sobre a esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Fungicidas (F)	6	4384,99	730,83	204,71 **
Dosagens (D)	1	2266,01	2266,01	634,73 **
F x D	6	1073,77	178,96	50,12 **
Resíduo	28	100,00	3,57	
Total	41	7824,77		

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 6.1. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação dosagem x fungicida, mais aqueles devidos à dosagem.

Causa da Variação	GL	QM	F
Dosagem/A	1	600,00	168,07 **
Dosagem/B	1	1,04	0,29
Dosagem/C	1	1080,04	302,53 **
Dosagem/D	1	337,50	94,53 **
Dosagem/E	1	42,66	11,95 **
Dosagem/F	1	60,16	16,85 **
Dosagem/G	1	1218,38	341,28 **
Resíduo	28	3,57	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação de médias (Tukey)

	1%	5%
de fungicidas .....	4,20	3,46
de fungicidas d. dosagem .....	5,94	4,89

A = Carbendazim

E = Acetato de trifenil estanho

B = Chlorotalonil

F = Ferbam

C = Mancozeb

G \* Benomyl

D = Methiram

Tabela 7. Diâmetro médio (em milímetros) do halo de inibição de esporulação de *Nomuraea rileyi* sobre SMA induzido por 2 inseticidas em 3 dosagens \*. Dados transformados para  $\log(x + 2)$

Ingrediente ativo	Concentração em ppm			Médias **
	10	100	1000	
Toxafeno + Phosalone	0,79 b	1,44 a	1,58 a	1,27 a
Camphechlor	1,36 a	1,56 a	1,58 a	1,50 b
Médias	1,07 a	1,50 b	1,58 a	1,38

\* Os dados representam a média de 3 repetições

\*\* Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. = 14,06%

Tabela 7.1. Análise de variância da influência de 2 inseticidas em 3 dosagens sobre a esporulação de *Nomuraea rileyi*.

Causa da Variação	GL	SQ	QM	F
Inseticida (I)	1	0,23231	0,23231	6,10 *
Dosagem (D)	2	0,87453	0,43726	11,49 **
I x D	2	0,27179	0,13589	3,57
Resíduo	12	0,45634	0,03803	
Total	17	1,83497		

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 7.2. Análise de variância para o desdobramento dos graus de liberdade da interação inseticida x doses, mais aqueles devidos a inseticida.

Causa da Variação	GL	QM	F
Inseticida/10 ppm	1	0,48246	12,68 **
Inseticida/100 ppm	1	0,02159	0,56
Inseticida/1000 ppm	1	0,00008	0,00
Resíduo	12	0,03803	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação de médias (Tukey) para os dados transformados

	1%	5%
de dosagem .....	0,40	0,30
de dosagem d. inseticidas .....	0,57	0,42