

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

SILVANA DAMIN

EFEITO *IN VITRO* DE PRODUTOS HOMEOPÁTICOS SOBRE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL. E
METARHIZIUM ANISOPLIAE (METSCH.) SOROK.

CASCATEL-PR

Maio/2013

SILVANA DAMIN

EFEITO *IN VITRO* DE PRODUTOS HOMEOPÁTICOS SOBRE FUNGOS
ENTOMOPATOGÊNICOS *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL. E
METARHIZIUM ANISOPLIAE (METSCH.) SOROK.

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Dr. Luis Francisco Angeli Alves
Co-orientadora: Dr^a. Talita Moretto Alexandre

CASCADEL-PR

Maio/2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Biblioteca Central do Campus de Cascavel – Unioeste
Ficha catalográfica elaborada por Jeanine da Silva Barros CRB-9/1362

D167e Damin, Silvana
Efeito in vitro de produtos homeopáticos sobre fungos entomopatogênicos *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium Anisopliae* (Metsch.) Sorok. / Silvana Damin — Cascavel, PR: UNIOESTE, 2013.
74 p.

Orientador: Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves
Co-orientadora: Profa. Dra. Talita Moreto Alexandre
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.
Bibliografia.

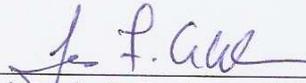
1. Defensivos agrícolas. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

CDD 21.ed. 632.95

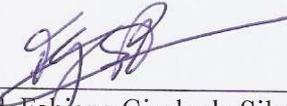
SILVANA DAMIN

Efeito *In Vitro* de Produtos Homeopáticos Sobre Fungos Entomopatogênicos *Beauveria Bassiana* (BALS.) VUILL. e *Metarhizium Anisopliae* (METSCH.) Sorok.

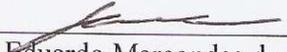
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves.
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente/Orientador)



Prof.ª Dr.ª Fabiana Gisele da Silva Pinto.
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida.
Instituto Biológico de Campinas -SP.



Prof. Dr. José Renato Stangarlin.
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aprovada em 16 de maio de 2013.

Local da defesa: Unioeste, Prédio de Salas de Aula, sala 56, Cascavel-PR.

*Aos meus familiares e ao meu namorado, por todo amor dedicado,
carinho, companheirismo e constante incentivo, com muita gratidão e
amor, dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder força, iluminar meu caminho e permitir a realização desse sonho.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, ao Programa de Pós Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais (PPRN), pela oportunidade de realização do Mestrado. A nossa coordenação, pelas informações prestadas e pela luta na consolidação do programa.

Ao Professor Dr. Luis Francisco Angeli Alves, pela confiança depositada ao me apresentar a homeopatia, pela disponibilidade e orientação constante, que com seu exemplo de profissionalismo me proporcionou inúmeros ensinamentos ao longo dessa jornada.

A Dr^a. Talita Moretto Alexandre pela co-orientação, amizade, auxílio na elaboração e desenvolvimento do projeto.

A todos os professores do PPRN, especialmente a Prof^a. Fabiana G. Pinto, Andréa M. T. Fortes, Marina K. Kadowaki, Norma C. C. Bueno, Vanda Pietrowski (do Programa de Pós Graduação em Agronomia) e ao Prof. Éder André Gubiani, pelos artigos e ensinamentos concedidos nas vossas disciplinas cursadas.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Biotecnologia Agrícola, Marina, Ana e Daian, que me auxiliaram nos meus ensaios iniciais, com dicas e ensinamentos. A Amanda, Karin, Eduarda, Rafaela, Evandro, Janaina, Claudécir, Keni, Rafael e Léo, que me ajudaram nos cansativos dias de montagem e avaliação de experimentos.

A nossa queridíssima Andréia K. Bonini (Boni), que muito além de uma técnica do laboratório eficiente, tem sido “meu anjo da guarda” durante essa

caminhada no mestrado. Muito me apoiou nos experimentos e estatísticas, com paciência, carinho e amizade, de uma forma incondicional.

Aos Professores Moacir C. Bonato e Alexandre Mendonça, por disponibilizarem seus conhecimentos e experiências inovadoras em homeopatia, que com tanto amor, carinho e admiração por essa ciência me introduziram nas pesquisas homeopáticas.

Aos amigos dos cursos de Homeopatia Popular e Capacitação em Agroecologia, Tati, Leandro, Etiene, Paulinho, Simone, Márcia, Lorivan, Edleusa, Adriana, pela troca de experiências e incentivo nas pesquisas homeopáticas.

As minhas lindas amigas e ex-colegas de Kit, Fabieli, Gleicy, Liara, Sonia, Ana, Juliana e Patrícia, por terem compreendido as mudanças, os altos e baixos, sempre parceiras nos bons e maus momentos.

As sinceras amigadas, Rozane, Robson, Renato, Eduardo, Luci- Ane, Lidi, Cinthia, Dani, Deise, por terem compreendido as minhas desculpas, para tantos momentos ausentes, desculpas que na real sempre foram verdades.

Ao meu amado namorado Marcio, pela paciência, compreensão, incentivo e amor dedicado.

Aos meus pais, Genoir e Neusa (*in memoriam*) pela educação, amor, carinho, pelo exemplo de vida, de esperança e fé. Aos meus irmãos, Andressa e Tiago Dione, aos meus avós, nonos, tios e primos, pelo suporte e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Enfim, a todos aqueles que não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram na realização desse trabalho. Obrigada!

“Os mais inestimáveis tesouros são: a consciência irrepreensível e a boa saúde. O amor a Deus e o estudo de si mesmo oferecem uma; a homeopatia oferece a outra.”

(Samuel Hahnemann)

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| Resumo..... | i |
| Abstract..... | ii |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 4 |
| 2.1 Fungos entomopatogênicos..... | 4 |
| 2.1.1 <i>Beauveria bassiana</i> e <i>Metarhizium anisopliae</i> | 4 |
| 2.2 Defensivos agrícolas naturais..... | 7 |
| 2.3 Homeopatia, princípios, uso e preparo..... | 8 |
| 2.4 Tratamentos homeopáticos utilizados na agricultura..... | 10 |
| 2.5 Interação de defensivos agrícolas naturais e entomopatógenos..... | 13 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 16 |
| 4. CAPÍTULO 1 - EFEITO <i>IN VITRO</i> DE MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS SOBRE <i>BEAUVERIA BASSIANA</i> (BALS.) VUIL (ASCOMYCOTA: CORDYCIPTACEAE)..... | 25 |
| Resumo..... | 26 |
| Abstract..... | 27 |
| Introdução..... | 27 |
| Material e métodos..... | 29 |
| Resultados e discussão..... | 33 |
| Agradecimentos..... | 37 |
| Referências bibliográficas..... | 38 |

| | |
|---|----|
| Anexos..... | 43 |
| Tabela 1 - Medicamentos homeopáticos utilizados, dinamizações, modo de ação e indicação..... | 43 |
| Tabela 2 - Viabilidade de conídios, UFC, crescimento vegetativo e produção de conídios de <i>Beauveria bassiana</i> , submetido a diferentes soluções hidroalcoólicas..... | 44 |
| Tabela 3 - Viabilidade dos conídios, UFC, crescimento vegetativo, produção de conídios, valores de “T” e compatibilidade de <i>Beauveria bassiana</i> submetido a diferentes produtos homeopáticos..... | 45 |
| Tabela 4 - Mortalidade confirmada de lagartas de <i>Diatraea saccharalis</i> submetidas ao fungo <i>Beauveria bassiana</i> , multiplicado em meio ME + produtos homeopáticos..... | 46 |
| | |
| 5. CAPITULO 2 - EFEITO <i>IN VITRO</i> DE MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS SOBRE <i>METARHIZIUM ANISOPLIAE</i> (METSCH) SOROK (ASCOMYCOTA: CLAVICIPITACEAE..... | 47 |
| Resumo..... | 48 |
| Abstract..... | 49 |
| Introdução..... | 49 |
| Material e Métodos..... | 51 |
| Resultados, discussão..... | 55 |
| Conclusões..... | 60 |
| Agradecimentos..... | 60 |
| Referências bibliográficas..... | 60 |
| Anexos..... | 65 |

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Medicamentos homeopáticos utilizados, dinamizações, modo de ação e indicação..... | 65 |
| Tabela 2 - Viabilidade de conídios, UFC, crescimento vegetativo e produção de conídios de <i>Metarhizium anisopliae</i> , submetido a diferentes soluções hidroalcoólicas..... | 66 |
| Tabela 3 - Viabilidade dos conídios, UFC, crescimento vegetativo, produção de conídios, valores de “T” e compatibilidade de <i>Metarhizium anisopliae</i> submetido a diferentes produtos homeopáticos..... | 67 |
| Tabela 4 - Mortalidade confirmada de lagartas <i>Diatraea saccharalis</i> submetidas ao fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> , multiplicado em meio ME + produtos homeopáticos..... | 68 |
| 6. ANEXOS..... | 69 |
| Anexo 1..... | 69 |

RESUMO

O crescente uso dos defensivos agrícolas naturais e a necessidade de real comprovação acerca dos efeitos desses produtos sobre entomopatógenos evidenciam o presente trabalho, que teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* dos produtos homeopáticos *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbônica* 30CH; *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 06; 30 e 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 e 200CH e *Thuya occidentalis* 200CH (aplicados na concentração de 0,1% de homeopático/ água destilada e esterilizada) sobre os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Dessa forma, pulverizaram-se os tratamentos sobre os fungos no meio de cultura batata dextrose ágar, em placas de Petri, onde se avaliaram as unidades formadoras de colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios. A viabilidade foi avaliada em placas do tipo Rodac. Os tratamentos homeopáticos ainda foram avaliados sobre a atividade inseticida desses fungos contra lagartas de *Diatraea saccharalis*. Nos ensaios com o fungo *B. bassiana* (Capítulo 1) os tratamentos *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 30CH e *Spodoptera frugiperda* 30CH reduziram a viabilidade do fungo. Todos os tratamentos com exceção de *Arsenicum album* 24CH promoveram o aumento de UFC. Da mesma forma, *Phosphorus* 3CH; *Staphysagria* 30CH; *Staphysagria* 100CH e *Sulphur* 200CH promoveram aumento do crescimento vegetativo. Nos ensaios com o fungo *M. anisopliae* (Capítulo 2), os tratamentos não comprometeram negativamente a viabilidade, o crescimento vegetativo e a produção de conídios. Todos os tratamentos apresentaram-se compatíveis aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. De modo geral a atividade inseticida dos fungos *B.*

bassiana e *M. anisopliae* sobre *D. saccharalis*, não foi influenciada pelos tratamentos, no entanto, o medicamento *Thuya occidentalis* 200CH reduziu atividade de *B. bassiana* sobre o inseto.

Palavras chaves: Defensivos agrícolas naturais, controle biológico, medicamentos dinamizados, compatibilidade.

ABSTRACT

The increasing use of natural agricultural pesticides and the need of real proof of the effects of these products on entomopathogens are the basis of this study, which aimed to assess the *in vitro* effect of the following homeopathic products: *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbonica* 30CH; *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 06, 30, and 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 and 200CH; and *Thuja occidentalis* 200CH (applied at a concentration of 0.1% of sterile distilled homeopathic/water) on the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. The treatments were sprayed on the fungi in the PDA culture media in Petri or Rodac-type dishes, where conidia viability, colony-forming units (CFU), vegetative growth, and production of conidia were assessed. Homeopathic treatments were also assessed regarding the insecticide activity of these fungi against *Diatraea saccharalis* caterpillars. In tests with the fungus *B. bassiana* (Chapter 1) treatments *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 30CH and *Spodoptera frugiperda* 30CH reduced viability. All treatments except *Arsenicum album* 24CH promoted increased CFU. Likewise, *Phosphorus* 3CH; *Staphysagria* 30CH; *Staphysagria* 100CH and *Sulphur* 200CH promoted increased vegetative growth. In tests with the fungus *M. anisopliae* (Chapter 2), the treatments did not affect negatively the viability, vegetative growth and conidial production. All treatments were compatible to the fungus *B. bassiana* and *M. anisopliae*. Generally the insecticidal activity of fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae* on *D. saccharalis*, was not influenced by the treatments, however, the drug *Thuja occidentalis* 200CH reduced activity *B. bassiana* on the insect.

Keywords: Agrochemicals natural, biological control, medicine streamlined, compatibility.

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, sucedeu o intenso avanço da agricultura convencional, com aumento gradativo de produção, alicerçado em inovações científicas e tecnológicas, baseado na exploração intensa dos recursos naturais. Diante desse contexto, o sistema agrícola tem se tornado insustentável, ecológica e economicamente, destacando-se o uso abusivo dos produtos fitossanitários sintéticos (PFS), impactantes aos recursos naturais e aos processos biológicos (SILVA, 2010).

Todavia, nos modelos de agricultura ecológica são preconizadas práticas alternativas no controle de pragas e doenças, que buscam conciliar a produção agrícola e a conservação ambiental, transformando a propriedade em organismo, respeitando a diversidade pela individualidade (ANDRADE, 2000). Nesse sentido são utilizados, os defensivos agrícolas naturais (DAN): produtos biológicos a base de fungos, vírus e bactérias, também, caldas, extratos vegetais e recentemente os produtos dinamizados (produtos homeopáticos, de origem mineral, vegetal e animal).

Dentre os agentes de controle biológico, os fungos entomopatogênicos mostram-se eficazes no controle de diversas pragas agrícolas, uma alternativa segura, viável e menos impactante tanto ao meio ambiente quanto aos organismos não alvos (ALVES, 1998).

Um dos casos de maior sucesso, em nível mundial no emprego de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos, está no Brasil, onde se tem utilizado o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Ascomycota: Clavicipitaceae) para controle da cigarrinha da cana-de-açúcar (*Mahanarva*

posticata Stal.) e cigarrinha-das-pastagens (*Deois flavopicta* Stal.) (FARIA; MAGALHÃES 2001). Atualmente, esse fungo é utilizado em grande escala em cultivos de cana-de-açúcar principalmente para controle da cigarrinha-da-raiz (*Mahanarva fimbriolata* Stal.), chegando a ser utilizado em cerca de 1 milhão de hectares de cana-de-açúcar anualmente (PINTO; BOTELHA; OLIVEIRA, 2009).

Outro entomopatógeno de destaque é o fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae) comercializado para controle de ácaros da ferrugem dos citros (*Phyllocoptruta oleivora* Ashmead.), ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch.), mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius), moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus* Germar.) e broca-do-café (*Hypothenemus hampei* Ferrari.) (FARIA; MAGALHÃES 2001; ITAFORTE, 2011).

Os produtos homeopáticos por sua vez, são substâncias alternativas, que buscam reequilibrar os organismos, estimulando os sistemas de defesa dos seres vivos, sendo assim utilizados para controle de insetos, por meio da promoção de resistência em plantas e produção de metabólitos secundários, que podem repelir ou até levar a morte de pragas agrícolas (ALMEIDA et al., 2003; BONATO et al., 2010).

Apesar de potencialmente mais seguros que os PFS, os DAN podem apresentar efeitos adversos sobre organismos não alvos, incluindo-se os inimigos naturais. Estudos de Marques et al. (2004), Formentini (2009), Mertz et al. (2010) e Mamprim et al. (2013) constatam que alguns DAN também podem ter ação sobre fungos entomopatogênicos, inibindo seu crescimento

vegetativo e conidiogênese, ainda que a maioria dos produtos testados mostraram-se compatíveis aos fungos.

Especificamente em relação aos produtos homeopáticos, inexistem trabalhos que visam avaliar sua interação com entomopatógenos, como fungos. Infere-se daí que estudos mais apurados visando avaliar e divulgar os resultados da interação de produtos homeopáticos e entomopatógenos faz se necessário, para melhor uso dessa nova ferramenta na agricultura.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de produtos homeopáticos atualmente recomendados para diversos fins agrícolas, sobre os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos são microrganismos promotores de doenças em insetos, sobretudo, atuam no controle biológico natural de pragas agrícolas. Naturalmente, podem reduzir essas populações, assim como, devido aos avanços da agricultura e demanda advinda de propriedades orgânicas e/ou agroecológicas, atualmente, são manipulados e empregados artificialmente na forma de bioinseticidas (ALVES, 1998).

Existem mais de 700 espécies de fungos patogênicos a invertebrados, porém, a maioria das pesquisas e a produção de bioinseticidas são direcionadas para as espécies *B. bassiana* e *M. anisopliae*, que atuam sobre um grande número de espécies de insetos, sendo menos exigentes nutricionalmente e de fácil produção comercial (ALVES, 1998; LEITE et al., 2003).

Apesar do crescente uso dos fungos entomopatogênicos, esses representam apenas 10% do mercado de bioinseticida mundial, sendo utilizados no controle de pragas, em cultivos de frutíferas, pastagens e cana-de-açúcar dentre outros (FARIA; WRAIGHT, 2007).

2.1.1 *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*

O fungo *B. bassiana* provoca epizootias em condições propícias de temperatura, umidade e luz, sendo que em 3 a 4 dias após a infecção pelo

fungo, os insetos atacados apresentam-se totalmente colonizados, cobertos de micélio branco. Além disso, o gênero *Beauveria* pode infectar naturalmente diversos artrópodes, ocorrendo em mais de 200 espécies de insetos, ácaros e carrapatos (ALVES, 1998).

Há registros do controle de ácaros em mamoeiro, cochonilha em citros, brocas da bananeira e da cana-de-açúcar, formigas, cupins e carrapatos, dentre outros insetos, pelo fungo *B. bassiana* (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2001).

De forma semelhante, o fungo *M. anisopliae* também apresenta patogenicidade sobre insetos de importância agrícola. Inicialmente, o emprego desse fungo no Brasil (década de 1960) deu-se para o controle da cigarrinha da cana-de-açúcar, *Mah. posticata* em canaviais, e devido seu potencial controle, usinas da região Nordeste passaram a produzi-lo, assim como, posteriormente fabricantes de micoinseticidas de todo o país, pela demanda de pecuaristas para controle da cigarrinha-das-pastagens (ALVES; NEVES; FARIAS, 2010).

Sendo um dos fungos mais estudados em programas de manejo de pragas, *M. anisopliae* é um fungo cosmopolita, com grande potencial entomopatogênico. Apresenta patogenicidade a mais de 200 espécies de insetos pertencentes a 43 famílias dentre as ordens Ortóptera, Dermaptera, Hemiptera, Lepidoptera, Díptera, Hymenoptera e Coleoptera, dentre outras (ONOFRE et al., 2002; DESTÉFANO, 2003).

Estima-se que para produção comercial desses entomopatógenos, atualmente estejam em funcionamento aproximadamente 20 empresas produtoras de micoinseticidas no país, que ofertam mais de 30 produtos, além

de um grande número de usinas que realizam sua autoprodução, para controle de cigarrinhas (folha e raiz da cana-de-açúcar, pastagens) brocas (bananeira, cafeeiro e cana-de-açúcar) e percevejo-de-renda da seringueira (ALVES; NEVES; FARIAS, 2010).

Com relação ao modo de ação, de forma vantajosa a outros entomopatógenos, que adentram no hospedeiro por via oral, os fungos penetram no inseto, via tegumento. A etapa de penetração ocorre por uma combinação de degradação enzimática e pressão mecânica. Enzimas como proteases, lipases e quitinases, facilitam a penetração mecânica do fungo e o metabolismo do tubo germinativo, ocorrendo decomposição do tecido no entorno do local de penetração, na procutícula, com posterior colonização do corpo do inseto hospedeiro. Por seguinte, o fungo se multiplica nesse ambiente, levando o inseto à morte. Em condições de campo esse processo pode durar semanas, dependendo da espécie de fungo e inseto envolvidos, todavia, em condições controladas de laboratório, o processo é acelerado, transcorrendo em apenas alguns dias (ALVES, 1998; ALVES; NEVES; FARIAS, 2010).

No decorrer do seu ciclo, os fungos estão sujeitos a diversos fatores que podem afetar sua persistência no solo, desenvolvimento e modo de ação sobre os insetos. Nesse sentido, as práticas agrícolas atuais, como adubação química, plantio de monoculturas e uso de produtos fitossanitários sintéticos (PFS) os têm desfavorecido (SOSA-GOMEZ et al., 2001; SOSA-GOMEZ et al., 2003). Diante desse contexto, desenvolvem-se nas últimas décadas, os estudos e o uso de defensivos agrícolas naturais (DAN), que objetivam

minimizar danos ambientais nos sistemas agrícolas de produção (FORMENTINI et al., 2009; MERTZ et al., 2010; MAMPRIM et al., 2013).

2.2 Defensivos agrícolas naturais

Devido ao impacto negativo gerado pelo uso abusivo dos PFS, desenvolve-se a conscientização dos efeitos danosos dos mesmos sobre o meio ambiente e a saúde pública, ocorrendo uma tendência mundial para redução ou substituição dos atuais produtos sintéticos por DAN.

Os DAN são empregados em cultivos convencionais, mas sobretudo nos orgânicos e/ou agroecológicas para o combate de pragas e doenças. Por meio desses produtos, buscam-se reduzir os danos ambientais, conservar os processos naturais e, especialmente, reduzir custos de produção (LOPES et al., 2004).

Alguns DAN podem ter ação lenta e menos eficaz que os PFS, fato que se traduz em resistência de muitos usuários na substituição dos produtos fitossanitários sintéticos.

No entanto, estudos recentes demonstram que esses, podem ter eficácia similar ou até superior aos PFS no controle de agentes que atacam as plantas, sendo consideráveis os resultados, a partir do emprego de extratos vegetais, caldas, óleos essenciais ou produtos dinamizados. Assim, pesquisas demonstram que os extratos vegetais podem afetar a biologia dos insetos (reduzindo postura, interferindo na duração das fases larval, pupal, gerando indivíduos deformados e inférteis) tanto quanto, provocar significativa mortalidade em algumas espécies (SALLES; RECH, 1999; DEQUECH et al.,

2008; SANTIAGO et al., 2008). Da mesma forma, outros autores relatam ação de caldas fertiprotetoras para diminuição da infestação de insetos e ácaros em plantas normalmente atacadas (VENZON et al., 2006; AFONSO et al., 2007).

Em relação aos produtos dinamizados, Carneiro et al. (2011) comprovaram por meio de revisão a 70 artigos, a eficiência dessa classe de produtos no desenvolvimento, aumento de biomassa, indução de resistência e controle de doenças em plantas.

Da mesma forma, estudos de Fazolin et al. (1997) com *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae); Almeida et al. (2003) com *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae); Rupp et al. (2012) com *Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae) e Mapeli et al. (2010) com *Ascia monusteorseis* Latreille (Lepidoptera: Pieridae) constataram que os homeopáticos apresentam ação sobre os insetos, promovendo resistência em plantas tratadas, repelência ou mortalidade em insetos, advinda da ingestão de plantas com esses produtos ou alteram parâmetros biológicos dos mesmos.

2.3- Homeopatia, princípios, uso e preparo

As bases da Homeopatia foram fundamentadas pelo médico alemão Christian Friedrich Samuel Hahnemann (século XVIII). Inicialmente médico alopata, desilude-se com a medicina da época, um “verdadeiro comércio de receitas”, passando a renunciá-la. Assim, em busca de uma nova ciência, capaz de promover a cura definitiva, após anos de estudo e experimentação, estabelece o sistema terapêutico formal da homeopatia (LUZ, 1996).

Em quatro princípios, Hahnemann, fundamenta a homeopatia: similitude, experimentação em ser vivo sadio, doses mínimas e dinamizadas e medicamento único (BARROLLO, 1996 apud MODOLON, 2010). A partir da experimentação em indivíduos sãos e curas nas práticas clínicas, com aplicação do princípio da similitude, para escolha do medicamento *Simillimum*, pode-se restabelecer o equilíbrio do organismo, pelo uso desse medicamento em doses infinitesimais (RIBEIRO FILHO, 2010).

Todo o embasamento homeopático de Hahnemann formou-se pela observação e cura em humanos. Todavia, o “pai da homeopatia” revelou que essa ciência poderia ser aplicada a todos os seres vivos (humanos, animais domésticos ou silvestres, vegetais e até microorganismos), acendendo a possibilidade de uso na agricultura. Na existência de energia ou força vital, através dos medicamentos homeopáticos pode alterar-se a capacidade do organismo em reagir, restabelecendo a saúde, de forma a autorregular vírus, fungos, bactérias, insetos e outros tipos de agentes, mas não os extinguindo. Nesse sentido, o modo de ação da homeopatia, aplicada dentro da lógica de seus princípios, respeita e incentiva os processos de cura dos vegetais e animais, estimulando o sistema de defesa destes organismos. Aos vegetais, confere-lhes resistência às doenças, aos insetos-praga e aos impactos dos fatores climáticos ou ambientais (REZENDE, 2009; BONATO et al., 2010, 2012).

O preparo dos medicamentos homeopáticos deve seguir as normas da Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 1997) ou Farmacopéias Estrangeiras, sendo o princípio das doses infinitesimais, seguido por meio de diluições seriais na base de 1/10 (escala chamada de decimal DH) e

subseqüente succussão (agitação contínua). De outra forma, as diluições podem ser realizadas na escala Centesimal Hahnemaniana (CH) de base 1/100, onde a primeira diluição 1/100 é chamada 1C ou 1CH e assim sucessivamente. Ao ato de diluir seguido de succussão (100 vezes) dá-se o nome de dinamização (VITHOULKAS, 1980).

Elaboram-se os homeopáticos, a partir da chamada tintura mãe, de origem animal, vegetal ou mineral. Há ainda os chamados nosódios ou bioterápicos, preparados com o próprio agente causador da doença ou desequilíbrio, os quais são utilizados na agricultura com maior frequência, por serem mais acessíveis aos agricultores, que autonomamente podem produzi-los, já que tem disponível a matéria prima necessária ao preparo (agente causal do distúrbio).

2.4- Tratamentos homeopáticos utilizados na agricultura

Tendo em vista os benefícios da homeopatia para o ser humano e outros animais, alguns pesquisadores passaram a estudar o uso da homeopatia na agricultura. Dentre as vantagens do emprego desses produtos está o baixo custo, fácil aquisição e preparo e a autonomia do agricultor que pode produzi-los, desde que bem orientado.

Recentemente, a prática da terapêutica homeopática foi regulamentada a partir da Lei nº 10.831, do MAPA, através da Instrução Normativa nº 46, de 06 de outubro de 2011, publicada no Diário Oficial da União, que legaliza o uso da homeopatia como insumo na agricultura orgânica, recomendado para o controle de doenças, pragas e reequilíbrio fisiológico das plantas (BRASIL, 2011; BONATO et al., 2012).

Da mesma forma, a partir de estudos iniciais e constatações dos agricultores, técnicos e pesquisadores, foi elaborada a Cartilha de Homeopatia simples em 2006, que em sua terceira edição (2012) atingiu a marca de 10000 exemplares, distribuídos gratuitamente para a população, em especial para orientação aos agricultores (BONATO et al., 2007, 2010, 2012).

Na região Oeste do Paraná, agricultores têm recebido incentivos e apoio técnico de órgãos públicos e Organizações Não Governamentais (ONGs) para o uso de produtos homeopáticos, visando à produção de alimentos saudáveis e livres de substâncias tóxicas. Cursos de capacitação têm sido oferecidos aos professores, técnicos e estudantes de instituições públicas e particulares, a fim de qualificá-los para posterior orientação aos agricultores.

Por outro lado, a difusão das práticas homeopáticas tem fortalecido os estudos científicos em homeopatia, com pesquisas em nível de mestrado e doutorado, originando, por exemplo, dissertação que objetivou o controle de *Alternaria solani* e desenvolvimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com tratamentos homeopáticos (TOLEDO, 2009), além de teses que estão em andamento, visando o controle de doenças em tomateiros e de pragas em soja e milho.

Outros grupos de pesquisas homeopáticas do Brasil relatam a eficiência dos homeopáticos no controle de insetos, ácaros e fitopatógenos, além da indução de resistência em plantas e aumento na produção de metabólitos secundários, bem como, aumento na produtividade de cultivos agrícolas e fertilidade do solo.

Assim, Almeida et al. (2003) em bioensaios com plantas de milho tratadas com preparados homeopáticos da lagarta *S. frugiperda* na

dinamização 30CH, observaram menor infestação da lagartas nas plantas tratadas, e maior mortalidade dos insetos nessas plantas, comparadas a testemunha.

Também, Rupp et al. (2012) verificaram que os preparados homeopáticos *Staphysagria*, aplicado em pomares de pessegueiro a cada 10 dias, e o nosódio de mosca-das-frutas, aplicado a cada 5 dias, ambos na dinamização 6CH, reduziram significativamente a incidência de larvas de *A. fraterculus*, em frutos coletados nessas plantas.

Da mesma forma, avaliando os homeopáticos *Staphysagria* 30CH e *Thuja occidentalis* 200CH para controle do ácaro-vermelho, *Panonyhus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) em tomateiros, Rolim et al. (2005) evidenciaram controle satisfatório do ácaro-vermelho em plantas tratadas, e, de forma paralela, observaram que o tratamento bioterápico *Oidium lycopersici* 50CH promoveu diminuição da queda de folhas dos tomateiros e infestação de oídio com relação à testemunha.

No controle de fitopatógenos, Bonato et al. (2006) analisaram soluções homeopáticas de *Silícia* 30CH e do bioterápico de *Phakopsora euvtis* Ono 6CH, 12CH e 30CH, visando o controle da ferrugem- das- videiras, constatando respectivamente apenas 7, 17, 9 e 18% do grau de severidade do fungo, comparada ao tratamento controle, que apresentou 100%. Também, Sinha; Singh (1983) apud Bonato (2009), utilizando-se de vários produtos homeopáticos, verificaram que o *Sulphur* 200CH inibiu em 100% o crescimento do fungo *Aspergillus parasiticus* em sementes armazenadas, reduzindo a produção da toxina aflatoxina.

Em relação a alterações metabólicas em plantas homeopatizadas, Castro et al. (2001) verificaram que o isoterápico *Cymbopogon citratus* 12CH (planta matriz), proporcionou alta produção de biomassa rica em óleo essencial com teor razoável de citral (aumento de 25%) em plantas de capim limão, comparado com a testemunha, tratada com água.

De forma semelhante, observou-se acréscimo na produção de óleo essencial em *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* tratados com o homeopático *Phosphorus* 3CH (DUARTE, 2007).

Ainda, plantas de menta (*Mentha arvensis*) submetidas às homeopantias *Sulphur* e *Arsenicum album* em diferentes dinamizações expressaram maior produção de óleo essencial em cerca de 57, 73, 91 e 53% nas dinamizações 06, 12, 24 e 30CH, respectivamente, quando comparado com o controle (BONATO et al., S/D).

O crescimento vegetativo também pode ser influenciado pelo tratamento homeopático, como demonstraram Luis e Moreno (2007) com plantas de *Allium fistulosum* (cebolinha), submetidas à *Calcarea carbonica* 30CH. Segundo os autores, houve ainda incremento em aproximadamente 45% na produção de peso fresco da cebolinha, em relação à testemunha.

2.5 – Interação de defensivos agrícolas naturais e entomopatógenos

Os DAN, ainda que se apresentem potencialmente mais seguros que os PFS em relação ao impacto sobre organismos não alvo, incluindo os agentes de controle biológico (fungos, bactéria, vírus, nematoides e outros), podem interagir positiva ou negativamente com os mesmos, interferindo no seu

desenvolvimento, na atividade inseticida ou potencializar a ação dos inimigos naturais sobre seu alvo.

A associação de tais estratégias de controle podem apresentar riscos em determinadas situações, quando, por exemplo, se utilizam DAN com outras finalidades que não inseticida, como fertilizantes ou fungicidas, que ao entrar em contato com agentes biológicos de ocorrência natural ou quando utilizados conjuntamente, podem diminuir ou inibir o potencial de entomopatógenos sobre insetos (ALVES; PINTO, 2003; SILVA et al., 2005).

Tais possibilidades e o desconhecimento acerca dos reais efeitos da interação desses produtos e entomopatógenos, vêm motivando a realização de estudos com extratos vegetais, caldas e outros produtos comerciais e os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, bactéria *Bacillus thuringiensis* e nematoides entomopatogênicos.

Assim, Depieri et al. (2005) observaram que os extratos de sementes e folhas de nim foram compatíveis com *B. bassiana* em todas as concentrações testadas, enquanto o óleo emulsionável de nim apresentou efeito inibitório sobre o fungo, principalmente nas maiores concentrações.

Da mesma forma, Formentini et al. (2009) avaliaram o efeito de alguns DAN sobre parâmetros biológicos de *M. anisopliae*, constatando que a maioria dos produtos testados afetou as UFC e o diâmetro das colônias formadas, entretanto, o produto Dalneem[®] no dobro da concentração recomendada pelo fabricante (2CR) interferiu na produção de conídios, mostrando-se moderadamente tóxico.

Ainda, Mamprim et al. (2013) com o mesmo intuito, avaliando produtos alternativos, comerciais ou não, observaram que a maioria dos extratos

analisados mostraram-se compatíveis com o fungo, com exceção da Calda Sulfocálcica, indicando-se moderadamente tóxica.

Analisando a interação de extratos vegetais e nematoides dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, isolados *Heterorhabditis* sp. (JPM4) e *Steinernema arenarium*, Alexandre et al. (2011) observaram que sobre o isolado JPM4 os extratos de citronela e alecrim causaram 100% de mortalidade, assim como, o nim e o louro que provocaram mortalidade superior a 90%, a arruda de forma contrária, promoveu apenas 0,6% de mortalidade. Para o isolado *S. arenarium*, o extrato de citronela também foi o que causou maior mortalidade. Já a infectividade em insetos não foi afetada pela exposição dos extratos aos nematoides.

Especificamente em relação aos produtos homeopáticos, apesar do uso crescente na agricultura, praticamente inexistem estudos que abordem a interação com inimigos naturais, podendo ser destacado o trabalho desenvolvido por Damin et al. (2012), que avaliou a interação de diferentes dinamizações do bioterápico de *Anticarsia gemmatalis* e o Baculovirus anticarsia sobre mortalidade de *A. gemmatalis*. Constatando que o bioterápico testado não interferiu na ação do vírus sobre *A. gemmatalis*, contudo, são necessários estudos mais aprofundados, para real recomendação e possível uso conjunto a campo.

Assim, torna-se indispensável certificar-se da compatibilidade entre fungos e produtos fitossanitários, sejam eles sintéticos ou naturais, como os homeopáticos, de forma que as estruturas infectivas do fungo não sejam mortas ou tenham sua germinação inibidas por esses produtos (ALVES; NEVES; FARIAS, 2010).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, A.P.S.; FARIA, J.L.C.; BOTTON, M.O.Z. ZANARDI, O.Z. Avaliação da calda sulfocálcica e do óleo mineral no controle da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Hemiptera: Coccidae) na cultura da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.2, p.167-169, 2007.

ALEXANDRE, T.M.; ALVES, V.S.; ALVES, L.F.A.; FANTI, A.L.P. Nematóides entomopatogênicos dos Gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* e sua interação com extratos vegetais. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., São Paulo, SP. **Anais...** São Paulo: Sociedade Entomológica do Brasil, 2011. p. 300.

ALMEIDA, A.A.; GALVÃO, J.C.C.; CASALI, V.W.D. Tratamentos homeopáticos e densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de milho no campo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.2, n.2, p.1-8, 2003.

ALMEIDA J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. **Revista Biotecnologia Ciência Desenvolvimento**, Brasília, v.20, p.77-86, 2001.

ALVES, L.F.A.; PINTO, F.G.S. Interações entre agroquímicos e bactérias entomopatogênicas. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., São Pedro, 2003, São Pedro. **Resumos...** São Pedro, 2003. p. 41.

ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.O.; FARIA, M.R. **Recomendações para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas.**

Piracicaba: CP 2 Rede Entomofungo, 2010. 52p.

ALVES, S.B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed). **Controle Microbiano de Insetos.** São Paulo: FEALQ, 1998. p.289-370.

ANDRADE, F.M.C. **Homeopatia no crescimento e produção de cumarina em chambá *Justicia pectoralis* Jacq.** 124 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

BARROLLO, C.R. **Homeopatia: Ciência médica e arte de curar.** São Paulo: ROBE, 1996. 71p.

BONATO, C.M. **Homeopatia na agricultura.** In: ENCONTRO BRASILEIRO DE HOMEOPATIA NA AGRICULTURA, 1., 2009, Campo Grande, MT. **Resumos...** Campo Grande, 2009. 14p.

BONATO, C.M.; PROENÇA, G.T.; REIS, B. **Crescimento e teor de óleo essencial em menta (*Mentha arvensis* L.) submetidos às homeopatias *Sulphur* e *Arsenicum álbum*.** S/D. Disponível em: <http://www.homeopatiavegetal.com.br/Informacoes/Arquivos/Crescimento_teor_oleo_essencial_Menta_submetidos_homeopatias_Sulphur_Arsenicum.pdf>. Acesso em: 20 dez 2012..

BONATO, C.M.; SOUZA, A.F.; COLLET, M.A. Controle da ferrugem (*Phakopsora euvitis* Ono) em videira pela aplicação de soluções homeopáticas.

In: ENCONTRO DA CULTURA HOMEOPÁTICA, 16., Simpósio do GIRI, XX., 2006, São Paulo, SP. **Resumos...** São Paulo: GIRI, 2006. p.52.

BONATO, C.M.; SOUZA, A.F.; OLIVEIRA, L.C.; TOLEDO, M.V.; PERES, P.G.P.; GRISA, S.; SAAR, V.V. **Homeopatia simples: alternativas para a agricultura familiar.** Marechal Cândido Rondon: Líder, 2007. 36p.

BONATO, C.M.; ZIBETTI, A.P; REIS, B.; ARIANE, I. **Homeopatia para o agricultor: Princípios e aplicações práticas.** Maringá: Clichetech, 2010. 40p.

BONATO, C.M.; SOUZA, A.F.; OLIVEIRA, L.C.; TOLEDO, M.V.; PERES, P.G.P.; GRISA, S.; SAAR, V.V. **Homeopatia simples: alternativas para a agricultura familiar.** Marechal Cândido Rondon: Líder, 2012. 36p.

BRASIL. Instrução Normativa N°46 de 08 de outubro de 2011. Dispõe sobre as normas para produção orgânica animal e vegetal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Distrito Federal, 08 de outubro de 2011- Seção I, p.11 a 14.

BRASIL, **Farmacopéia Homeopática Brasileira.** São Paulo: Atheneu, 1997. 118p.

CASTRO, D.M; CASALI, V.W.D.; ARRUDA, V.M.; HENRIQUES, E.; ARMOND, C.; DUARTE, E.S.M.; SILVA, C.V.; ALMEIDA, A.A. Produção de óleo essencial e campo eletromagnético de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) tratado com soluções homeopáticas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 2., 2001, Espírito Santo do Pinhal, SP, **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001, p.165- 174.

DAMIN, S.; ALVES, L. F. A.; ALEXANDRE, T. M.; BONINI, A. K.; DUDCZAK, A. Avaliação *in vitro* de preparados homeopáticos sobre a atividade do Vírus da Poliedrose Nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNAg). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24., 2012, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2012.

DEQUECH, S.T.B.; SAUSEN, C.D.; LIMA, C.G.; EGEWARTH, R. Efeito de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheba ochroloma* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae) em laboratório. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v.21, n.1, p.41-46, 2008.

DEPIERI, R.A.; MARTINEZ, S.S.; MENEZES, A.O.J. Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.34, n.4, p.601-606. 2005.

DESTÉFANO, R.H.R. **Detecção e identificação de *Metarhizium anisopliae* em larvas de *Diatraea Saccharalis* por primers específicos**. 87 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

DUARTE, E.S.M. **Crescimento e teor de óleo essencial em plantas de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* tratadas com homeopatia**. 2007. 188 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.

FARIA, M.R.; MAGALHÃES, B.P. Uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n.22, p.18-21, 2001.

FARIA, M.R.; WRAIGHT, S.P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, Orlando, v.43, p.237-256, 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; ARGOLO, V.M. **Utilização de medicamentos homeopáticos no controle de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera Chrysomelidae) em Rio Branco Acre**, 1997. Disponível em: <<http://www.hospvirt.org.br/homeopatia/port/biblioteca/port/biblioteca/pesquisahomeopática/embrapa.htm>>. Acesso em: 12 dez. 2012.

FORMENTINI, M.A.; MAMPRIM, A.P.; MARTINELO, L.; RODRIGUES, E.; MARCHESE, L.P.C.; THOMAZONI, D.; ALVES, L.F.A. Efeito *in vitro* de produtos fitossanitários alternativos sobre *Metarhizium anisopliae*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Camaragibe, v.4, n.2, p.126-129, 2009.

ITAFORTE. Itapetininga, (s/d). Disponível em: <http://www.itafortebioproductos.com.br/produto.asp?id_produto=1>. Acesso em: 22 jul. 2012.

LEITE, L.G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2003. 92p.

LOPES, P.S.N.; LEITE, G.L.D.; SÁ, V.G.M.; SILVA, A.C.; SOARES, M.A. Controle Fitossanitário Alternativo em Comunidades de Pequenos Produtores Rurais no Norte de Minas Gerais. 2004. Belo Horizonte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2., 2004. Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte: Universidade federal de Minas Gerais, 2004.

LUIS, S.J.; MORENO, N.M. **Efecto de cinco medicamentos homeopáticos em la producción de peso fresco, en Cebollín (*Allium fistulosum*)**. 2007.

Disponível em:
<http://www.comenius.edu.mx/Cinco_medicamentos_homeop_ticos_en_Ceboll_n.pdf>. Acesso em: 20 dez 2012.

LUZ, M.T. **A arte de curar versus a ciência da doença: História social da homeopatia no Brasil**. São Paulo: Dynamis, 1996. 342p.

MAMPRIM, A.P.; ALVES, L.F.A.; PINTO, F.G.S.; FORMENTINI, M.A.; MARTINS, C.C.; BONINI, A.K. Efeito de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.35, n.1. 2013.

MAPELI, N.C.; SANTOS, R.H.S.; CASALI, V.W.D.; CREMON, C.; LONGO, L. Repelência de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) exposta às soluções homeopáticas. **Revista Agrarian**, Dourados, v.3, p.119-125, 2010.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1675-1680, 2004.

MERTZ, M.R.; ALVES, L.F.A.; MARCOMINI, A.M.; OLIVEIRA, D.G.P.; SANTOS, J.C. dos. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **Biossay**, Londrina, v.5, n.3, 2010.

MODOLON, T.A. **Preparados em altas diluições para o manejo fitossanitário e pós colheita do tomateiro**. 79 f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, 2010.

ONOFRE, S.B.; VARGAS, L.R.B.; ROSSARO, M.; BARROS, N.M.; BOLDO, J.T.; NUNES, A.R.F.; AZEVEDO, J.L. Controle biológico de pragas na agropecuária por meio de fungos entomopatogênicos. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). **Biotecnologia avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. p. 295- 328.

PINTO, A.S.; BOTELHA, P.S. M.; OLIVEIRA, H.N. **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, Rede Entomofungo, 2009. 160p.

REZENDE, J.M. **Caderno de homeopatia instruções práticas geradas por agricultores sobre o uso da homeopatia no meio rural**. Viçosa: Departamento de Fitotecnia / Vicente W.D. Casali Campus da Universidade Federal de Viçosa, 2009. 51p.

RIBEIRO FILHO, A. **Repertório de homeopatia**. São Paulo: Organon, 2010. 1902p.

ROLIM, P.R.R.; HOJO, H.; ROSSI, F. Controle de ácaro vermelho do tomateiro por preparações homeopáticas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: CESAHO, 2005. 1 CD- Rom.

RUPP, L.C.D.; BOFF, M.I.C.; BOTTON, M.; SANTOS, F.; BOFF, P. High dilution of Staphysagria and fruit fly biotherapics preparations to manage South

American fruit fly, *Anastrepha fraterculus*, in organic peach orchards. **Biological Agriculture & Horticulture**, London, v.28, n.1, p.41-48, 2012.

SALLES, L.A.; RECH, N.L. Efeito de extratos de Nim (*Azadiractha indica*) e Cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (Díptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Camaragibe, v.5, n.3, p.225-22, 1999.

SANTIAGO, G.P.; PÁDUA, L.E.M.; SILVA, P.R.R.; CARVALHO, E.M.S.; MAIA, C.B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.32, n.3, p.792-796, 2008.

SILVA, R.Z.; NEVES, P.M.O.J.; SANTORO, P.H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.3, p.305-312, 2005.

SINHA, K.K. SINGH, P. Homeopathic drugs – inhibitors of growth and aflotoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Indian Phytopathology**, India, v.36, p.356-357, 1983.

SOSA-GOMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; MOSCARDI, F.; FARIAS, J.R.B. Natural Occurrence of the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium*, *Beauveria* and *Paecilomyces* in Soybean Under Till and No-till Cultivation Systems. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.3, p. 407-410, 2001.

SOSA-GOMEZ, D.R.; DELPIN, K.E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M.H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on

populations of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, n.2, p.287-291, 2003.

TOLEDO, M.V. **Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) por medicamentos homeopáticos**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste do Paraná, 2009.

VENZON, M; ROSADO, M.C.; PINTO, C.M.F; DUARTE, V.S.; DENISE EUZÉBIO, D.E.; PALLINI, A. Potencial de defensivos alternativos para o controle do ácaro-branco em pimenta "Malagueta". **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, 2006.

VITHOULKAS, G. **Homeopatia: Ciência e cura**. São Paulo: Cultrix, 1980. 463p.

CAPÍTULO 1

**EFEITO *IN VITRO* DE MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS SOBRE
BEAVERIA BASSIANA (BALS.) VUIL. (ASCOMYCOTA:
CORDYCIPTACEAE)**

**Este capítulo foi escrito de acordo com as normas de publicação científica da
Revista Brasileira de Agroecologia**

Efeito *in vitro* de medicamentos homeopáticos sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae)

In vitro assay of homeopathic products on *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Ascomycota: Cordycipitaceae)

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* dos medicamentos homeopáticos *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbonica* 30CH; *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 6, 30 e 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 e 200CH e *Thuya occidentalis* 200CH sobre parâmetros biológicos do fungo *Beauveria bassiana*. Os medicamentos em solução de água destilada e esterilizada (0,1%) foram pulverizados sobre o fungo previamente inoculado no meio de cultura BDA. Germinação, unidades formadoras de colônias (UFC), crescimento vegetativo, produção de conídios e atividade inseticida do fungo contra lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) foram avaliados. Os tratamentos *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 30CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH e *Thuya occidentalis* 200CH reduziram significativamente a germinação de conídios. Com exceção de *Arsenicum album* 24CH, os demais tratamentos promoveram aumento significativo de UFC, quando comparados à testemunha. Nenhum homeopático afetou negativamente o crescimento vegetativo, a produção de conídios, sendo que apenas *Thuya occidentalis* 200CH afetou a atividade inseticida do fungo. Além disso, foram todos classificados como compatíveis.

PALAVRAS-CHAVE: fungo entomopatogênico, medicamentos dinamizados, conservação de espécies, compatibilidade

ABSTRACT: This study aimed to evaluate *in vitro* effect of homeopathic *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbonica* 30CH, *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 6, 30 and 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 and 200CH and *Thuya occidentalis* 200CH (homeopathic drug in sterile distilled water (0,1%) on the fungus *Beauveria bassiana*. Thus, all products were spray edon the fungus (previously inoculated) in the culture medium Potato Dextrose Agar (PDA) in Petri dishes, which evaluated the colony-forming units (CFU), vegetative growth and conidia production, being that germination was evaluated in type cards Rodac. We also assessed the effect of homeopathic treatments for the insecticidal activity of the fungus against larvae of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH, *Staphysagria* 30CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH and *Thuya occidentalis* 200CH significantly reduced germination of conidia. With the exception of *Arsenicum album* 24CH, other treatments promoted a significant increase in CFU compared to the control. No homeopathic negatively affected vegetative growth, conidia production, and only *Thuya occidentalis* 200CH affected the insecticidal activity of the fungus. Moreover, all were classified as compatible.

KEY-WORDS: entomopathogenic fungus, dynamized drug, species conservation, compatibility

Introdução

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é patogênico a mais de 200 espécies de insetos e ácaros, havendo recomendações no Brasil para sua utilização no controle de mosca-branca (*Bemisia tabaci*), broca-da-erva-mate (*Hedypathes betulinus*), gorgulho-do-eucalipto (*Gonipterus scutellatus*), broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*), moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*), entre outros insetos (ALVES; LOPES, 2008; ALVES et al., 2010; BRASIL, 2013). Este fungo destaca-se como um dos agentes de biocontrole mais estudados e amplamente utilizados sobre insetos, estando sua ação relacionada a genes de grande virulência e a produção de proteases, quitinases e lipases que degradam a cutícula do hospedeiro (ALVES, 1998; XIAO et al., 2012).

Apesar da boa eficiência dos fungos em campo, as práticas culturais inadequadas vinculadas à aplicação de defensivos não seletivos a inimigos naturais prejudicam a persistência dos mesmos ou reduzem sua capacidade infectiva, sendo muitos produtos comerciais considerados tóxicos aos fungos entomopatogênicos (SOSA-GOMEZ et al., 2001, 2003).

Por outro lado, a demanda mundial por alimentos saudáveis e livres de substâncias tóxicas têm favorecido o uso de defensivos agrícolas naturais (DAN) para o controle de pragas e doenças, sendo uma alternativa menos danosa aos sistemas agrícolas como um todo, sobretudo naqueles de base orgânica e agroecológica. Tais produtos são caracterizados pela biodegradabilidade, seletividade contra inimigos naturais, baixa toxicidade ambiental e animal, além de serem economicamente mais viáveis que os produtos fitossanitários sintéticos (PFS) (FERREIRA et al., 2001).

Dentre os DAN utilizados no manejo de pragas e doenças, além dos microrganismos entomopatogênicos, destacam-se as caldas fertiprotetoras, extratos vegetais, óleos essenciais e recentemente os produtos dinamizados (homeopáticos) (PENTEADO, 2007; FERNANDES et al., 2008). A homeopatia revela-se como uma ferramenta tecnológica alternativa, com ampla aptidão para atender às exigências de uma agricultura sustentável, devido ao baixo custo dos produtos e impactos ambientais irrelevantes, conquistando gradativamente novos espaços (ROLIM et al., 2005a).

Estudos apontam para o potencial dos produtos homeopáticos para controle de insetos e ácaros (ALMEIDA et al., 2003; ROLIM et al., 2005a; MAPELI et al., 2010; CAVALCA et al., 2010; RUPP et al., 2012). Da mesma forma, outros autores relatam controle de fitopatógenos (*Alternaria solani*, *Phakopsora euvitis* Ono); aumento na indução de resistência; produção de metabólitos secundários, desenvolvimento e produtividade de plantas, dentre outros aspectos (CASTRO, 2002; BETTI et al., 2003; BONATO et al., 2006; DUARTE, 2007; TOLEDO, 2009; MODOLON, 2010).

A interação de DAN e fungos entomopatogênicos foi avaliada e, em alguns casos, houve efeito negativo sobre o fungo, como demonstraram Marques et al. (2004), que observaram redução da esporulação de *B. bassiana* na presença de óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.). Também, Mertz et al. (2010) constataram redução da esporulação, do crescimento vegetativo e da germinação, quando o fungo foi submetido aos produtos comerciais Ecolife[®], Agro-mos[®] e Dalneem[®] no meio de cultura.

Especificamente com relação aos homeopáticos, não há relatos sobre sua interação com fungos entomopatógenos, contudo, estudos com fitopatógenos mostraram

efeitos de algumas homeopantias na inibição da germinação de esporos do fungo *Fusarium roseum* (KHANNA & CHANDRA, 1976), diminuição do crescimento micelial e esporulação do fungo *A. Solani* (TOLEDO, 2009; MODOLON, 2010).

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de medicamentos homeopáticos atualmente utilizados para diversos fins agrícolas, sobre o fungo *B. bassiana*, no sentido de se conhecer o impacto destes medicamentos na biologia desse inimigo natural nos agroecossistemas.

Material e métodos

Produção de conídios de *Beauveria bassiana*. Utilizou-se o fungo *Beauveria bassiana* (isolado UNIOESTE 4), obtido da Coleção de Fungos Entomopatogênicos da Unioeste, multiplicado em meio de cultura para produção de conídios ME (extrato de levedura 5 g, mistura de sais 4,6 g, glicose 10 g, ágar 20 g e água 1000 mL), incubados a 26°C e 12h de fotofase, para crescimento e conidiogênese durante 8 dias. Os conídios foram coletados raspando-se a superfície do meio de cultura, transferidos para tubos estéreis de vidro, armazenado a -10°C por período não superior a 10 dias, até a realização dos experimentos (ALVES et al., 1998a).

Obtenção e aplicação dos medicamentos homeopáticos. A seleção dos medicamentos homeopáticos a serem utilizados na agricultura, mais especificamente em vegetais, baseia-se principalmente em analogias com as matérias médicas comumente utilizadas na escolha das homeopantias para humanos ou em resultados de trabalhos científicos. A escolha dos tratamentos de *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbonica* 30CH; *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 6, 30 e 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 e 200CH e *Thuya occidentalis* 200CH foi baseada nos relatos dos efeitos destes medicamentos sobre diversas espécies vegetais, insetos e microrganismos (Tabela 1).

Os medicamentos homeopáticos e suas dinamizações correspondentes foram obtidas de laboratório farmacêutico homeopático idôneo, cujas preparações seguiram o preconizado pela Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 1997).

Assim, 0,2 mL de cada um dos medicamentos homeopáticos foram adicionados separadamente em 19,8 mL (diluição 1/100) de álcool 70% e sucussionados 100 vezes em dinamizador braço mecânico (Modelo Denise 50-Autic), para se obter a quarta

dinamização homeopática (4CH). Em diluições sucessivas foram obtidas as dinamizações subsequentes de cada medicamento, as quais foram armazenadas para uso posterior.

Cada tratamento foi preparado adicionando-se em um tubo de vidro estéril 20 μL do medicamento homeopático em 19,980 mL de água destilada e esterilizada (solução a 0,1% de concentração homeopático/água), sendo esses tratamentos em seguida pulverizados sobre o fungo, de acordo com cada parâmetro biológico.

Procedimentos gerais para avaliação *in vitro*. Utilizaram-se tubos de vidro estéreis contendo o fungo previamente produzido, nos quais foram adicionados 10 mL de água destilada esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). Esta suspensão foi agitada, quantificada em câmara de Neubauer e padronizada na concentração de 1×10^9 conídios mL^{-1} e posteriores diluições, adequadas aos parâmetros avaliados.

Foram avaliados *in vitro* os seguintes parâmetros biológicos; germinação dos conídios, crescimento vegetativo, produção de conídios e atividade inseticida, de acordo com Alves et al. (1998b); Silva e Neves (2005) e Oliveira (2009).

Germinação dos conídios: O meio BDA (batata 200g, dextrose 20g, estreptomicina 0,05g, ágar 15g e 1000 mL de água destilada estéril) foi vertido em placa do tipo Rodac e após solidificação do meio BDA foram inoculados em sua superfície 150 μL da suspensão fúngica (1×10^6 conídios/mL), espalhada com a movimentação circular da placa de forma manual. Em seguida, 150 μL dos tratamentos foram aplicados com um micropulverizador acoplado a um compressor de ar (pressão constante de 0,84 kgf/cm^2 de saída). A testemunha água recebeu a pulverização de 150 μL de água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). Para cada tratamento foram preparadas cinco placas, sendo cada uma correspondente a uma repetição.

Após a inoculação, as placas foram incubadas por 16h a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase e então, contou-se o número de conídios germinados e não germinados em microscópio óptico (400 \times de aumento).

Unidades Formadoras de Colônia (UFC): Foram inoculados e distribuídos 100 μL da suspensão do fungo (1×10^3 conídios/mL) sobre a superfície do meio de cultura BDA em placa de Petri. Em seguida, os tratamentos foram pulverizados de acordo com o item 2.3.1. As placas testemunha contendo o fungo receberam 100 μL de água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). As placas foram incubadas durante três dias a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase, com posterior quantificação das colônias formadas. Para

todos os tratamentos foram preparadas cinco placas, sendo cada uma delas considerada uma repetição.

Crescimento vegetativo: O fungo foi inoculado na superfície do meio de cultura em placa de Petri, com auxílio de alça de platina em três pontos. As placas foram incubadas a $26\pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase por 2 dias. Após esse período, foram pulverizados 250 μL de tratamento/placa. A testemunha foi constituída de água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). As placas foram novamente incubadas nas mesmas condições, por mais cinco dias. O crescimento vegetativo foi determinado com base em duas medições perpendiculares das colônias, visando-se obter o seu diâmetro médio.

Produção de conídios: Após a verificação do crescimento vegetativo, as colônias foram recortadas e transferidas individualmente para tubos de vidro estéreis, aos quais se adicionaram 10 mL de água destilada esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). Após agitação, por aproximadamente 2 minutos, fez-se a quantificação dos conídios em câmara de Neubauer e microscópio óptico. Para cada tratamento foram avaliadas 10 colônias, sendo duas de cada repetição.

Efeito de diferentes soluções hidroalcoólicas sobre os parâmetros biológicos de *Beauveria bassiana*. Considerando que os produtos homeopáticos são constituídos por soluções alcoólicas, foi realizado um experimento com o objetivo de verificar o efeito deste solvente sobre parâmetros biológicos do fungo.

Foram adotados os procedimentos gerais para avaliação *in vitro* descritos anteriormente, tendo-se como tratamentos a pulverização de soluções hidroalcoólicas nas concentrações variando de 0,5 a 2,5% de álcool de cereais/água destilada e esterilizada. Os valores percentuais foram escolhidos com base na recomendação de que para preparo da “calda” aplicada em campo, não devem ser aplicadas soluções alcoólicas acima de 1%, visto a possibilidade de toxicidade para as plantas e agentes biológicos (BONATO et al., 2012). Na testemunha, aplicou-se água destilada e esterilizada. Para cada tratamento e também para a testemunha foram preparadas cinco repetições.

Efeito de diferentes produtos homeopáticos sobre parâmetros biológicos de *Beauveria bassiana*. Foram adotados os mesmos procedimentos experimentais descritos no item procedimentos gerais para avaliação *in vitro*, descritos anteriormente, tendo-se como tratamentos os produtos homeopáticos na concentração de 0,1% (Tabela

1). Foi também utilizada uma solução hidroalcoólica 0,1% não dinamizada e uma testemunha, na qual se aplicou água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%).

Além dos parâmetros citados, avaliou-se o efeito dos produtos homeopáticos sobre a atividade inseticida de *B. bassiana*, conforme segue.

Avaliação sobre a atividade inseticida. O fungo foi inoculado em meio de cultura para esporulação (ME) e cerca de uma hora depois foram pulverizados os produtos na proporção de 250 µL sobre o fungo. Nas placas da testemunha, sobre o fungo inoculado foi aplicado 250 µL de água destilada e esterilizada. As placas foram incubadas por 8 dias a 26±1°C e 12h de fotofase. Os conídios foram coletados raspando-se a superfície do meio e transferidos para tubos de vidro estéreis, preparando-se em seguida, suspensões na concentração de 1×10⁹ conídios/mL com os conídios obtidos de cada um dos tratamentos. Esta concentração foi avaliada previamente para se obter aproximadamente 80% de mortalidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae).

Utilizaram-se nos bioensaios lagartas de 3^o ínstar de *D. saccharalis*, alimentadas com dieta artificial (PARRA, 1999) provenientes da criação do laboratório.

Os insetos foram dispostos em placas de Petri e receberam 2 mL dos tratamentos utilizando-se torre de Potter (regulada à pressão de 15 lb/pol²). Após 1 minuto, as lagartas foram transferidas para placas de Petri contendo dieta artificial, e foram incubados por 10 dias a 26±1°C e 12h de fotofase. Diariamente, era feita a substituição do alimento e avaliação de mortalidade, sendo os insetos mortos retirados, imersos em álcool 70% durante 15 segundos, seguida de imersão em água destilada esterilizada por igual tempo, e mantidos em câmara úmida para confirmação da mortalidade pelo fungo, observando-se sinais e sintomas de infecção pelo fungo (ALVES, 1998). Para cada tratamento e também para a testemunha foram utilizadas 60 lagartas divididas em repetições de 15 lagartas.

Análises dos dados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados submetidos ao teste de normalidade (Shapiro Wilk) e análise de variância (teste F). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, ambos a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2011).

A compatibilidade entre os tratamentos e o fungo foi baseada no cálculo de toxicidade proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008):

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}, \text{ em que:}$$

IB= Índice Biológico; CV= porcentagem do crescimento vegetativo da colônia após 7 dias, em relação à testemunha; ESP= porcentagem da esporulação das colônias após 7 dias, em relação à testemunha; GER= porcentagem de germinação dos conídios após 16 h, visto que os valores de CV, ESP e GER devem ser previamente corrigidos em relação às respectivas testemunhas. Os valores do IB ($p=0,05$) para a classificação dos produtos foram: Tóxico 0-41; Moderadamente Tóxico 42-66 e Compatível > 66 .

Resultados e discussão

Efeito de diferentes soluções hidroalcoólicas sobre parâmetros biológicos de *Beauveria bassiana*. Em geral, as diferentes soluções hidroalcoólicas não diferiram da testemunha água destilada nos parâmetros biológicos de *B. bassiana* (Tabela 2). A viabilidade em todos os tratamentos apresentou valores percentuais médios acima de 98,0%, significativamente iguais à testemunha (98,7%). Da mesma forma, as UFC também não foram afetadas. Para o crescimento vegetativo, não houve diferença significativa entre o diâmetro das colônias obtidas nos tratamentos e também na comparação com a testemunha. A produção de conídios também não foi influenciada pela presença das soluções hidroalcoólicas, sendo que todos os tratamentos apresentaram-se significativamente iguais a testemunha. Ressalta-se que mesmo as soluções hidroalcoólicas com mais de o dobro de álcool das soluções homeopáticas, não apresentaram ação sobre parâmetros biológicos de *B. bassiana*.

Por outro lado, testes *in vitro* com o fungo *A. solani*, e soluções hidroalcoólicas dinamizadas, aplicadas na concentração de 0,0015% no meio de cultura, diferiram-se da testemunha água destilada (TOLEDO, 2009) nos diferentes parâmetros biológicos do fungo avaliado. A variação observada na pesquisa citada com relação ao presente trabalho pode estar associada às espécies de fungo, e também ao processo de dinamização realizado pela autora para o preparo das soluções hidroalcoólicas, uma vez que houve efeito negativo, mesmo sendo utilizadas soluções com concentrações alcoólicas menores que no presente estudo. Embora o álcool seja considerado um veículo inerte pela farmacopeia homeopática, alguns experimentos feitos com solventes dinamizados, como a acetona apresentaram inibição no crescimento de plântulas de trigo (REIS et al., 2011) o que pode também interferir nos microrganismos em geral.

Entretanto, no presente estudo, pode-se descartar a possibilidade de o álcool individualmente (não dinamizado) presente nos produtos homeopáticos intervir sobre o fungo (Tabela 2). Assim, os resultados significativos sobre os parâmetros biológicos de *B. bassiana*, provavelmente decorrem dos medicamentos homeopáticos propriamente ditos.

Ação das soluções homeopáticas sobre *Beauveria bassiana*. Foram observados diferentes efeitos em *B. bassiana*, sendo que alguns parâmetros biológicos foram estimulados e outros inibidos na presença dos medicamentos homeopáticos (Tabela 3).

Para a viabilidade dos conídios, ocorreu redução significativa nos tratamentos *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 30CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH e *Thuya occidentalis* 200CH. Os demais tratamentos apresentaram-se iguais a testemunha (Tabela 3).

De forma semelhante, Khanna e Chandra (1976) também relatam inibição da germinação de esporos do fungo *F. roseum* em tomates e de *Pestalotia mangifera* em frutos de manga, tratados com o homeopático *Phosphorus* nas dinamizações 35 e 50CH, respectivamente.

No entanto, em estudos com *A. solani*, avaliando-se o efeito *in vitro*, não se verificou inibição na germinação do fungo tratado com as homeopáticas *Sulphur*, *Silicea terra*, *Staphysagria*, *Phosphorus* e *Kali iodatum* nas dinamizações 6, 12, 30 e 100CH (TOLEDO, 2009).

O processo de dinamização normalmente utilizado para preparo dos medicamentos homeopáticos transforma a matéria pelo aumento de seu poder de informação, sendo que cada dinamização age de uma forma única nos seres vivos, (BONATO et al., 2012). Assim, os distintos resultados observados por Toledo (2009), Khanna e Chandra (1976) e o presente trabalho, provavelmente ocorreram em virtude das diferentes dinamizações analisadas em cada estudo, bem como em função das espécies de fungo envolvidas.

A pequena redução ou não interferência na viabilidade de *B. bassiana* com a maioria dos medicamentos testados é de grande importância, já que é a partir da germinação que os fungos penetram no corpo do inseto e iniciam o processo de colonização, garantindo que ao menos o processo infeccioso se inicie (SILVA; NEVES, 2005).

Contrastando com a viabilidade, houve interação positiva sobre as UFC, de forma que apenas *Arsenicum album* 24CH apresentou-se estatisticamente igual à

testemunha água destilada. Os demais tratamentos, *Sulphur* 100 e 200CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 06, 30 e 100CH; *Calcarea carbônica* 30CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Thuya occidentalis* 200CH; *Kali iodatum* 100CH e *Phosphorus* 3CH promoveram aumento significativo de UFC comparado à testemunha. Assim, acredita-se que as homeopatas *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 30CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH e *Thuya occidentalis* 200CH possam ter apenas retardado a germinação dos conídios, visto que a viabilidade foi avaliada após 16 horas da aplicação e a formação de UFC se dá depois de 48 horas.

Especificamente em relação ao tratamento *Spodoptera frugiperda* 30CH, com base nos princípios da homeopatia nessa dinamização a probabilidade de ser ter matéria da substância original em solução é remota, pois a partir da décima segunda diluição (1/100) ultrapassa-se o número de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$) restando apenas a informação da substância original (DAVENAS et al., 1988). Assim, sua ação positiva sobre o crescimento do fungo pode ter sido decorrente do estímulo da informação presente no medicamento, já que é sabido *Spodoptera frugiperda* é suscetível a *B. bassiana* que no ciclo infeccioso se desenvolve vegetativamente no hospedeiro (CARNEIRO et al., 2008).

Outros estudos constataram haver interações positivas e negativas entre DAN e fungos entomopatogênicos. Dentre as interações, é citado que pode haver o aproveitamento de substâncias presentes nos produtos pelo fungo, a partir da metabolização e passam a ser nutrientes (TAMAI et al., 2002; FORMENTINI et al., 2009; MAMPRIM et al., 2013).

De forma semelhante aos resultados observados nas UFC, os tratamentos homeopáticos não afetaram negativamente o crescimento vegetativo. De tal modo, que *Staphysagria* 30 e 100CH; *Phosphorus* 3 CH e *Sulphur* 200CH, promoveram aumento no diâmetro das colônias de *B. bassiana*, diferindo-se da testemunha água destilada.

Estudos relacionados a fungos fitopatogênicos divergem do presente trabalho, já que testes com *Sulphur* 200CH demonstram inibição em 100% do crescimento do fungo *Aspergillus parasiticus* (SINHA; SINGH, 1983). Entretanto, deve-se considerar que a metodologia de preparação dos medicamentos é extremamente diversa entre os países. Em consequência, os resultados podem divergir notoriamente dependendo da farmacopeia utilizada.

Em outros trabalhos, *Staphysagria* 30CH e *Phosphorus* 30CH reduziram a severidade de *A. solani* (ROLIM et al., 2005b). Assim como, *Staphysagria* 100CH e

Sulphur 100CH inibiram o crescimento micelial desse fungo (redução de 12,87 e 16,97%) (TOLEDO, 2009). Já Modolon (2010) relata redução micelial de *A. solani* causada pelo homeopático *Arsenicum album* 80CH. Tais resultados ainda corroboram a ação dos homeopáticos *Sulphur*, *Staphysagria*, *Arsenicum album* e *Phosphorus* no controle de doenças fitopatogênicas indicadas por Casali et al. (2009) e Bonato et al. (2012). No entanto, divergem do presente trabalho, sendo explicado pelo fato dos medicamentos utilizados pelos autores terem sido selecionados com base no princípio da “lei do semelhante” que rege a escolha de medicamentos homeopáticos (BELMUDE, 2001). Assim, as características de *A. solani* que se sobressaíram para escolha de cada medicamento, possivelmente condiziam com os sinais (sintomas) que esses medicamentos poderiam promover em *A. solani*, alcançando-se o resultado de inibição do fitopatógeno. Neste trabalho, de forma distinta, os medicamentos foram escolhidos apenas com base no seu efeito observado por outros autores, como já mencionado.

Na produção de conídios não se observou diferença significativa em função das diferentes homeopantias utilizadas com relação a testemunha (Tabela 3). A ausência de efeito pode ter ocorrido pela especificidade dos homeopáticos, que por não terem uma ação generalizada sobre os fungos, não interferiram negativamente sobre os parâmetros biológicos de *B. bassiana*. Além disso, nas fases de colonização e esporulação, os fungos estão menos expostos aos produtos fitossanitários do que na fase de germinação (SILVA & NEVES, 2005).

Ainda com relação aos medicamentos *Sulphur*, *Silicea terra*, *Staphysagria*, *Phosphorus*, *Ferrum sulphuricum* e *Kali iodatum* nas dinamizações 6, 12, 30 e 100CH, de forma geral, estes reduziram a esporulação do *A. solani*, com destaque para a homeopatia *Staphysagria* 6CH (TOLEDO, 2009).

Ressalta-se que os estudos com homeopáticos em microrganismos, ainda estão limitados ao controle de fitopatógenos, dificultando a comparação de determinados parâmetros no presente trabalho.

Quanto à toxicidade, de acordo com o índice biológico proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008), conclui-se que todos os homeopáticos testados apresentaram-se compatíveis ao fungo *B. bassiana*, podendo ser recomendada sua utilização conjunta, visto que seu efeito sobre o fungo presente no ambiente pode ser mínimo, não afetando a conservação dos inimigos naturais.

Ação dos tratamentos homeopáticos na atividade inseticida de *Beauveria bassiana* sobre *Diatraea saccharalis*. A mortalidade de *D. saccharalis* pelo fungo não foi afetada significativamente pela presença dos medicamentos homeopáticos no meio de cultura, quando comparados os tratamentos contendo o fungo produzido no meio de cultura, tratado com água destilada apenas (testemunha fungo). Com exceção do tratamento *B. bassiana* + *Thuja occidentalis* 200CH, que diferiu-se da testemunha fungo (Tabela 4).

A não intervenção da maioria dos tratamentos homeopáticos sobre a atividade inseticida de *B. bassiana* pode ser justificada pela forma com que os medicamentos homeopáticos agem, não sendo produtos que eliminam ou extinguem os organismos, mas sim utilizados para readaptando os seres vivos e suas funções ecológicas, de modo que seja restaurado o equilíbrio ao sistema (ALMEIDA et al., 2002).

Diante os resultados do presente trabalho, observando-se que todos os tratamentos homeopáticos apresentaram-se compatíveis ao fungo *B. bassiana* e não interferiram na atividade do mesmo sobre *Diatraea saccharalis*, acredita-se que o uso de produtos homeopáticos nos sistemas agroecológicos não interfira na conservação desses inimigos naturais, nem se descarta ainda a possibilidade de interações positivas entre produtos homeopáticos e fungos, no controle biológico aplicado. Isto porque, os testes *in vitro* expõem o patógeno à máxima atividade do produto e, se mesmo assim não houver interação negativa, espera-se que no campo, onde a exposição é menos intensa, é provável que também não ocorram efeitos negativos (MOINO Jr. & ALVES, 1998). Contudo, não é descartada a necessidade de estudos em condições reais a fim de se confirmar a compatibilidade aqui constatada e se fazer a recomendação do uso seguro do ponto de vista ambiental.

Agradecimentos

A CAPES e CNPq por concessão de bolsas e financiamento de parte da pesquisa.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, M.A.Z. et al. Teor foliar de cobre durante o desenvolvimento do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) intoxicado com sulfato de cobre e tratado com Cuprum CH30. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 3., 2002, Campinas do Sul, RS, **Anais...**Viçosa: UFV, 2002. p.91- 95.

ALMEIDA, A.A. et al. Tratamentos homeopáticos e densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de milho no campo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.2, n.2, p.1-8, 2003.

ALVES, S. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap.11, p.289-381.

ALVES, L.F.A. et al. **Recomendações para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas**. Piracicaba: CP 2, 2010. 52p.

ALVES, S.B. et al. Técnicas de Laboratório. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998a. Cap.20, p.637-710.

ALVES, S.B. et al. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998b. Cap.9, p.217-238.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 414p.

ANDRADE, F.M.C. **Homeopatia no crescimento e produção de cumarina em chambá *Justicia pectoralis* Jacq.** Viçosa, 2000. 124p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

BELMUDE, J.R.M. **Organon da Arte de Curar**. São Paulo: Robe, 2001. 248p.

BETTI, L.; et al. Effects of homeopathic arsenic on tobacco plant resistance to tobacco mosaic virus. Theoretical suggestions about system variability, based on a large experimental data set. **Homeopathy, USA**, n.92, p.195-202, 2003.

BONATO, C.M. et al. Controle da ferrugem (*Phakopsora euvitis* Ono) em videira pela aplicação de soluções homeopáticas. In: ENCONTRO DA CULTURA

HOMEOPÁTICA, 16., Simpósio do GIRI, XX., 2006, São Paulo, SP. **Resumos...** São Paulo: GIRI 2006. p.52.

BONATO, C.M. et al. **Homeopatia simples: alternativas para a agricultura familiar.** Marechal Cândido Rondon: Líder, 2012. 36p.

BRASIL. **Farmacopéia Homeopática Brasileira.** São Paulo: Atheneu, 1997. 118p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Consulta de produtos formulados/** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: MAPA, 2013. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 20 jun. 2013.

CARNEIRO, A.A. et al. Molecular characterization and pathogenicity of isolates of *Beauveria* spp. to fall armyworm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, p.513-520, 2008.

CASALI, V.W.D. et al. **Acologia de Altas Diluições.** Viçosa: Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, 2009. 537p.

CASTRO, D.M. **Preparações homeopáticas em plantas de cenoura, beterraba, campim-limão e chambá.** Viçosa, 2002. 240p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

CAVALCA, P.A.M. et al. Homeopathic and larvicide effect of *Eucalyptus cinerea* essential oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives Biology and Technology**, Curitiba, v.53, n.4, p.835-843, 2010.

DAVENAS, E. et al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE. **Nature**, Reino Unido, 1988; 333: 816.

DUARTE, E.S.M. **Crescimento e teor de óleo essencial em plantas de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* tratadas com homeopatia.** Viçosa, 2007. 188p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

FERNANDES, M.C.A. et al. **Defensivos alternativos.** Niterói: Programa Rio Rural, 2008. 17p. (Documento Técnico 01). Disponível em: < <http://www.pesagro.rj.gov.br/downloads/riorural/01%20Defensivos%20Alternativos.pdf> >. Acesso: 20 jan. 2013.

FERREIRA, J.T.B. et al. **Produtos Naturais no controle de Insetos**. São Carlos: UFSCar, 2001. 176p.

FERREIRA, D.F. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FORMENTINI, M.A. et al. Efeito *in vitro* de produtos fitossanitários alternativos sobre *Metarhizium anisopliae*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Camaragibe, v.4, n.2, p.126-129, 2009.

KHANNA, K.K.; CHANDRA, S. Control of tomato fruit rot by *Fusarium roseum* with homeopathic drugs. **Indian Phytopathology**, India, v.29, p.269-272, 1976.

LUIS, S.J.; MORENO, N.M. **Efecto de cinco medicamentos homeopáticos em la producción de peso fresco, en cebollín (*Allium fistulosum*)**. (S/D). Disponível em: <http://www.comenius.edu.mx/Cinco_medicamentos_homeop_ticos_en_Ceboll_n.pdf>. Acesso em: 20 dez 2012.

MAMPRIM, A.P. et al. Efeito de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.35, n.1. 2013.

MAPELI, N.C. et al. Repelência de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) exposta às soluções homeopáticas. **Revista Agrarian**, Dourados, v.3, n.8, p.119-125, 2010.

MARQUES, R.P. et al. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1675-1680, 2004.

MERTZ, M.R. et al. Efeito de produtos fitossanitários naturais sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *in vitro*. **Biossay**, Londrina v.5, n.3, 2010.

MODOLON, T.A. **Preparados em altas diluições para o manejo fitossanitário e pós colheita do tomateiro**. Lages, 2010. 79p. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina.

MOINO Jr., A; ALVES, S.B. Efeito de Imidacloprid e Fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, n.4, p.611-620, 1998.

OLIVEIRA, D.G.P. **Proposta de um protocolo para avaliação da viabilidade de conídios de fungos entomopatogênicos e determinação da proteção ao calor conferida a *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* pela formulação em óleo emocionável.** Piracicaba, 2009. 90p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programa de controle biológico.** Piracicaba: FEALQ, 1999. 137p.

PENTEADO, S.R. **Defensivos alternativos e naturais.** Campinas: Via Orgânica,, 2007. 152p.

REIS, B. et al. High dilutions of acetone affect the Avena sativa growth in vitro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMÁCIA HOMEOPÁTICA, 8., Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu: International Journal of High Dilution, 2011. v.10 n.36, p.249-252.

ROLIM, P.R.R. et al. Controle de ácaro vermelho do tomateiro por preparações homeopáticas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza, 2005a. 1 CD- Rom.

ROLIM, P.R.R. et al. Preparados homeopáticos no controle da pinta preta do tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza, 2005b. 1 CD- Rom.

ROSSI-ZALAF, L.S. et al. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios.** Piracicaba, FEALQ, 2008. p.279-302.

RUPP, L.C.D. et al. High dilution of *Staphysagria* and fruit fly biotherapies preparations to manage South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus*, in organic peach orchards. **Biological Agriculture & Horticulture**, London, v.28, n.1, p.41-48, 2012.

SILVA, R.Z.; NEVES, P.M.O.J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and in vitro phytosanitary products. **Pest Management Science**, USA, v.61, p.667-674, 2005.

SINHA, K.K. SINGH, P. Homeopathic drugs inhibitors of growth and aflotoxina production by *Aspergillus parasiticus*. **Indian Phytopathology**, India, v.36, p.356-357. 1983.

SOSA-GOMEZ, D.R. et al. Natural Occurrence of the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium*, *Beauveria* and *Paecilomyces* in Soybean Under Till and No-till Cultivation Systems. **Neotropical Entomology**, Londrina , v.30, n.3, p. 407-410, 2001.

SOSA-GOMEZ, D.R et al. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, n.2, p.287-291, 2003.

TAMAI, M.A. et al. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, Campinas, v.69, n.3, p.89-96, 2002.

TOLEDO, M.V. **Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento do tomateiro (*Lycopersicum esculentum* Mill) por medicamentos homeopáticos**. Marechal Cândido Rondon, 2009. 95p. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Oeste do Paraná.

XIAO, G. et al. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports**, EUA, v.2, p.483- 493, 2012.

Anexos

Tabela 1 - Produtos homeopáticos utilizados, dinamizações, modo de ação e indicação.

| Homeopáticos | Dinamização | Modo de ação/ Indicação | Referências |
|------------------------------|---------------|--|--|
| <i>Arsenicum album</i> | 24 CH | Produção de metabólicos secundários; controle de fitopatógenos; desintoxicação do solo e plantas | Casali et al., 2009; Bonato et al., 2012 |
| <i>Calcarea carbonica</i> | 30 CH | Crescimento vegetativo em plantas; solo com deficiência de cálcio | Luis & Moreno, S/D; Bonato et al., 2012 |
| <i>Kali iodatum</i> | 100 CH | Controle de fitopatógenos; desenvolvimento de plantas | Toledo, 2009; Casali et al., 2009; Bonato et al., 2012 |
| <i>Phosphorus</i> | 3 CH | Produção de metabólicos secundários (óleo essencial); controle de fitopatógenos | Duarte, 2007; Casali et al., 2009; Andrade, 2000 |
| <i>Silicea</i> | 30 CH | Controle de fitopatógenos e pragas; desenvolvimento vegetal | Bonato et al., 2006; Casali et al., 2009; Bonato et al., 2012 |
| <i>Staphysagria</i> | 6; 30 e 100CH | Controle de insetos, ácaros e doenças fitopatogênicas | Rupp et al., 2012; Rolim et al., 2005a |
| <i>Spodoptera frugiperda</i> | 30 CH | Controle de insetos | Almeida et al., 2003; Bonato et al., 2012 |
| <i>Sulphur</i> | 100 e 200CH | Controle de fitopatógenos e pragas | Sinha & Singh (1983); Bonato et al., 2007; Casali et al., 2009 |
| <i>Thuya occidentalis</i> | 200 CH | Controle de fitopatógenos, insetos e ácaros | Casali et al., 2009; Rolim et al., 2005a; Bonato et al., 2012 |

Tabela 2 - Viabilidade de conídios, Unidades Formadoras de Colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios de *Beauveria bassiana* (Unioeste 04), submetido a diferentes soluções hidroalcoólicas (26±1 °C e 12 h de fotofase).

| Tratamentos | Viabilidade (%) | UFC | Crescimento Vegetativo (cm ²) | Produção conídios (× 10 ⁶ / mL) |
|--------------------------|-----------------|---------------|---|--|
| Testemunha água | 98,7 ± 0,55 a | 83,2 ± 8,62 a | 3,33 ± 0,13 a | 16,6 ± 2,09 a |
| Sol. hidroalcoólica 0,5% | 98,7 ± 0,24 a | 87,4 ± 6,09 a | 3,39 ± 0,07 a | 14,0 ± 1,64 a |
| Sol. hidroalcoólica 1,0% | 98,5 ± 0,78 a | 97,8 ± 7,47 a | 3,59 ± 0,07 a | 20,9 ± 2,21 a |
| Sol. hidroalcoólica 1,5% | 99,3 ± 0,46 a | 85,2 ± 9,04 a | 3,27 ± 0,19 a | 20,3 ± 1,53 a |
| Sol. hidroalcoólica 2,0% | 98,6 ± 0,94 a | 79,2 ± 8,19 a | 3,49 ± 0,15 a | 17,4 ± 2,43 a |
| Sol. hidroalcoólica 2,5% | 99,3 ± 0,41 a | 74,0 ± 7,97 a | 3,51 ± 0,09 a | 18,7 ± 1,35 a |
| C.V. (%) | 1,08 | 16,32 | 6,57 | 18,43 |
| Fator F | 0,70 | 1,71 | 1,46 | 2,96 |

Médias (± EP) seguidas de mesma letra na coluna, para cada graduação alcoólica testada, não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 3 - Viabilidade de conídios, Unidades Formadoras de Colônia (UFC), crescimento vegetativo, produção de conídios, valores de “T” e compatibilidade de *Beauveria bassiana* (Unioeste 04) submetido a diferentes preparados homeopáticos (26±1 °C e 12 h de fotofase).

| Homeopáticos | Viabilidade (%) | UFC | Crescimento vegetativo (cm ²) | Produção conídios (× 10 ⁶ / mL) | Valor de T / C |
|------------------------------|-----------------|---------------|---|--|----------------|
| Testemunha água | 95,4 ± 1,23 a | 31,2 ± 6,23 b | 4,0 ± 0,23 b | 47,5 ± 9,42 a | - |
| Sol. Hid. (0,1%) | 95,7 ± 0,41 a | 32,6 ± 2,43 b | 4,2 ± 0,14 a | 45,0 ± 4,45 a | - |
| <i>A. album</i> 24CH | 96,2 ± 0,78 a | 40,2 ± 3,86 b | 4,0 ± 0,08 b | 42,1 ± 1,94 a | 94,63/ C |
| <i>C. carbonica</i> 30CH | 96,4 ± 0,53 a | 51,8 ± 6,38 a | 3,6 ± 0,37 b | 41,4 ± 7,96 a | 89,88/ C |
| <i>Kali iodatum</i> 100CH | 93,8 ± 2,37 a | 56,2 ± 6,86 a | 4,0 ± 0,12 b | 40,2 ± 8,47 a | 92,87/ C |
| <i>Phosphorus</i> 3CH | 90,6 ± 1,11 b | 58,2 ± 8,67 a | 4,4 ± 0,13 a | 51,1 ± 5,86 a | 107,13/ C |
| <i>Silicea</i> 30CH | 90,6 ± 1,23 b | 46,2 ± 4,75 a | 3,9 ± 0,12 b | 42,7 ± 6,48 a | 87,60/ C |
| <i>Staphysagria</i> 6CH | 94,1 ± 1,39 a | 49,8 ± 2,09 a | 3,6 ± 0,32 b | 45,7 ± 5,27 a | 92,47/ C |
| <i>Staphysagria</i> 30CH | 90,4 ± 0,51 b | 47,2 ± 2,62 a | 4,3 ± 0,19 a | 60,8 ± 9,32 a | 114,69/ C |
| <i>Staphysagria</i> 100CH | 94,0 ± 1,24 a | 50,2 ± 3,25 a | 4,1 ± 0,17 a | 47,0 ± 11,11 a | 100,33/ C |
| <i>S. frugiperda</i> 30CH | 89,8 ± 0,86 b | 54,2 ± 4,42 a | 3,9 ± 0,05 b | 38,9 ± 1,94 a | 89,10/ C |
| <i>Sulphur</i> 100CH | 95,2 ± 1,18 a | 44,0 ± 3,48 a | 4,1 ± 0,12 b | 56,5 ± 5,97 a | 108,56/ C |
| <i>Sulphur</i> 200CH | 96,0 ± 1,44 a | 51,6 ± 4,89 a | 4,4 ± 0,08 a | 46,8 ± 4,82 a | 104,02/ C |
| <i>T. occidentalis</i> 200CH | 89,7 ± 1,51 b | 56,2 ± 9,93 a | 3,8 ± 0,05 b | 39,3 ± 8,83 a | 89,71/ C |
| C.V. (%) | 2,29 | 19,87 | 7,86 | 26,62 | - |
| Fator F. | 7,43 | 3,88 | 3,13 | 1,36 | - |

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de significância.

Valores de T, segundo ROSSI-ZALAF *et al.* (2008) entre 0 e 41 = tóxico (T); entre 42 e 66 = Moderadamente tóxico (MT); maiores que 66 = compatível (C).

Tabela 4 - Mortalidade confirmada (\pm EPM) de lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidas ao fungo *Beauveria bassiana* (Unioeste 04), multiplicado em meio ME + produtos homeopáticos ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 h de fotofase).

| Tratamento | Mortalidade média confirmada (%) |
|--|----------------------------------|
| Testemunha água | 0,0 \pm 0,00 c |
| Solução hidroalcoólica (0,1%) | 0,0 \pm 0,00 c |
| <i>B. bassiana</i> | 86,7 \pm 5,44 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Thuya occidentalis</i> 200CH | 69,9 \pm 6,66 b |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Arsenicum album</i> 24CH | 93,3 \pm 5,44 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Calcarea carbônica</i> 30CH | 83,3 \pm 2,22 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>kali iodatum</i> 100CH | 85,0 \pm 7,28 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Phosphorus</i> 3CH | 91,7 \pm 1,92 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Silicea</i> 30CH | 85,0 \pm 3,68 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Staphysagria</i> 06CH | 79,9 \pm 5,44 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Staphysagria</i> 30CH | 86,5 \pm 5,37 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Staphysagria</i> 100CH | 83,3 \pm 6,66 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>S. frugiperda</i> 30CH | 85,0 \pm 3,68 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Sulphur</i> 100CH | 80,0 \pm 7,02 a |
| <i>B. bassiana</i> + <i>Sulphur</i> 200CH | 86,0 \pm 3,14 a |
| C.V.(%) | 15,11 |

Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de significância.

4. CAPÍTULO 2

**EFEITO *IN VITRO* DE MEDICAMENTOS HOMEOPÁTICOS SOBRE
METARHIZIUM ANISOPLIAE (METSCH) SOROK. (ASCOMYCOTA:
CLAVICIPITACEAE)**

**Este capítulo foi escrito de acordo com as normas de publicação científica da
Revista Brasileira de Agroecologia**

Efeito *in vitro* de medicamentos homeopáticos sobre *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok.(Ascomycota: Clavicipitaceae)

In vitro assay on homeopathic products *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. (Ascomycota: Clavicipitaceae)

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* dos produtos homeopáticos *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbonica* 30CH; *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 6; 30 e 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 e 200CH e *Thuya occidentalis* 200CH sobre parâmetros biológicos do fungo *Metarhizium anisopliae*. Os produtos em solução de água destilada e esterilizada (0,1%) foram pulverizados sobre o fungo previamente inoculado no meio de cultura BDA. Os parâmetros biológicos avaliados foram: germinação dos conídios, unidades formadoras de colônias (UFC), crescimento vegetativo, produção de conídios e atividade inseticida do fungo contra lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Os medicamentos homeopáticos não afetaram de forma negativa os parâmetros avaliados. Assim, todos os tratamentos foram considerados compatíveis ao fungo *M. anisopliae* e não afetaram a atividade inseticida do mesmo sobre *D. saccharalis*.

PALAVRAS-CHAVE: Defensivos agrícolas naturais, fungos entomopatogênicos, soluções dinamizadas, compatibilidade.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the in vitro effect of homeopathic *Arsenicum Album* 24CH, *Calcarea carbonica* 30CH, *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH, *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 6, 30 and 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 and 200CH and *Thuya occidentalis* 200CH on biological parameters of the fungus *Metarhizium anisopliae*. The product solution in sterile distilled water (0.1%) was sprayed over the previously inoculated fungus on PDA culture medium. The parameters evaluated were germinated conidia, colony forming units (CFU), vegetative growth, conidial production and insecticidal activity of the fungus against larvae of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). Homeopathic medicines do not affect negatively the parameters evaluated. Thus, all treatments were considered compatible to the fungus *M. anisopliae* and did not affect the insecticidal activity of the same on *D. saccharalis*.

KEYWORDS: Agrochemicals natural entomopathogenic fungi, streamlined solutions, compatibility.

Introdução

Os fungos entomopatogênicos apresentam grande potencial no controle de pragas, devido sua capacidade de supressão das populações de insetos em todos os estágios de desenvolvimento do hospedeiro (LEITE et al., 2003). Apresentam-se como os principais agentes microbianos controladores de insetos-praga. Cerca de 80% das doenças em insetos têm como agente etiológico os fungos entomopatogênicos (ALVES, 1998).

O fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. destaca-se como patógeno natural de diversas pragas agrícolas, sendo recomendado no Brasil para o controle de cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*), cigarrinha-das-folhas da cana-de-açúcar (*Mahanarva posticata*), cigarrinha-das-pastagens (*Notozulia entreriana*, *Deois flavopicta*, *Deois incompleta*, *Deois schach*, *Aeneolamia selecta*), broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) e gafanhotos (*Rhammatocerus schistocercoides*) (ALVES et al., 2010; BRASIL, 2013).

Segundo Faria & Wright (2007) e Alves & Lopes (2008) os produtos a base de *M. anisopliae* representavam 32% do mercado de micoinseticidas na América Latina em 2007/2008. No entanto, ao serem considerados além dos produtos disponíveis, os

produtos que estão em processo de registro, esses representavam 55% do mercado no ano de 2009 (MICHEREFF FILHO et al., 2009).

Este crescimento provém principalmente de agricultores orgânicos ou agroecológicos que têm optado por práticas alternativas, como o uso de defensivos agrícolas naturais (DAN) no controle de pragas. Dos quais, incluem-se os produtos a base de microrganismos, especialmente bactérias e fungos, caldas minerais, extratos vegetais, óleos essenciais e produtos homeopáticos.

Dentre os produtos tidos como alternativos, os homeopáticos são de recente uso na agricultura. No Brasil, os primeiros relatos foram descritos por Brunini & Arenales (1993) que utilizarão *Staphysagria* em hortaliças e em plantas ornamentais, resultando em aumento de resistência das plantas a pulgões, além de melhora nas condições gerais das plantas. Em ascensão ano após ano, diversos estudos demonstram o potencial energético dos homeopáticos para controle e repelência de insetos (ALMEIDA et al., 2003), controle de fitopatógenos (*Phakopsora euvitis* Ono e *Alternaria solani*) (BONATO et al, 2006; TOLEDO, 2009; MODOLON, 2010), indução de resistência, aumento da produção de metabólitos secundários e produtividade (CASTRO et al., 2002; DUARTE, 2007; LUIS & MORENO, 2007).

De uso comum nas propriedades com enfoque ecológico, os DAN são considerados seguros e saudáveis para a produção agrícola, além de seletivos aos inimigos naturais (ALVES et al., 1998a). Para Alves & Lopes (2008), a conservação dos microrganismos presentes no solo é de grande importância, visto serem componentes de um sistema sustentável de controle das pragas e, no caso de associações positivas dos agentes biológicos com produtos fitossanitários sintéticos (PFS) ou DAN e outras técnicas de controle, pode-se obter maior produtividade e alimentos mais saudáveis.

Pelas particularidades de caráter prático, econômico e sustentável, os DAN vêm recebendo atenção especial das pesquisas, que visam avaliar a eficiência dos produtos, seu modo de ação, resíduos e compatibilidade com agentes de controle biológico (FERREIRA et al., 2001).

Quanto à compatibilidade, sabe-se que os PFS podem afetar parâmetros biológicos de fungos entomopatogênicos, sendo muitos deles considerados tóxicos (TAMAI et al., 2002). Estudos demonstram que alguns DAN também podem agir da mesma forma. O óleo de nim (produto NIM-I-GO) afetou a produção de conídios e o crescimento vegetativo de *M. anisopliae* (MARQUES et al., 2004). Os produtos

comerciais Dalneem[®], Ecolife[®] e Stubble-Aid[®] testados em diferentes concentrações, afetaram negativamente os parâmetros biológicos desse fungo, sendo o primeiro produto considerado moderadamente tóxico (FORMENTINI et al., 2009).

Recentemente, Mamprim et al. (2013) observaram que a Calda Sulfocálcica afetou todos os parâmetros biológicos de *M. anisopliae*, classificada como moderadamente tóxica. Extratos vegetais aquosos e alcoólicos de plantas inseticidas revelaram-se compatíveis ao desenvolvimento do fungo.

Os microrganismos entomopatogênicos podem ser considerados no agroecossistema sob dois aspectos, de ocorrência natural ou como componente de produto microbiano (bioinseticida) e desta forma, justificam-se os estudos que visam conhecer a interação entre esses e os DAN (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

Em relação à ação das homeopatas sobre microrganismos, os poucos trabalhos existentes buscam o controle de fitopatógenos, sendo verificada inibição na germinação de esporos do fungo *Fusarium roseum* (KHANNA & CHANDRA, 1976), diminuição do crescimento micelial e da esporulação de *Alternaria solani* submetidos aos tratamentos homeopáticos (TOLEDO, 2009; MODOLON, 2010).

Os indícios desses estudos iniciais da ação dos homeopáticos sobre fungos fitopatogênicos alertam para possibilidade de interações também com fungos entomopatogênicos, demonstrando a necessidade de avaliar medicamentos homeopáticos sobre esses agentes biológicos.

Deste modo, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de medicamentos homeopáticos recomendados para diversos fins agrícolas, sobre o fungo *M. anisopliae*.

Material e Métodos

Produção de conídios de *Metarhizium anisopliae*. Utilizou-se o fungo *Metarhizium anisopliae* (isolado UNIOESTE 22), obtido da Coleção de Fungos Entomopatogênicos da Unioeste, multiplicado em meio de cultura para produção de conídios ME (extrato de levedura 5 g, mistura de sais 4,6 g, glicose 10 g, ágar 20 g e água 1000 mL), incubados a 26°C e 12h de fotofase, para crescimento e conidiogênese durante 8 dias. Os conídios foram coletados raspando-se a superfície do meio de cultura, transferidos para tubos estéreis de vidro, armazenado a -10°C por período não superior a 10 dias, até a realização dos experimentos (ALVES et al., 1998b).

Obtenção e aplicação dos medicamentos homeopáticos. A seleção dos medicamentos homeopáticos a serem utilizados na agricultura, mais especificamente em vegetais, baseia-se principalmente em analogias com as matérias médicas comumente utilizadas na escolha das homeopantias para humanos ou em resultados de trabalhos científicos. A escolha dos tratamentos de *Arsenicum album* 24CH; *Calcarea carbonica* 30CH; *Kali iodatum* 100CH; *Phosphorus* 3CH; *Silicea* 30CH; *Staphysagria* 6, 30 e 100CH; *Spodoptera frugiperda* 30CH; *Sulphur* 100 e 200CH e *Thuya occidentalis* 200CH foi baseada nos relatos dos efeitos destes medicamentos sobre diversas espécies vegetais, insetos e microrganismos (Tabela 1).

Os medicamentos homeopáticos e suas dinamizações correspondentes foram obtidas de laboratório farmacêutico homeopático idôneo, cujas preparações seguiram o preconizado pela Farmacopéia Homeopática Brasileira (BRASIL, 1997).

Assim, 0,2 mL de cada um dos medicamentos homeopáticos foram adicionados separadamente em 19,8 mL (diluição 1/100) de álcool 70% e sucussionados 100 vezes em dinamizador braço mecânico (Modelo Denise 50-Autic), para se obter a quarta dinamização homeopática (4CH). Em diluições sucessivas foram obtidas as dinamizações subsequentes de cada medicamento, as quais foram armazenadas para uso posterior.

Cada tratamento foi preparado adicionando-se em um tubo de vidro estéril 20 µL do medicamento homeopático em 19,980 mL de água destilada e esterilizada (solução a 0,1% de concentração homeopático/água), sendo esses tratamentos em seguida pulverizados sobre o fungo, de acordo com cada parâmetro biológico.

Procedimentos gerais para avaliação *in vitro*. Utilizaram-se tubos de vidro estéreis contendo o fungo previamente produzido, nos quais foram adicionados 10 mL de água destilada esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). Esta suspensão foi agitada, quantificada em câmara de Neubauer e padronizada na concentração de 1×10^9 conídios mL⁻¹ e posteriores diluições, adequadas aos parâmetros avaliados.

Foram avaliados *in vitro* os seguintes parâmetros biológicos; germinação dos conídios, crescimento vegetativo, produção de conídios e atividade inseticida, de acordo com Alves et al. (1998b); Silva & Neves (2005) e Oliveira (2009).

Germinação dos conídios: O meio BDA (batata 200g, dextrose 20g, estreptomicina 0,05g, ágar 15g e 1000 mL de água destilada estéril) foi vertido em placa do tipo Rodac e após solidificação do meio BDA foram inoculados em sua superfície 150 µL da

suspensão fúngica (1×10^6 conídios/mL), espalhada com a movimentação circular da placa de forma manual. Em seguida, 150 μ L dos tratamentos foram aplicados com um micropulverizador acoplado a um compressor de ar (pressão constante de 0,84 kgf/cm² de saída). A testemunha água recebeu a pulverização de 150 μ L de água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). Para cada tratamento foram preparadas cinco placas, sendo cada uma correspondente a uma repetição.

Após a inoculação, as placas foram incubadas por 18h a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase e então, contou-se o número de conídios germinados e não germinados em microscópio óptico (400 \times de aumento).

Unidades Formadoras de Colônia (UFC): Foram inoculados e distribuídos 100 μ L da suspensão do fungo (1×10^3 conídios/mL) sobre a superfície do meio de cultura BDA em placa de Petri. Em seguida, 100 μ L dos tratamentos foram pulverizados sobre o fungo inoculado. As placas testemunha contendo o fungo receberam 100 μ L de água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). As placas foram incubadas durante três dias a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase, com posterior quantificação das colônias formadas. Para todos os tratamentos foram preparadas cinco placas, sendo cada uma delas considerada uma repetição.

Crescimento vegetativo: O fungo foi inoculado na superfície do meio de cultura em placa de Petri, com auxílio de alça de platina em três pontos. As placas foram incubadas a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12h de fotofase por 2 dias. Após esse período, foram pulverizados 250 μ L de tratamento/placa. A testemunha foi constituída de água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). As placas foram novamente incubadas nas mesmas condições, por mais cinco dias. O crescimento vegetativo foi determinado com base em duas medições perpendiculares das colônias, visando-se obter o seu diâmetro médio.

Produção de conídios: Após a verificação do crescimento vegetativo, as colônias foram recortadas e transferidas individualmente para tubos de vidro estéreis, aos quais se adicionaram 10 mL de água destilada esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%). Após agitação, por aproximadamente 2 minutos, fez-se a quantificação dos conídios em câmara de Neubauer e microscópio óptico. Para cada tratamento foram avaliadas 10 colônias, sendo duas de cada repetição.

Efeito de diferentes soluções hidroalcoólicas sobre os parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae*. Considerando que os produtos homeopáticos são constituídos por soluções alcoólicas, foi realizado um experimento com o objetivo de verificar o efeito deste solvente sobre parâmetros biológicos do fungo.

Foram adotados os procedimentos gerais para avaliação *in vitro*, descritos anteriormente, tendo-se como tratamentos a pulverização de soluções hidroalcoólicas nas concentrações variando de 0,5 a 2,5% de álcool de cereais/água destilada e esterilizada. Os valores percentuais foram escolhidos com base na recomendação de que para preparo da “calda” aplicada em campo, não devem ser aplicadas soluções alcoólicas acima de 1%, visto a possibilidade de toxicidade para as plantas e agentes biológicos (BONATO et al., 2012). Na testemunha, aplicou-se água destilada e esterilizada. Para cada tratamento e também para a testemunha foram preparadas cinco repetições.

Efeito de diferentes produtos homeopáticos sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae*. Foram adotados os mesmos procedimentos experimentais descritos no tópico procedimentos gerais para avaliação *in vitro*, tendo-se como tratamentos os produtos homeopáticos na concentração de 0,1% (Tabela 1). Foi também utilizada uma solução hidroalcoólica 0,1% não dinamizada e uma testemunha, na qual se aplicou água destilada e esterilizada + Tween[®] 80 (0,01%).

Além dos parâmetros citados, avaliou-se o efeito dos produtos homeopáticos sobre a atividade inseticida de *M. anisopliae*, conforme segue.

Avaliação sobre a atividade inseticida. O fungo foi inoculado em meio de cultura para esporulação (ME) e cerca de uma hora depois foram pulverizados os produtos na proporção de 250 µL sobre o fungo. Nas placas da testemunha, sobre o fungo inoculado foi aplicado 250 µL de água destilada e esterilizada. As placas foram incubadas por 8 dias a 26±1°C e 12h de fotofase. Os conídios foram coletados raspando-se a superfície do meio e transferidos para tubos de vidro estéreis, preparando-se em seguida, suspensões na concentração de 1×10⁹ conídios/mL com os conídios obtidos de cada um dos tratamentos. Esta concentração foi avaliada previamente para se obter aproximadamente 80% de mortalidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae).

Utilizaram-se nos bioensaios lagartas de 3^o ínstar de *D. saccharalis*, alimentadas com dieta artificial (PARRA, 1999) provenientes da criação do laboratório.

Os insetos foram dispostos em placas de Petri e receberam 2 mL dos tratamentos utilizando-se torre de Potter (regulada à pressão de 15 lb/pol²). Após 1 minuto, as lagartas foram transferidas para placas de Petri contendo dieta artificial, e foram incubados por 10 dias a 26±1°C e 12h de fotofase. Diariamente, era feita a substituição

do alimento e avaliação de mortalidade, sendo os insetos mortos retirados, imersos em álcool 70% durante 15 segundos, seguida de imersão em água destilada esterilizada por igual tempo, e mantidos em câmara úmida para confirmação da mortalidade pelo fungo, observando-se sinais e sintomas de infecção pelo fungo (ALVES, 1998). Para cada tratamento e também para a testemunha foram utilizadas 60 lagartas divididas em repetições de 15 lagartas.

Análises dos dados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados submetidos ao teste de normalidade (Shapiro Wilk) e análise de variância (teste F). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, ambos a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2011).

A compatibilidade entre os tratamentos e o fungo foi baseada no cálculo de toxicidade proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008):

$$IB = \frac{47[CV] + 43[ESP] + 10[GER]}{100}, \text{ em que:}$$

IB= Índice Biológico; CV= porcentagem do crescimento vegetativo da colônia após 7 dias, em relação à testemunha; ESP= porcentagem da esporulação das colônias após 7 dias, em relação à testemunha; GER= porcentagem de germinação dos conídios após 16 h, visto que os valores de CV, ESP e GER devem ser previamente corrigidos em relação às respectivas testemunhas. Os valores do IB (p=0,05) para a classificação dos produtos foram: Tóxico 0-41; Moderadamente Tóxico 42-66 e Compatível > 66.

Resultados e Discussão

Ação de soluções hidroalcoólicas sobre *Metarhizium anisopliae*

As diferentes soluções hidroalcoólicas, de modo geral, não afetaram os parâmetros biológicos de *M. anisopliae* (Tabela 2). Verificou-se que a viabilidade dos conídios nas distintas concentrações, apresentou-se significativamente igual à testemunha água destilada, com valores percentuais (média de 98%) até superiores a mesma. Diante o aumento da graduação alcoólica, as UFC e o crescimento vegetativo não foram afetados. No entanto, para a produção de conídios às soluções hidroalcoólicas a 2,0% e 2,5% diferiram-se estatisticamente da testemunha água destilada.

Em estudo com o fungo fitopatogênico *Alternaria solani*, verificou-se que soluções hidroalcoólicas (na concentração de 0,0015% de álcool) dinamizadas podem

apresentar ação sobre parâmetros biológicos do fungo, diferenciando-se da testemunha água destilada (TOLEDO, 2009).

As constatações de Toledo (2009) reafirmam o potencial energético dos medicamentos homeopáticos, advindo do processo de dinamização, visto que a concentração alcoólica utilizada pela autora nos ensaios foi muito baixa. Talvez os resultados contrários ao presente trabalho se devam, provavelmente às diferentes espécie dos fungos utilizados em ambos estudos.

Ressalta-se, que mesmo as soluções hidroalcoólicas com o dobro de álcool presente nas soluções homeopáticas, não apresentaram ação negativa sobre parâmetros biológicos de *M. anisopliae*. Descartando-se a possibilidade de o álcool presente nas soluções homeopáticas interferir nos parâmetros biológicos de *M. anisopliae*.

Ação das soluções homeopáticas sobre *M. anisopliae*

Os tratamentos homeopáticos apresentaram diferentes efeitos sobre *M. anisopliae*, sendo alguns parâmetros afetados negativamente, no entanto, a maior parte das alterações significativas foi positiva (Tabela 3).

A viabilidade dos conídios em todos os tratamentos apresentou-se acima de 93%, significativamente iguais a testemunha (94%). Da mesma forma, Toledo (2009) verificou que os homeopáticos *Sulphur*, *Silicea terra*, *Staphysagria*, *Phosphorus* e *Kali iodatum* não inibiram a germinação do fungo *A. solani*. Possivelmente, nas dinamizações em que os medicamentos foram avaliados, esses não apresentam atividade supressora para a germinação de esporos, justificando a ausência de efeito dos tratamentos sobre a germinação.

Outros DAN já foram analisados quanto ao seu efeito sobre a germinação de conídios de *M. anisopliae*. Nesse sentido, o produto comercial NIM-I-GO (óleo de nim) aplicado em várias concentrações não afetou a capacidade de germinação de *M. anisopliae* (MARQUES et al., 2004). Os extratos vegetais de alecrim, eucalipto, capim-limão e cúrcuma e os produtos comerciais Dalneem[®], Ecolife[®], Stubble-Aid[®] também não afetaram esse parâmetro (FORMENTINI et al., 2009). Todavia, os produtos Planta Clean[®], Agro-mos[®], Biogermex[®], Bion[®], Pironim[®]; óleo de citronela; caldas Bordalesa e Sulfocálcica e extratos vegetais causaram inibição da viabilidade de *M. anisopliae* (MAMPRIM et al., 2013). Os diferentes resultados podem ser explicados devido à constituição química de cada DAN, de forma que algumas dessas substâncias podem

apresentar atividade antifúngica, como a calda Sulfocálcica, composta de cal hidratada e o sulfato de cobre.

Na fase de germinação, os PFS ou DAN têm maiores possibilidades de intervir no desenvolvimento de fungos entomopatogênicos, pois ao serem pulverizados, os produtos entram em contato direto com os esporos que ainda não penetraram no tegumento do inseto nesse momento (SILVA et al., 2005).

A alta viabilidade constatada no presente trabalho, diante os tratamentos homeopáticos, mostra que esses não afetaram a integridade dos conídios e conseqüentemente também a sua capacidade de germinação, que é um dos fatores mais relevantes para infecção no inseto, onde, a partir da adesão do conídio e germinação no tegumento, inicia-se a doença (ALVES et al., 1998a).

Quanto às UFC os medicamentos homeopáticos não inibiram sua formação, ocorrendo aumento significativo de UFC provocada pelos tratamentos, *Arsenicum album* 24CH, *Calcarea carbonica* 30CH, *Phosphorus* 3CH, *Staphysagria* 6CH, *Spodoptera frugiperda* 30CH, *Sulphur* 100CH e *Thuya occidentalis* 200CH, quando comparados a testemunha água destilada (Tabela 3).

Esse acréscimo nas UFC é uma tendência já observada por outros autores em análises de DAN (produtos comerciais, extratos vegetais aquosos e alcoólicos) e parâmetros biológicos de *M. anisopliae* (FORMENTINI et al., 2009; MAMPRIM et al., 2013). Resultados justificados, pela degradação e aproveitamento de substâncias presentes na composição do DAN, que podem ser utilizadas como nutrientes pelo fungo (FORMENTINI et al., 2009).

Em contrapartida, nas dinamizações em que os medicamentos homeopáticos foram utilizados nos ensaios (com exceção do medicamento *Phosphorus* 03CH) a probabilidade de se ter matéria da substância original em solução é remota, pois a partir da décima segunda diluição (1/100) ultrapassa-se o número de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$) restando apenas a informação da substância original (DAVENAS et al., 1988).

Assim, segundo os princípios da homeopatia a ação medicamentosa de um homeopático, se dá em decorrência do estímulo da informação presente no medicamento dinamizado. De forma que na ausência de matéria descarta-se a possibilidade da presença de ingredientes ativos nos homeopáticos que pudessem ter favorecido o aumento de UFC de *M. anisopliae* no presente trabalho, ainda que se desconheça o mecanismo de ação dos homeopáticos sobre o organismo a nível celular (BONATO et al., 2012).

Ainda, a presença informacional de *S. frugiperda* no preparado homeopático pode ter sido, com base nos princípios da homeopatia, um fator de estímulo ao crescimento do fungo, tal como discutido anteriormente para *B. bassiana*. Sendo que o aumento de UFC, possivelmente está relacionado com interações informacionais que o preparado *S. frugiperda* pode promover no fungo, já que a campo *M. anisopliae* pode ser patógeno natural de lagartas como *S. frugiperda* (CARNEIRO et al., 2008).

Ressalta-se que os poucos trabalhos que verificam a ação de homeopáticos sobre fungos fitopatogênicos, não habitam analisar o parâmetro UFC (TOLEDO, 2009; MODOLON, 2010), dificultando a comparação com essa classe de produtos.

Estatisticamente os homeopáticos testados também não afetaram negativamente o crescimento vegetativo, bem como, a produção de conídios. Para o primeiro parâmetro todos os tratamentos apresentaram-se semelhantes à testemunha. Já para a produção de conídios, as homeopantias *Arsenicum album* 24CH, *Calcarea carbonica* 30CH, *Phosphorus* 3CH, *Staphysagria* 100CH e *Sulphur* 100 e 200CH promoveram aumento significativo quando comparado a testemunha água (Tabela 3).

De forma contrária, os homeopáticos *Sulphur*, *Silicea terra*, *Staphysagria*, *Phosphorus* e *Kali iodatum* quando incorporados no meio de cultura BDA, reduziram o crescimento vegetativo de *A. solani*. Sendo que os tratamentos *Sulphur* e *Staphysagria* 100CH apresentaram inibição 16,97 e 12,87% respectivamente (TOLEDO, 2009). Do mesmo modo, *Arsenicum album* e *Staphysagria* nas dinamizações 6, 12, 25, 30, 50, 60, 80 e 100CH promoveram redução no crescimento vegetativo de *A. solani*, quando aplicados sobre o fungo inoculado no meio de cultura BDA (MODOLON, 2010).

No campo, em parreirais com alta infestação de ferrugem (*Phakopsora euvitis* Ono), soluções homeopáticas de *Silicea* 30CH reduziram mais de 90% o grau de severidade do fungo, comparado ao tratamento controle com 100% de infestação (BONATO et al., 2006).

A ocorrência de interações negativas em fungos fitopatogênicos relatadas nos trabalhos anteriores, sendo alguns dos medicamentos homeopáticos e dinamizações os mesmos utilizados no presente trabalho, onde não se constatou efeito sobre o crescimento vegetativo e produção de conídios de *M. anisopliae*, deve-se ao fato, de as homeopantias não apresentarem uma abrangência geral, ou seja, em fungos diferentes podem provocar resultados distintos.

De acordo com Formentini et al. (2009), DAN comerciais e extratos vegetais já citados anteriormente pela autora, causaram redução do crescimento vegetativo de *M.*

anisopliae. Dalneem[®] e Stubble-Aid[®] promoveram redução de 40 e 28,20% respectivamente. Do mesmo modo, em análise da esporulação de conídios, esses produtos inibiram a produção de conídios em até 92,6 e 66,7% diferindo-se da testemunha água destilada. A autora justifica que a inibição da conidiogênese do fungo foi ocasionada pela presença de *Azadirachta indica* no produto Dalneem[®], cujo princípio ativo tem ação antimicrobiana.

Todavia, Planta Clean[®], Agro-mos[®], Agro-fos[®], Biogermex[®], Bion[®], Forth, Pironim[®]; óleo de citronela; caldas, Bordalesa e Sulfocálcica não afetaram negativamente o crescimento vegetativo nem a esporulação de *M. anisopliae*. Sendo constatado ainda, que o Agro-mos[®] (CR e 2 CR), Agro-fos (2 CR), Biogermex[®] (CR) e Bion[®] (0,5 CR e CR), diferiram da testemunha, estimulando a produção de conídios (MAMPRIM et al., 2013).

Quanto a toxicidade, de acordo com o índice biológico proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008), todos os tratamentos homeopáticos apresentaram-se compatíveis ao fungo *M. anisopliae*, com valores de toxicidade acima de 80 (valores de T maiores que 66 = compatível).

Outros estudos demonstram que os extratos vegetais de alecrim, eucalipto, capim-limão e cúrcuma apresentam-se compatíveis (valores de T maiores que 87) ao fungo *M. anisopliae* (FORMENTINI et al. 2009). Esses extratos e ainda, canela, louro, citronela, nim, mamona e arruda, também mostram-se compatíveis ao fungo, segundo Mamprim et al. (2013).

Contudo, não havendo interação negativa dos homeopáticos testados no presente trabalho sobre nenhum dos parâmetros biológicos de *M. anisopliae*, o uso conjunto pode ser considerado promissor.

Ação dos tratamentos homeopáticos na atividade inseticida de *Metarhizium anisopliae* sobre *Diatraea saccharalis*

A mortalidade de *D. saccharalis* pelo fungo não foi afetada pela presença dos medicamentos homeopáticos no meio de cultura ao serem comparados ao tratamento contendo o fungo produzido no meio de cultura puro (sem aplicação de produtos). A mortalidade confirmada apresentou-se entre 78 a 98% (Tabela 4).

A ausência de efeito dos tratamentos homeopáticos sobre a atividade inseticida de *M. anisopliae* possivelmente tenha ocorrido por esses medicamentos não deixarem

resíduos no meio, não afetando o fungo, já que são compostos essencialmente de informação da matéria prima original (BONATO et al., 2012).

Na literatura, os estudos com DAN e fungos entomopatogênicos, têm sido focados para o efeito dos produtos sobre o patógeno (fungo), analisando-se a compatibilidade entre ambos, porém, a maioria desses trabalhos não explora o efeito dos DAN sobre a atividade inseticida do fungo (FORMENTINI et al., 2009). Isso dificulta o real conhecimento acerca das interações que esses agentes e produtos podem promover no inseto, visto que nos dias de hoje, em diversas culturas agrícolas, produtos com diferentes finalidades, estão sendo aplicados conjuntamente, como uma forma de diminuir custos e mão de obra.

Nesse sentido, a não interferência dos tratamentos homeopáticos sobre a patogenicidade de *M. anisopliae* é muito positiva para a conservação da atividade inseticida do fungo, principalmente se da mesma forma no campo, o potencial do patógeno for conservado ao entrar em contato com esses produtos.

Conclusões

Conclui-se que em condições de laboratório, os produtos homeopáticos apresentam-se compatíveis ao fungo *M. anisopliae*, assim como, não interferem na ação do fungo sobre *D. saccharalis*. Contudo, sugerem-se futuros estudos em campo para real comprovação e possível indicação de aplicação conjunta (fungos e homeopáticos), alternativa que economicamente pode ser mais viável e sem prejuízos ao patógeno.

Agradecimentos

A CAPES e CNPQ pela concessão de bolsas e financiamento de parte da pesquisa.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, A.A. et al. Tratamentos homeopáticos e densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1979) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de milho no campo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.2, n.2, p.1-8, 2003.

ALVES, L.F.A. et al., **Recomendações para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas**. Piracicaba: CP 2, 2010. 52p.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**, Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap.11, p.289-381.

ALVES, S.B. et al. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**, Piracicaba: FEALQ, 1998a. Cap.8, p.217-238.

ALVES, S.B. et al. Técnicas de Laboratório. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos** Piracicaba: FEALQ, 1998b. Cap.20, p.637-710.

ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: Avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 414p.

ANDRADE, F.M.C. **Homeopatia no crescimento e produção de cumarina em chambá *Justicia pectoralis* Jacq.** Viçosa, 2000. 124p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

BONATO, C.M. et al. Controle da ferrugem (*Phakopsora euwitii* Ono) em videira pela aplicação de soluções homeopáticas. In: ENCONTRO DA CULTURA HOMEOPÁTICA, 16., Simpósio do GIRI, XX., 2006, São Paulo, SP. **Resumos...** São Paulo: GIRI 2006. p.52.

BONATO, C.M. et al. **Homeopatia simples: alternativas para a agricultura familiar**. Marechal Cândido Rondon: Gráfica Líder, 2012. 36p.

BRASIL. **Farmacopéia Homeopática Brasileira**. São Paulo: Atheneu, 1997. 118p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Consulta de produtos formulados/** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: MAPA, 2013. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 20 jun. 2013.

BRUNINI, C.; ARENALES, M.C. *Staphysagria*. In: BRUNINI, C.; SAMPAIO, C. **Matéria médica homeopática**. São Paulo: Mythus, 1993. p. 165-180.

CARNEIRO, A.A. et al. Molecular characterization and pathogenicity of isolates of *Beauveria* spp. to fall armyworm. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.513-520, 2008.

CASALI, V.W.D. et al. **Acológia de Altas Diluições**. Viçosa: Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, 2009. 537p.

CASTRO, D.M. **Preparações homeopáticas em plantas de cenoura, beterraba, campim-limão e chambá**. Viçosa, 2002. 240p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

DAVENAS, E. et al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE. **Nature**, Reino Unido, 1988; 333: 816.

DUARTE, E.S.M. **Crescimento e teor de óleo essencial em plantas de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* tratadas com homeopatia**. Viçosa, 2007. 188p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

FARIA, M.R.; WRIGHT, S.P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, Orlando, v. 43, p. 237–256, 2007.

FERREIRA, D.F. SISVAR: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FORMENTINI, M.A. et al. Efeito *in vitro* de produtos fitossanitários alternativos sobre *Metarhizium anisopliae*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Camaragibe, v.4, n.2, p.126-129, 2009.

LEITE, L.G. et al. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2003. 92p.

LUIS, S.J.; MORENO, N.M. **Efecto de cinco medicamentos homeopáticos em la producción de peso fresco, en cebollín (*Allium fistulosum*)**. (S/D). Disponível em:<http://www.comenius.edu.mx/Cinco_medicamentos_homeop_ticos_en_Ceboll_n.pdf>. Acesso em: 20 dez 2012.

MAMPRIM, A.P. et al. Efeito de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.35, n.1. 2013.

MARQUES, R.P. et al. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1675-1680, 2004.

MICHEREFF FILHO, M. et al. Micoínseticidas e micoacaricidas no Brasil: Como estamos após quatro décadas?. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.769-779, 2009.

MODOLON, T.A. **Preparados em altas diluições para o manejo fitossanitário e pós colheita do tomateiro**. Lages, 2010. 79p. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina.

OLIVEIRA, D.G.P. **Proposta de um protocolo para avaliação da viabilidade de conídios de fungos entomopatogênicos e determinação da proteção ao calor conferida a *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* pela formulação em óleo emulsionável**. Piracicaba, 2009. 90p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programa de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 1999. 137p.

ROLIM, P.R.R. et al. Controle de ácaro vermelho do tomateiro por preparações homeopáticas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza, 2005a. 1 CD- Rom.

ROLIM, P.R.R. et al. Preparados homeopáticos no controle da pinta preta do tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45., 2005, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza, 2005b. 1 CD- Rom.

ROSSI-ZALAF, L.S. et al Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças, In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.279-302.

RUPP, L.C.D. et al. High dilution of *Staphysagria* and fruit fly biotherapies preparations to manage South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus*, in organic peach orchards. **Biological Agriculture & Horticulture**, London, v.28, n.1, p.41- 48, 2012.

SILVA, R.Z.; NEVES, P.M.O.J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill and in vitro phytosanitary products. **Pest Management Science**, USA, v.61, p.667-674, 2005.

SILVA, R.Z. et al. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.3, p.305-312, 2005.

SINHA, K.K. SINGH, P. Homeopathic drugs inhibitors of growth and aflotoxina production by *Aspergillus parasiticus*. **Indian Phytopathology**, India, v.36, p.356-357. 1983.

TOLEDO, M.V. **Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) por medicamento homeopáticos**. Marechal Cândido Rondon, 2009. 95p. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Oeste do Paraná.

TAMAI, M.A. et al. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, Campinas, v.69, n.3, p.89-96, 2002.

Anexos

Tabela 1 - Medicamentos homeopáticos utilizados, dinamizações, modo de ação e indicação.

| Homeopáticos | Dinamização | Modo de ação/ Indicação | Referências |
|------------------------------|---------------|--|---|
| <i>Arsenicum album</i> | 24 CH | Produção de metabólicos secundários; controle de fitopatógenos; desintoxicação do solo e plantas | Casali et al., 2009; Bonato et al., 2012 |
| <i>Calcarea carbonica</i> | 30 CH | Crescimento vegetativo em plantas; solo com deficiência de cálcio | Luis; Moreno, S/D; Bonato et al., 2012 |
| <i>Kali iodatum</i> | 100 CH | Controle de fitopatógenos; desenvolvimento de plantas | Toledo, 2009; Casali et al., 2009; Bonato et al., 2012 |
| <i>Phosphorus</i> | 3 CH | Produção de metabólicos secundários (óleo essencial); controle de fitopatógenos | Duarte, 2007; Casali et al., 2009; Andrade, 2000 |
| <i>Silicea</i> | 30 CH | Controle de fitopatógenos e pragas; desenvolvimento vegetal | Bonato et al., 2006; Casali et al., 2009; Bonato et al., 2012 |
| <i>Staphysagria</i> | 6; 30 e 100CH | Controle de insetos, ácaros e doenças fitopatogênicas | Rupp et al., 2012; Rolim et al., 2005b |
| <i>Spodoptera frugiperda</i> | 30 CH | Controle de insetos | Almeida et al., 2003; Bonato et al., 2012 |
| <i>Sulphur</i> | 100 e 200CH | Controle de fitopatógenos e pragas | Sinha; Singh (1983); Bonato et al., 2007; Casali et al., 2009 |
| <i>Thuya occidentalis</i> | 200 CH | Controle de fitopatógenos, insetos e ácaros | Casali et al., 2009; Rolim et al., 2005a; Bonato et al., 2012 |

Tabela 2- Viabilidade de conídios, Unidades Formadoras de Colônias (UFC), crescimento vegetativo e produção de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22), submetidos a diferentes graduações alcoólicas ($26\pm 1^\circ\text{C}$ e 12 h de fotofase).

| Tratamentos | Viabilidade (%) | UFC | Crescimento Vegetativo (cm^2) | Produção conídios ($\times 10^6 / \text{mL}$) |
|--------------------------|-------------------|-------------------|--|---|
| Testemunha água | $97,8 \pm 1,29$ a | $35,5 \pm 4,15$ a | $2,0 \pm 0,23$ a | $17,2 \pm 1,64$ b |
| Sol. hidroalcoólica 0,5% | $98,9 \pm 0,80$ a | $29,8 \pm 2,42$ a | $2,8 \pm 0,30$ a | $13,9 \pm 2,13$ b |
| Sol. hidroalcoólica 1,0% | $98,1 \pm 0,41$ a | $29,8 \pm 3,53$ a | $2,8 \pm 0,22$ a | $13,0 \pm 2,53$ b |
| Sol. hidroalcoólica 1,5% | $97,9 \pm 0,42$ a | $29,5 \pm 2,30$ a | $3,2 \pm 0,05$ a | $16,7 \pm 2,13$ b |
| Sol. hidroalcoólica 2,0% | $98,7 \pm 0,74$ a | $28,6 \pm 3,96$ a | $3,6 \pm 0,36$ a | $19,7 \pm 2,56$ a |
| Sol. hidroalcoólica 2,5% | $98,4 \pm 0,96$ a | $26,8 \pm 3,99$ a | $3,5 \pm 0,05$ a | $22,3 \pm 3,02$ a |
| C.V. (%) | 1,08 | 16,32 | 6,57 | 18,43 |
| Fator F | 0,70 | 1,71 | 1,46 | 2,96 |

Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra na coluna, para cada produto testado, não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 3 - Viabilidade dos conídios, Unidades Formadoras de Colônia (UFC), Crescimento vegetativo, produção de conídios, valores de “T” e compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* (Unioeste 22) submetido a diferentes produtos homeopáticos (26±1°C e 12 h de fotofase).

| Homeopáticos | Viabilidade (%) | UFC | Crescimento vegetativo (cm ²) | Produção de conídios (× 10 ⁶ / mL) | Valor de T / C |
|------------------------------|-----------------|---------------|---|---|----------------|
| Testemunha água | 94,7 ± 0,77 a | 39,0 ± 2,61 b | 3,1 ± 0,07 a | 31,7 ± 2,13 b | - |
| Sol. Hid. (0,1%) | 94,8 ± 0,94 a | 39,6 ± 3,77 b | 3,1 ± 0,13 a | 37,0 ± 4,32 a | - |
| <i>A. album</i> CH24 | 94,0 ± 1,53 a | 52,6 ± 2,78 a | 3,0 ± 0,20 a | 41,7 ± 5,76 a | 111,11/ C |
| <i>C. carbonica</i> CH30 | 95,4 ± 0,27 a | 50,8 ± 2,95 a | 2,4 ± 0,13 a | 45,2 ± 6,84 a | 107,72/ C |
| <i>Kali iodatum</i> CH100 | 93,4 ± 1,10 a | 44,2 ± 3,35 b | 3,1 ± 0,06 a | 27,2 ± 1,22 b | 93,37/ C |
| <i>Phosphorus</i> CH3 | 94,3 ± 1,26 a | 54,0 ± 2,34 a | 3,0 ± 0,11 a | 37,5 ± 4,48 a | 106,60/ C |
| <i>Silicea</i> CH30 | 94,2 ± 0,74 a | 41,4 ± 3,77 b | 2,4 ± 0,11 a | 25,3 ± 2,51 b | 80,53/ C |
| <i>Staphysagria</i> CH6 | 94,9 ± 1,62 a | 55,4 ± 7,06 a | 2,3 ± 0,24 a | 29,1 ± 2,22 b | 84,62/ C |
| <i>Staphysagria</i> CH30 | 93,8 ± 1,26 a | 42,2 ± 5,02 b | 3,0 ± 0,12 a | 28,7 ± 6,17 b | 93,66/ C |
| <i>Staphysagria</i> CH100 | 93,2 ± 1,10 a | 43,6 ± 7,64 b | 3,1 ± 0,10 a | 36,5 ± 6,36 a | 105,97/ C |
| <i>S. frugiperda</i> CH30 | 93,4 ± 1,04 a | 61,0 ± 3,80 a | 3,0 ± 0,36 a | 26,3 ± 2,39 b | 90,57/ C |
| <i>Sulphur</i> CH100 | 93,8 ± 1,27 a | 51,6 ± 2,90 a | 3,0 ± 0,30 a | 38,1 ± 4,21 a | 106,59/ C |
| <i>Sulphur</i> CH200 | 93,8 ± 1,59 a | 35,6 ± 4,99 b | 3,1 ± 0,10 a | 35,2 ± 1,82 a | 104,58/ C |
| <i>T. occidentalis</i> CH200 | 94,7 ± 0,87 a | 50,8 ± 4,25 a | 3,0 ± 0,16 a | 25,6 ± 3,94 b | 90,16 / C |
| C.V. (%) | 2,13 | 16,04 | 5,20 | 22,33 | - |
| Fator F. | 0,82 | 4,80 | 1,04 | 3,71 | - |

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo Teste Scott-Knott a 5% de significância.

Valores de T, segundo Rossi-Zalaf et al. (2008) entre 0 e 41 = tóxico (T); entre 42 e 66 = Moderadamente tóxico (MT); maiores que 66 = compatível (C).

Tabela 4. Mortalidade confirmada (\pm EPM) de lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidas ao fungo *Beauveria bassiana* (Unioeste 04), multiplicado em meio ME + produtos homeopáticos ($26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 h de fotofase).

| Tratamento | Mortalidade confirmada (%) |
|--|-----------------------------------|
| Testemunha água | 00,0 \pm 0,00 b |
| Solução hidroalcoólica (0,1%) | 00,0 \pm 0,00 b |
| <i>M. anisopliae</i> | 91,6 \pm 7,28 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Arsenicum album</i> 24CH | 96,6 \pm 3,84 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Calcarea carbonica</i> 30CH | 96,6 \pm 2,22 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Kali iodatum</i> 100CH | 94,7 \pm 3,92 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Phosphorus</i> 03CH | 91,6 \pm 4,84 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Silicea</i> 30CH | 86,6 \pm 3,14 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Staphysagria</i> 06CH | 78,3 \pm 8,53 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Staphysagria</i> 30CH | 95,0 \pm 3,68 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Staphysagria</i> 100CH | 90,0 \pm 6,66 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Spodoptera frugiperda</i> 30CH | 96,5 \pm 2,30 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Sulphur</i> 100CH | 88,3 \pm 6,57 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Sulphur</i> 200CH | 90,0 \pm 2,22 a |
| <i>M. anisopliae</i> + <i>Thuya occidentalis</i> 200CH | 98,3 \pm 1,92 a |
| C.V. (%) | 13,30 |

Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra na coluna, para cada natureza, não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott a 5% de significância.

ANEXOS

Anexo 1

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BRASILEIRA DE AGROECOLOGIA (ISSN: 1980-9735)

Para submeter ARTIGOS INÉDITOS COMPLETOS PARA A REVISTA: AVISO: A Revista Brasileira de Agroecologia, como qualquer periódico científico, não tolera qualquer forma de plágio (total, parcial ou conceitual). No caso de identificação de plágio, os autores plagiados serão informados e os autores do plágio serão bloqueados.

São permitidos no máximo 4 (quatro) co-autores. Para um maior número de co-autores, será preciso encaminhar ao editor-chefe uma justificativa. A submissão só será encaminhada para avaliação depois que os co-autores enviarem email de que concordam com a submissão.

Os autores devem cadastrar-se no site (<http://www.abagroecologia.org.br/ojs2/index.php/rbagroecologia/user/register>) e submeter a contribuição (em inglês, português ou espanhol), eletronicamente, através do endereço: <http://www.abagroecologia.org.br/ojs2/index.php/rbagroecologia/about/submissions#onlineSubmissions>.

Na contribuição submetida deverão constar:

- **Título em português ou espanhol**, com apenas a primeira letra capsulada (caixa alta);

- **Título em inglês**, com apenas a primeira letra capsulada (caixa alta); obrigatório para todos os textos;

- **Resumo em português ou espanhol** (até 1.000 caracteres);

- **Resumo em inglês (até 1.000 caracteres)**; - obrigatório para todos os textos;

- **Palavras-chave em português ou espanhol:** três, no mínimo;

- **Palavras-chave em inglês:** três, no mínimo;

- **Texto:** sem qualquer identificação de autoria, seja no cabeçalho, seja no corpo do texto, para avaliação pelos consultores. O nome do autor deve ser removido das propriedades do documento (acessíveis em "Propriedades do documento", opção do menu "Arquivo" do MS Word e OpenOffice.org 1.0 Writer).

A identificação da autoria dar-se-á através do cadastro, etapa anterior e necessária para a submissão. O autor deverá, portanto, preenchê-lo de maneira cuidadosa, respeitando os campos de preenchimento de titulação e afiliação institucional (a que instituição pertence). Outras informações poderão ser submetidas no campo de preenchimento chamado Comentários ao Editor, no momento da submissão da contribuição.

O texto deve ser escrito contendo de 8 a 25 laudas, aproximadamente (16.800 caracteres a 50.000 caracteres), em espaçamento entre-linhas de 1,5. Serão aceitos textos nos idiomas português, espanhol, ou inglês;

Os textos deverão ser submetidos em formato: Microsoft Word 97/2000/XP (.doc), OpenOffice.org; TextDocument (.sxw ou .odt) ou em Rich Text Format (.rtf), com tamanho do papel A4, 2,5 cm de margens superior e inferior, e 3,0 cm de margens direita e esquerda, e em fonte Times New Roman 12;

- **Tabelas e figuras:** (em formato JPEG) devem constar ao final do artigo, após a Bibliografia, uma por página. Em cada artigo só serão aceitas até quatro (4) figuras ou tabelas. Acima disso os autores devem encaminhar ao editor solicitação especial justificando a necessidade de mais tabelas ou figuras. Não se deve exceder o limite máximo de 700 kb por imagem. As tabelas e figuras devem ser encaminhadas também como arquivos suplementares. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. Limitar as referências bibliográficas a 30 por artigo.

- **Citações no texto:** Citações no texto deverão ser feitas com os sobrenomes dos autores em caixa alta, quando entre parêntesis, ou em caixa baixa quando fora de parêntesis, conforme exemplos a seguir: ...A Agroecologia surgiu como campo científico na primeira metade do século XX (DALGAARD et al., 2003);ou...Segundo Dalgaard et al. (2003), a Agroecologia surgiu como campo científico na primeira metade do século XX. Havendo duas ou mais obras citadas do mesmo autor e ano, indicar após a data a letra "a" para a primeira e a letra "b" para a segunda, e assim por diante. Ex.: Altieri (1983a). Altieri (1983b).

Sendo feita transcrição de parte de texto publicado, colocar texto reproduzido entre aspas no caso de reprodução de menos de cinco linhas, ou recuar e colocar texto em itálico, entre aspas e citar autores e página do texto quando com mais de cinco linhas.

Citação de citação: colocar o nome do autor original, a data respectiva entre parênteses, e ainda entre parênteses a palavra apud e o nome do autor efetivamente consultado com a data respectiva. Ex.: Adorno (1979, apud MAAR, 1996).

- **Notas** (se houver): Serão arroladas ao final do texto, numeradas e em seqüência.

Ética e biossegurança: Antes das referências deverá também ser descrito, quando apropriado, que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que em estudos realizados com animais foram atendidas normas de bioética.

- **Referências bibliográficas:**

Indicar somente as que constam do texto, conforme normas técnicas da Abnt 2002 – (NBR 6023/2000). Como exemplos:

JENNINGS, P.B. The practice of large animal surgery. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Três autores) Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros. Manaus: INPA, 1979. 95p.

GORBAMAN, A.A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. The thyroid. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

BORSOI FILHO, J.L. Variabilidade isoenzimática e divergência genética de seis cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Viçosa, 1995.

AUDE, M.I.S. et al. (Mais de 2 autores) Época de plantio e seus efeitos na produtividade e teor de sólidos solúveis no caldo de cana-de-açúcar. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.22, n.2, p.131-137, 1992.

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. Anais... Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

BORSOI FILHO, J.L. Variabilidade isoenzimática e divergência genética de seis cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Viçosa, 1995. 52p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa.

ROGIK, F.A. Indústria da lactose. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

Informação verbal: identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

Documentos eletrônicos: MATERA, J.M. Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico. São Paulo: Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

LeBLANC, K.A. New development in hernia surgery. Capturado em 22 mar. 2000. Online. Disponível na Internet <http://www.medscape.com/Medscape/surgery/TreatmentUpdate/1999/tu01/public/toc-tu01.html>.

LACEY, HUGH. As sementes e o conhecimento que elas incorporam. São Paulo *Perspec.* [online]. July/Sept. 2000, vol.14, no.3 [cited 01 May 2006], p.53-59. Available from World Wide Web: ISSN 0102-8839.

Diretrizes para submissão (Todos os itens obrigatórios).

A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista ou submetida como artigo completo de congressos.

La contribución es original y inédita, y no está siendo evaluada para su publicación por otra revista.

Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word (.doc), Rich Text Format (.RTF) ou OpenOffice.org 1.0 Text Document (.sxw ou .odt) Los archivos de presentación están en formato Microsoft Word (.doc), Rich Text Format (.RTF) ou OpenOffice.org 1.0 Text Document (.sxw ou .odt).

Todos os endereços "URL" no texto estão ativos.

Todos los enderesos están activos all site addresses are active.

As submissões estão de acordo com todas as regras estabelecidas nas diretrizes aos autores.

- Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista ou submetida como artigo completo de congressos. La contribución es original y inédita, y no está siendo evaluada para su publicación por otra revista

2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word (.doc), Rich Text Format (.RTF) ou OpenOffice.org 1.0 Text Document (.sxw ou .odt) Los archivos de presentación están en formato Microsoft Word (.doc), Rich Text Format (.RTF) ou OpenOffice.org 1.0 Text Document (.sxw ou .odt)

3. Todos os endereços "URL" no texto estão ativos. Todos los enderesos están activos All site addresses are active

4. As submissões estão de acordo com todas as regras estabelecidas nas diretrizes aos autores.

- Declaração de direito autoral

Aviso de Copyright.

Direitos Autorais para artigos publicados nesta revista são do autor, com direitos de primeira publicação para a revista. Em virtude de aparecerem nesta revista de acesso

público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

- Política de privacidade

Os nomes e endereços de email neste site serão usados exclusivamente para os propósitos da revista, não estando disponíveis para outros fins.