

## Compatibilidade de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) com glifosato em diferentes dosagens, utilizado em soja (*Glycine max* (L.) Merrill)

Compatibility of products based on *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) with glyphosate in various strengths, used in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill)

Lucas Trevisoli Agostini<sup>1</sup>; Alessandra Karina Otuka<sup>2</sup>; Elias Almeida Silva<sup>2</sup>; Mariah Valente Baggio<sup>2</sup>; Valéria Lucas de Laurentis<sup>2</sup>; Rogério Texeira Duarte<sup>2</sup>; Thiago Trevisoli Agostini<sup>3</sup>; Ricardo Antonio. Polanczyk<sup>4</sup>

**Resumo:** O objetivo do trabalho foi verificar se há compatibilidade de glifosato com produtos à base de *Bacillus thuringiensis* na cultura de soja. O meio de cultura nutriente ágar foi autoclavado e antes da solidificação (45°C), foram acrescentadas as dosagens de glifosato (1,0; 1,25; 1,5; 2,0 e 2,5L/ha). Depois mediu-se o pH e a solução foi vertida em placas de Petri (9 cm de diâmetro), sendo oito placas por tratamento. A testemunha foi os meios de cultura sem o glifosato. Após a solidificação do meio inoculou-se 100µL de Dipel e Agree separadamente. As placas de Petri foram incubadas em BOD a 27 ± 1°C, 70 ± 10% de umidade e 12 horas de fotofase. Após 24 e 48 horas mediu-se o crescimento das colônias e contou-se o número de esporos em câmara de Neubauer. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. Pelos dados obtidos conclui-se que não há compatibilidade entre o glifosato e os produtos à base de Bt, uma vez que não houve crescimento das colônias em nenhuma das placas, exceto nas testemunhas.

**Palavras-chave:** Controle Microbiano; Herbicida; Bactérias Entomopatogênicas; Incompatibilidade; *Anticarsia gemmatalis*.

**Abstract:** The objective was to check for compatibility with glyphosate and products based on *Bacillus thuringiensis* in soybean. The culture medium nutrient agar was autoclaved and before solidification (45 ° C) were added dosages of glyphosate (1.0, 1.25, 1.5, 2.0 and 2.5 L / ha). After the solution was poured into Petri dishes (9 cm diameter), eight plates per treatment. The control was culture media without glyphosate. After solidification of the medium inoculated into 100mL of Dipel and Agree separately. The Petri dishes were incubated in chamber at 27 ± 1 ° C, 70 ± 10% RH and 12 h photophase. After 24 and 48 hours was measured by the growth of colonies was counted and the number of spores in a Neubauer chamber. The data were submitted to Tukey test at 5% probability. From the data obtained it is concluded that there is no compatibility between the glyphosate-based products and Bt, since there was no colony growth in the plates except for the controls.

**Keywords:** Microbial Control; Herbicide; Entomopathogenic Bacteria; Incompatibilidade; *Anticarsia gemmatalis*.

### INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) apresenta importante papel na produção nacional, uma vez que o Brasil é o segundo maior produtor mundial do grão. Na safra 2011/2012 foram produzidas 66,4 milhões de toneladas, sendo a área plantada 25 milhões de hectares e a produtividade equivalente a 2,656 Kg/ha (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2012).

A cultura de soja pode servir de abrigo e alimento para diversos insetos (BATISTA et. al. 2005). Dentre eles lagartas desfolhadoras, como é o caso da *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), que pode causar perdas de 3 a 75% na produtividade (SILVA et. al. 2003). O consumo de uma única lagarta pode chegar a 110 cm<sup>2</sup> de folhas de soja (Walker et al., 2000) e aplicações expressivas de inseticidas são feitas em re-

giões com relatos da ocorrência desse inseto (Macrae et al., 2005; Miklos et al., 2007). Inseticidas químicos, utilizados no controle de lagartas desfolhadoras de soja, provocam prejuízos financeiros, desequilibram a cadeia alimentar, elevam pragas secundárias à categoria de pragas chave, causam surgimento de novas pragas e pragas resistentes. Uma alternativa ao uso de inseticidas para o controle de lagartas como *A. gemmatalis* têm sido a utilização de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* há mais de vinte anos (BATISTA et. al. 2005).

A produção de soja também pode ser influenciada pelo aparecimento de plantas daninhas nos cultivos. Isto ocorre pela alta competitividade dessas plantas invasoras, levando a perdas no rendimento de soja de até 90% (RIZZARDI et. al. 2004). Para o controle desses

<sup>1</sup>Mestrando em entomologia Agrícola FCAV/Unesp (Jaboticabal). Email: lucas\_agostini@hotmail.com.

<sup>2</sup>Doutorando em entomologia Agrícola FCAV/Unesp (Jaboticabal).

<sup>3</sup>Discente Iniciação Científica Uniara (Araraquara).

<sup>4</sup>Professor Assistente, Doutor em Entomologia FCAV/Unesp (Jaboticabal)

vegetais podem ser usados produtos dessecantes contendo glifosato como princípio ativo em diferentes dosagens (NEVES et. al. 2010).

A pulverização de inseticidas biológicos à base de Bt pode ser feita simultaneamente com outros produtos em campo, como por exemplo herbicidas.

Vários trabalhos relatam a compatibilidade do uso de agrotóxicos com fungos entomopatogênicos, como acaricidas, carrapaticidas, inseticidas, dentre outros (ALVES et. al. 1998; BATISTA-FILHO, 2001; PAZ JÚNIOR et. al. 2009; SOARES & MONTEIRO, 2011;). No entanto, há poucos estudos sobre compatibilidade de *Bacillus thuringiensis* (KNAACK et. al. 2009/2010).

Não se sabe se a quantidade dos esporos e tamanho das colônias dessa bactéria pode ser alterada quando utilizada em conjunto com glifosato. Este dado é de extrema importância, pois caso haja incompatibilidade, o controle de lagartas desfolhadoras da soja pode ser comprometido.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar se há compatibilidade de diferentes dosagens de glifosato com produtos à base de *Bacillus thuringiensis* utilizados na cultura de soja.

## MATERIAIS E METODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga (LCMAP) do Departamento de Fitossanidade, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Campus de Jaboticabal - SP.

A bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* foi isolada através dos produtos comerciais Dipel PM® (*B. thuringiensis* var. kurstaki) e Agree® (*B. thuringiensis* var. aizawai) transconjugado com toxinas de *B. thuringiensis* var. kurstaki de acordo com o recomendado para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja (AGROFIT/MAPA, 2012).

Para a realização dos bioensaios de compatibilidade do herbicida com *B. thuringiensis*, foi preparado o meio de cultura Nutrient agar (NA) da marca Himedia® na concentração de 18g por litro conforme a recomendação do fabricante, que foi previamente autoclavado a 1 atm. por 20 minutos. Ao atingir a temperatura de aproximadamente 45°C foi adicionado ao meio através de pipetador monocanal de alta precisão, marca Gilson modelo Pipetman P1000, o herbicida com a dosagem recomendada (Tabela 1), sendo misturado com auxílio de uma alça de platina previamente autoclavada para evitar contaminações no meio de cultura e vertido em placas de Petri com 9,0 centímetros de diâmetro na concentração de 25,0 ml por placa. O tratamento testemunha foi representado pelos meios de cultura sem a adição de herbicida.

Após a solidificação do meio foi inoculado 100µL

Tabela 1: Concentrações de glifosato utilizados nos experimentos.

Nome técnico	Nome comercial	Concentração de uso (L/Ha)
Glifosato	Round up	1,00
Glifosato	Round up	1,25
Glifosato	Round up	1,50
Glifosato	Round up	2,00
Glifosato	Round up	2,50

da solução dos inseticidas biológicos Dipel e Agree separadamente, a concentração dos inseticidas biológicos correspondeu a 0,05 Kg/100L e 0,3 a 0,5L/ha para Agree e Dipel seguindo a concentração recomendada para o controle de *A. gemmatalis* na cultura da soja, inserido no ponto central da placa de Petri, com o propósito de se obter uma melhor visualização do crescimento da colônia. As placas foram incubadas em câmara tipo B.O.D, com temperatura de 27±1°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12 horas.

Ao final de um período de 24 horas duas placas de cada tratamento foram separadas. Foi realizada a raspagem das colônias e transferidas para tubos de vidro com água destilada estéril e espalhante adesivo, sendo preparada uma suspensão que permitisse a contagem dos esporos utilizando a câmara de Neubauer. Neste mesmo período foram escolhidas aleatoriamente, quatro placas para a medição do crescimento das colônias. Através da disposição da colônia na placa de Petri foi realizada uma ilustração da mesma em papel sulfite (A4), que foi recortado e inserido em um medidor de área foliar (CID Bio-Science, Camas, Washington, United State of America, modelo CI-202) para uma maior precisão do tamanho das colônias. As mesmas avaliações realizadas para se obter número de esporos e crescimento de colônias nas primeiras 24h foram repetidas no período de 48h. Todas as variáveis foram submetidas ao teste de Tukey a 5% e comparadas entre si.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independente da concentração do herbicida utilizado, o efeito propiciado apresentou resultado muito prejudicial para o desenvolvimento das referidas bactérias entomopatogênicas presentes nos dois produtos comerciais biológicos analisados, em ambos os períodos de avaliação (24 e 48 horas após incubação), sendo classificado como incompatível por não possibilitar a formação de UFC/mL (Tabela 2 e 3).

Devido a ausência de unidades formadoras de colônia, não houve crescimento em diâmetro (cm<sup>2</sup>) de ambas as bactérias, referentes aos respectivos produtos biológicos nas diferentes concentrações do herbicida (Tabela 2 e 3).

Além do ingrediente ativo glifosato, os herbicidas à base de fenoxaprop, lactofen, metribuzin, imazethapyr, bentazon e imazaquin, tanto nas concentrações recomendadas como em meia dosagem, também prejudicaram

Tabela 2: Tamanho de colônia ( $\pm$ EP) e UFC/mL ( $\pm$ EP) avaliados após 24 horas de incubação a partir de esporos de dois produtos a base de *Bacillus thuringiensis* em meios de cultura contendo diferentes dosagens do herbicida de ingrediente ativo glifosato.

Tratamentos	DIPEL (Btk)		AGREE (Btk + Bta)	
	Tamanho de colônia (cm <sup>2</sup> )	Média UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tamanho de colônia (cm <sup>2</sup> )	Média UFC/mL (10 <sup>7</sup> )
Testemunha	60,44 $\pm$ 5,00 a	1,21 $\pm$ 0,42 a	55,32 $\pm$ 4,80 a	0,85 $\pm$ 0,21 a
1,00 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
1,25 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
1,50 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
2,00 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
2,50 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

substancialmente o crescimento de *B. thuringiensis*, sendo incompatíveis com o desenvolvimento de unidades formadoras de colônia por mililitro da referida bactéria entomopatogênica (SALERNO et al., 1999; SILVA et al., 2008).

Apenas os ingredientes ativos sulfentrazone, propanil, cletodim e fenoxaprop-p-etil apresentaram determinada compatibilidade para com o desenvolvimento de *B. thuringiensis* (SALERNO et al., 1999; SILVA et al., 2008). A utilização de produtos fitossanitários seletivos a estes entomopatógenos é um método de manejo integrado muito importante quanto a aspectos de segurança e eficiência no controle de pragas, principalmente em cultivos onde há diferentes tipos de aplicações fitossanitárias, como ocorre no cultivo da soja e de outras culturas agrícolas (ALVES et al., 1998).

As principais variáveis entre a compatibilidade de um produto fitossanitário para com um material biológico a base de *B. thuringiensis* pode ser representada principalmente pelo ingrediente ativo e sua concentração utilizada, além do adjuvante escolhido para adição na formulação, tanto para o grupo químico dos herbicidas como para inseticidas, fungicidas, e outros agrotóxicos (CHEN et al., 1974; MORRIS, 1975; BATISTA

FILHO et al., 2001; SILVA et al., 2006). Para fungicidas, SILVA et al. (2006) verificaram que os ingredientes ativos epoxiconazole, tebuconazole, azoxystrobin e fentin hidróxido influenciaram significativamente na formação de UFC/mL independente da concentração do produto comercial utilizado.

Em trabalhos realizados com inseticidas, a compatibilidade entre os diferentes ingredientes ativos para com o desenvolvimento de *B. thuringiensis* propiciou conclusões semelhantes às observadas em testes de compatibilidade com herbicidas, devido à variabilidade nas respostas de compatibilidade a partir do ingrediente ativo e das diferentes concentrações utilizadas (MORRIS, 1975; SUTTER et al., 1971; JIMENEZ et al., 1989; SALERNO et al., 1999; ANSARI; SHARMA, 2000; BATISTA FILHO et al., 2001).

Dentre o grupo químico dos inseticidas, os ingredientes ativos endosulfan, monocrotofos e deltametrina foram aqueles que proporcionaram maior efeito prejudicial ao desenvolvimento e germinação de *B. thuringiensis* (BATISTA FILHO et al., 2001). Os ingredientes ativos carbosulfan, tiametoxan, imidaclopride, diafentiuiron, fipronil e acefato, em dose máxima e mínima de aplicação fitossanitária recomendada de produto comercial, apre-

Tabela 3: Tamanho de colônia ( $\pm$ EP) e UFC/mL ( $\pm$ EP) avaliados após 48 horas de incubação a partir de esporos de dois produtos a base de *Bacillus thuringiensis* em meios de cultura contendo diferentes dosagens do herbicida de ingrediente ativo glifosato.

Tratamentos	DIPEL (Btk)		AGREE (Btk + Bta)	
	Tamanho de colônia (cm <sup>2</sup> )	Média UFC/mL (10 <sup>7</sup> )	Tamanho de colônia (cm <sup>2</sup> )	Média UFC/mL (10 <sup>7</sup> )
Testemunha	60,62 $\pm$ 5,60 a	2,33 $\pm$ 0,14 a	59,68 $\pm$ 5,30 a	1,58 $\pm$ 0,19 a
1,00 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
1,25 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
1,50 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
2,00 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b
2,50 L/ha	0,00 b	0,00 b	0,00 b	0,00 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

sentaram compatibilidade na utilização com esta bactéria entomopatogênica (BATISTA FILHO et al., 2001).

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998, 2ª ed. 1163p.
- ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.
- ANSARI, M. M.; SHARMA, A. N. Compatibility of *Bacillus thuringiensis* with chemical insecticides used for insect control in soybean (*Glycine max*). *Indian Journal of Agricultural Science*, v. 70, n. 1, p. 48-49, 2000.
- AGROFIT Agrofit: Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 22 jun. 2012.
- BATISTA, A. C., et al., Prospecção de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas para o controle de *Anticarsia gemmatilis*. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*. Brasília, n. 82, p. 1-19, 2005.
- BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. *Neotropical Entomology*, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001.
- CHEN, K.; FUNKE, B. R.; SCHULZ, J. T.; CARLSON, R. B.; PROSHOLD, F. I. Effects of certain organophosphate and carbamate insecticides on *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*, v. 67, n. 4, p. 471-473, 1974.
- JIMENEZ, J.; ACOSTA, N.; FERNANDEZ, R. Efecto de insecticidas y fungicidas sobre la actividad biológica de preparaciones de *Bacillus thuringiensis*. *Protección de Plantas*. v. 12, n. 1, p. 45-59, 1989.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, segundo levantamento, novembro 2011/2012. Brasília: Conab, cap. 5, p. 12-14, 2011.
- KNAAK, N.; AZAMBUJA, A. O.; LUCHO, A. P. R.; BERLITZS, D. L.; FIUZA, L. M. Interações de *Bacillus thuringiensis* e o controle de fitopatógenos. *Biologia, Ciência e Desenvolvimento*. Brasília, n. 38, p. 48-53, 2009/2010.
- MACRAE, T.C., et al., Laboratory and field evaluations of transgenic soybean exhibiting high-dose expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis* cry1A gene for control of Lepidoptera. *Journal of Economic Entomology*, v.98, n.2, p.577-587, 2005.
- MIKLOS, J.A., et al., Characterization of soybean exhibiting high expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis* cry1A transgene that confers a high degree of resistance to Lepidopteran pests. *Crop Science*, v.47, p.148-157, 2007.
- MORRIS, O. N. Effect of some chemical insecticides on the germination and replication of commercial *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 26, n. 2, p. 199-204, 1975.
- NEVES, R., et al., Associação de herbicidas pós-emergentes ao glifosato no manejo de plantas daninhas na soja transgênica. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. Ribeirão Preto, p. 2437-2440, 2010.
- PAZ-JÚNIOR, F. B.; LIMA, E. B.; FREITAS, L. R.; PAZ, E. S. L.; QUEIROZ, C. F. Compatibilidade do fungo *Beauveria bassiana* com acaricidas químicos usados no controle de *Boophilus microplus*. *Revista de Ciência, Tecnologia e Humanidades do IFPE*. Recife, v. 1, n. 1, p. 13-24, 2009.
- Rizzardi, M. A.; Roman, E. S.; Borowski, D. Z.; Marcon, R. Interferência de populações de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea ramosissima* isoladas ou em misturas sobre a cultura de soja. *Planta Daninha*. Viçosa, v. 22, n. 1, p. 29-34, 2004.
- SALERNO, C.; DIAS, S.; SAGARDOY, M. Efecto de pesticidas sobre cepas de *Bacillus thuringiensis* bajo condiciones controladas. *Revista Argentina de Microbiología*, v. 31, p. 58-64, 1999.
- SILVA, E. R. L.; ALVES, L. F. A.; SANTOS, J.; POTRICH, M.; SENE, L. Técnicas para avaliação in vitro do efeito de herbicidas sobre *Bacillus thuringiensis* Berliner var. kurstaki. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 75, n. 1, p. 59-67, 2008.
- SILVA, M. T. B.; COSTA, E. C.; BOSS, A. Controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) com reguladores de crescimento de insetos. *Ciência Rural*. Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 601-605, 2003.
- SILVA, E. R. L.; ALVES, L. F. A.; SENE, L.; SANTOS, J.; BONINI, A. K.; POTRICH, M.; NEVES, P. M. O. J. Técnicas para avaliação do efeito "in vitro" de fungicidas sobre *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 73, n. 4, p. 429-437, 2006.
- SOARES, F. B.; MONTEIRO, A. C. Compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* com carrapaticidas químicos. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, v.78, n.3, p.385-391, 2011.
- SUTTER, G. R.; ABRAHANSON, M. D.; HAMILTON, E. W.; VICK, I. D. Compatibility of *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki and chemical insecticides. 1. Effect of insecticide doses on bacterial replication rate. *Journal of Economic Entomology*, v. 64, n. 6, p. 1348-1350, 1971.
- WALKER, D.R.; ALL, J.N.; MCPHERSON, R.M.; BOERMA, H.R.; PARROTT, W.A. Field evaluation of soybean engineered with a synthetic cry1Ac transgene for resistance to corn earworm, soybean looper, velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae), and lesser cornstalk borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, v.93, n.3, p.613-622, 2000.