

INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO SOLAR NA VIABILIDADE
DE CONÍDIOS DE *Metarhizium anisopliae* (Metsch) SOROKIN.

Gentil Sanches Corrêa ¹
João Lúcio de Azevedo ¹

INTRODUÇÃO

O uso indistriminado de substâncias químicas na agricultura, entre as quais os pesticidas, ocasiona uma série de problemas incluindo o aparecimento de formas resistentes aos agrotóxicos usados. Por outro lado, já se tem constatado a ação tóxica dos inseticidas sobre animais e o próprio homem. Sabe-se também que a utilização desses inseticidas químicos provoca desequilíbrios ecológicos por proporcionar a mortalidade de outros insetos considerados naturais de pragas.

Um dos processos alternativos do controle de pragas da agricultura é o microbiológico. Um dos exemplos desse controle em nosso país é o da cigarrinha da cana-de-açúcar e das pastagens pelo uso do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. Este fungo vem sendo utilizado eficientemente em grande escala, principalmente nos Estados de Alagoas e Pernambuco, para controlar insetos da ordem Homoptera, família Cercopidae, entre os quais *Mahanarva posticata*. Ele vem sendo também empregado no controle de cigarrinha das pastagens, especialmente dos gêneros *Deois* e *Zulia*.

Para esse tipo de controle, conídios do fungo são produzidos e aplicados no campo. A viabilidade dos conídios de *M. anisopliae* é, entretanto, muito influenciada por certos fatores como a temperatura, tempo de permanência no solo e ação da luz solar em solos que contêm conídios do fungo.

¹ Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP,

CHAVES & col. (1971) observaram que o fungo *M. anisopliae* tem seu potencial de sobrevivência no solo, na forma de conídios, por um período de 90 dias. AQUINO (1974) observou que os conídios de *M. anisopliae*, semeados no solo, apresentavam maior índice de mortalidade quando recebiam luz direta do sol em relação aos conídios que não a recebiam. LOCKWOOD (1961) verificou que os esporos individuais do fungo no solo interagem com outros microrganismos no estímulo ou inibição de crescimento. MÜLLER-KÜGLER (1967) mostrou que a radiação solar, possivelmente o espectro ultravioleta, é letal para os esporos, podendo ser talvez um dos fatores responsáveis, pelo fracasso de possíveis tentativas de controle microbiológico.

Este estudo foi conduzido no sentido de se verificar a viabilidade de conídios do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* durante a radiação solar na superfície de dois tipos de solos. Verificou-se a porcentagem de mortalidade de conídios em solo recebendo luz direta do sol e solos em condições de sombra, em distintos intervalos de tempo após a adição de conídios.

MATERIAL E MÉTODOS

Duas linhagens designadas de E₆ e E₉ de *Metarhizium anisopliae* foram utilizadas. Ambas foram isoladas do hospedeiro *Deois flavopicta* em Vitória, Espírito Santo, gentilmente cedidas pelo Sr. Manuel Ayres Ventura (EMCAPA, ES). Os solos ensaiados neste trabalho eram de dois tipos: um arenoso, pertencente à Série Ibitiruna, e outro argiloso, pertencente à Série Pau D'Alho. Ambas as amostras de solo foram cedidas pelo Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo. Foram preparadas suspensões de conídios em Tween 80 (0,1 V/V) obtidos de colônias incubadas oito dias em placa de Petri com Meio Completo (MC), descrito por PONTECORVO & col. (1953) e modificado por AZEVEDO e COSTA (1973), substituído por NaNO₃ 6g, KH₂PO₄ 1,5g, KCl 0,5g, MgSO₄ . 7H₂O 0,5g, FeSO₄ e ZnSO₄ 0,01g, glicose 10g, peptona 2g, caseína hidrolizada 1,5g, extrato de leveduras 0,5g, solu-

leveduras 2,5 ml, água destilada 1000ml e pH ajustado para 6,8 com NaOH 4%. O número de conídios na suspensão foi estimado em câmara de Neubauer para dar cerca de 10⁶ conídios/ml, 1 ml da solução de "Tween", com os conídios já devidamente contados, foram diluídos em 7 ml de solução salina, volume este necessário para deixar adequadamente úmida a quantidade de solo ensaiada. Amostras com 20g de solo foram ensaiadas e estas foram colocadas em placas de Petri e esterilizadas por 20 minutos a 121°C. Com uma pipeta de 10 ml foram devidamente distribuídas as suspensões de conídios uniformemente por toda superfície do solo nas placas de Petri.

Para cada tipo de solo foram preparadas 10 placas. Uma delas serviu de controle, não sendo colocada sob ação da luz solar direta. As demais foram colocadas em lugar adequado para que pudessem receber a radiação solar nos intervalos de 7 horas às 17 horas. As placas ficaram nestas condições durante 45 dias, sendo que o isolamento do fungo foi realizado após exposição por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 30 e 45 dias. Foram feitas três repetições para cada linhagem. O isolamento dos conídios do solo foi feito pelo método de MARTIN (1950). Conídios foram semeados em diluições apropriadas em placas com MC. A contagem de colônias foi feita após 7 dias de incubação a 28°C. No caso de solos não submetidos à luz solar, foi feita a contagem de conídios viáveis apenas 45 dias após sua adição aos solos.

A análise estatística foi desenvolvida no microcomputador CP-500 do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Foi feita uma análise de próbite para se analisar o tempo letal médio da viabilidade dos conídios segundo SOKAL (1958), tendo sido determinada a equação da reta, e o valor do TL₅₀ para cada linhagem em cada tipo de solo.

Compararam-se também através de uma análise de variância em parcelas subdivididas como variaram as porcentagens de germinação e os números de conídios para cada tipo de solo e para as duas linhagens, no tempo, segundo o modelo seguinte. Fez-se também a análise de regressão para essas linhagens, considerando o tempo como variável independente.

Causa da Variação	G.L.
Fungos (Fu)	1
Resíduo (a)	4
Parcelas	5
Tempo (TE)	9
Interação Fu x TE	9
Resíduo (b)	36
Total	59

Os dados da porcentagem de germinação foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$ e os números de conídios em $\sqrt{x+constante}$.

As comparações de dias para tempo foram feitas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos dados apresentados nos quadros I, II, III e IV, verifica-se que a radiação solar tem influência na viabilidade de germinação de conídios semeados na superfície do solo. Isto está de acordo com os dados de AQUINO (1974), que obteve resultados semelhantes, observando-se que os conídios do fungo *M. anisopliae*, semeados no solo, apresentam maior índice de mortalidade quando recebem luz direta do sol em relação aos conídios que não a recebiam. No presente trabalho, também a viabilidade dos conídios que ficaram sem receber radiação solar foi bem maior em relação aos conídios que receberam radiação solar direta. Isto indica que a viabilidade de conídios, quando semeados no solo, tende a diminuir mais rapidamente quando a luz do sol atinge diretamente o solo. Os dados obtidos em ambos os solos, com respectivas linhagens, mostram que sob a luz direta do sol decresceu a viabilidade proporcionalmente ao tempo de exposição. Em condições de sombra, o decréscimo na viabilidade também

ADRO I - Efeito da radiação solar na germinação de conídios de *M. anisopliae*, linha gem E6 na superfície do solo Ibitiruna.

Tipo de s	1ª repetição			2ª repetição			3ª repetição			% média
	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação		
0	2,47	100,00	3,01	100,00	2,96	100,00	2,96	100,00	100,00	
1	2,20	89,06	2,81	93,35	2,71	91,55	2,71	91,55	91,32	
2	1,85	74,89	2,63	87,37	2,40	81,08	2,40	81,08	81,11	
3	1,55	62,75	2,01	66,77	2,01	67,90	2,01	67,90	65,60	
4	0,87	35,22	1,71	56,81	1,86	62,83	1,86	62,83	51,62	
5	0,77	31,17	1,70	56,47	1,65	55,74	1,65	55,74	47,79	
6	0,97	39,67	0,69	22,92	1,61	54,39	1,61	54,39	38,99	
7	0,09	36,43	0,70	56,47	1,64	55,40	1,64	55,40	49,43	
8	0,49	19,83	0,55	18,27	0,90	30,40	0,90	30,40	22,83	
9	0,34	13,76	0,41	13,62	0,30	10,13	0,30	10,13	12,50	

Obs.: A porcentagem de sobrevivência para a linhagem E6, após 45 dias em condições de sombra, foi de 65,20% no solo da Série Ibitiruna.

ADRO II - Efeito da radiação solar na germinação de conídios de *M. anisopliae*, na linhagem Eg, na superfície do solo Ibitiruna.

Linha	1ª repetição		2ª repetição		3ª repetição		Média %
	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi- nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi- nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi- nação	
0	2,56	100,00	2,91	100,00	3,36	100,00	100,00
1	2,20	85,93	2,70	92,78	2,09	62,20	80,30
2	1,90	74,21	2,65	91,06	2,65	78,86	81,37
3	1,54	60,15	1,73	59,45	2,02	60,11	59,90
4	1,01	39,45	1,72	59,10	1,71	50,89	59,10
5	0,91	35,54	0,69	58,07	1,72	51,19	48,26
6	0,81	31,64	0,65	22,33	1,70	50,59	34,85
7	0,90	35,15	0,62	21,30	1,51	44,94	33,79
8	0,43	16,79	0,51	17,52	0,49	14,58	16,29
9	0,31	12,10	0,29	9,96	0,40	11,90	11,32

Obs.: A sobrevivência da linhagem Eg no solo da Série Ibitiruna após 45 dias em condições de sombra foi de 62,03%.

QUADRO III - Efeito da radiação solar na germinação de conídios de *M. anisopliae*, linhagem E₆, na superfície do solo Pau D'Alho.

Tempo dias	1ª repetição		2ª repetição		3ª repetição		% média
	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	
0	3,01	100,00	2,21	100,00	3,34	100,00	100,00
1	2,79	92,69	2,01	90,95	2,89	86,52	90,05
2	2,75	91,36	1,93	87,33	2,69	80,53	86,40
3	1,99	66,11	1,90	85,97	2,63	78,74	76,94
4	1,70	56,47	1,02	46,15	1,71	51,19	51,27
5	1,69	63,12	0,91	41,17	1,70	50,89	51,73
6	1,71	56,81	0,85	38,46	1,20	35,09	43,73
7	1,01	33,35	0,80	36,19	1,02	30,53	33,42
30	0,78	25,91	0,39	17,64	0,71	21,25	21,76
45	0,39	12,95	0,19	8,59	0,41	12,27	11,27

Obs.: A sobrevivência da linhagem E₆ no solo da Série Pau D'Alho, após 45 dias em condições de sombra, foi de 50,8%.

ADRO IV - Efeito da radiação solar na germinação de conídios de *M. anisopliae*, linhagem Eg, na superfície do solo Pau D'Alho.

Tempo dias	1ª repetição			2ª repetição			3ª repetição			% média
	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação	Nº de conídios (x 10 ⁴)	% de germi nação		
0	2,98	100,00	3,12	100,00	2,37	100,00	2,37	100,00	100,00	
1	2,72	91,27	2,91	93,26	2,10	88,60	2,10	88,60	91,04	
2	2,69	90,26	2,69	86,21	1,91	80,59	1,91	80,59	85,68	
3	2,64	88,59	2,65	84,93	1,80	75,94	1,80	75,94	83,15	
4	2,01	67,44	2,00	64,10	1,76	71,72	1,76	71,72	67,75	
5	1,72	57,71	1,91	61,21	1,36	57,38	1,36	57,38	68,76	
6	1,37	45,97	1,89	60,57	1,71	72,15	1,71	72,15	59,36	
7	1,39	46,64	1,35	43,26	1,29	54,27	1,29	54,27	48,05	
8	0,68	22,81	0,81	25,96	0,71	29,95	0,71	29,95	26,24	
9	0,29	9,73	0,41	13,14	0,31	13,08	0,31	13,08	11,94	

...: A sobrevivência da linhagem Eg no solo da Série Pau D'Alho, após 45 dias em condições de sombra, foi de 52,37%.

rêm de maneira mais lenta. Não se notou diferença na viabilidade das duas linhagens (E₆ e E₉) de *M. anisopliae* utilizadas, ambas se comportando de maneira igual uma em relação a outra nos dois tipos de solos.

A análise de próbite desenvolvida para as duas linhagens nos dois tipos de solos levou ao resultado do quadro V. Verifica-se pelos dados que a linhagem E₉, quando ensaiada no solo da série Ibitiruna, proporcionou menor número de dias em relação ao LT₅₀. No entanto observa-se que quando consideramos a média de LT₅₀ para ambos os fungos em ambos os solos a diferença não é significativa.

O resultado de comparação entre as duas linhagens nos diferentes tipos de solo quanto à porcentagem de germinação e número de conídios, mostrou significância para as linhagens dos fungos apenas quando a porcentagem de germinação no solo Pau D'Alho, cuja média transformada foi para E₆ igual a 50,7, e para E₉, igual a 54,8.

CONCLUSÕES

Para as condições em que foi realizado este trabalho e com base nos resultados alcançados, pode-se concluir que:

a) Quanto à viabilidade dos conídios, não há diferença entre os tipos de solo para as duas linhagens ensaiadas.

b) A linhagem E₉ apresentou maior viabilidade de germinação no solo da série Pau D'Alho que no solo Ibitiruna.

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo verificar a influência da radiação solar sobre a viabilidade e a germinação de conídios do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. Foram ensaiados dois tipos de solo, um arenoso, da série Ibitiruna, e outro argiloso, da Sé-

QUADRO V - Relação entre a equação da reta, LT_{50} , em dias, e o intervalo de confiança ao nível de 5% de probabilidade.

	Solo Ibit.	Solo Pau D'alho	Solo Ibit.	Solo Pau D'alho
Equação da reta	$y=4,07+1,36\text{Log}x$	$y=3,74+1,42\text{Log}x$	$y=3,93+1,37\text{Log}x$	$y=3,80+1,53\text{Log}x$
T_{50}	4,8	7,6	5,9	6,1
Intervalo de confiança	3,6-6,2	4,4-13,0	4,5-7,8	4,4-8,3

E₆ e E₉, ambas coletadas de insetos parasitados. Para o isolamento dos fungos no solo foi utilizado o método da diluição em placas. Verificou-se que os conídios, sob radiação direta do sol na superfície do solo, apresentaram maior porcentagem de mortalidade; verificou-se também que o solo que apresenta textura arenosa, maior quantidade de macroporos e superfície rugosa, era equivalente em manter a viabilidade dos conídios em relação ao de textura argilosa, com maior porcentagem de microporos e superfície mais lisa.

SUMMARY

INFLUENCE OF SOLAR RADIATION ON THE VIABILITY OF CONIDIA OF *Metarhizium anisopliae* (Metsch) SOROKIN.

The present work was carried out aiming to study the influence of solar radiation, on conidia viability and germination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Two types of soil were used: a sandy soil from Ibitiruna Series, and a clay one from Pau D'Alho Series, and two strains of the fungus, E₆ and E₉, both collected from infected insects. For the isolation of the fungus from the soil was used the plating dilution method. It was observed that the conidia under the direct solar radiation on soil surface showed a higher mortality; it was also verified that soils showing sandy texture, large amount of macrospores and a rough surface, were equivalent in keeping the viability of conidia when compared to soils with a great percentage of micropores and smooth surface.

LITERATURA CITADA

- AQUINO, M.L.N., 1974. O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin, no Estado de Pernambuco. *Boletim Técnico do Instituto de Pesquisas Agronômicas* 72: 1-26.
- AZEVEDO, J.L. & S.O.P. COSTA, 1973. *Exercícios Práticos de Genética*, ed. USP, 288p.
- CHAVES, G.M., D.P. OLIVEIRA & G.E. LOURES, 1981. Estudo

- pliae* (Metsch.) Sorokin em diferentes tipos de solos. *Revista Theobroma* 11: 233-239.
- LOCKWOOD, J.L. & B.T. LINGAPRA, 1961. The nature of the widespread soil fungistasis. *Journal of General Microbiology* 26: 473-485.
- MARTIN, J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science* 69: 215-232
- MÜLLER-KÜGLER, E.A., 1967. Nebenwirkungen insekten - pathogener Pilze auf Mensch und wilbeltier: actuelle Fragen. *Entomophaga* 12: 429-441.
- PONTECORVO, G., J.A. ROPER, L.M. HEMMONS, K.D. MacDONALD & A.W.J. BUFTON, 1953. The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in Genetics* 5: 141-238.
- SOKAL, R., 1958. Probit analysis on a digital computer. *Journal of Economic Entomology* 5: 738-739.