

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

PRODUÇÃO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOR. EM QUIRELA DE ARROZEliane D. Quintela¹

ABSTRACT

Production of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. on Course Rice Grain

The methodology for production of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. on course rice grain and on whole rice grain is reported. Production of conidia on course grain was significantly greater than on whole grain. The substitution of the whole grain to produce *Metarhizium* by course grain, reduced four times the cost of production and increased in 30% the production of *M. anisopliae* conidia.

KEY WORDS: Insecta, entomopathogenic fungi, conidia, semi-solid media.

O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor. tem sido indicado para controle de insetos pragas em várias culturas no Brasil. Como exemplo, cita-se o programa de controle da cigarrinha da folha da cana-de-açúcar, *Mahanarva posticata* (Stal) com *M. anisopliae*, o qual é produzido e aplicado no Estado de Pernambuco desde 1969 (Vilas Boas 1988). Em pastagens, o *M. anisopliae* tem alcançado níveis de 40% de controle sobre a cigarrinha *Deois flavopicta* Stal (Alves *et al.* 1989). Neste mesmo habitat, outra praga importante, *Cornitermes cumulans* (Kollar) tem sido controlado através da aplicação de apenas duas gramas por cupinzeiro (Fernandes 1991). Em condições de lavoura comercial de arroz irrigado, *M. anisopliae* tem reduzido significativamente a população do percevejo do colmo *Tibraca limbativentris* Stal (Martins *et al.* 1991).

Em caupi, pulverizações de *M. anisopliae* na superfície do solo tem evidenciado controle de aproximadamente 50% de larvas do manhoso, *Chalcodermus bimaculatus* Boheman, no Nordeste do Brasil (Quintela & Roberts 1990, 1992). Larvas de *Elasmopalpus lignoselus* (Zeller) e *Cerotoma arcuata* Olivier tem se mostrado susceptíveis a *M. anisopliae* quando aplicado no solo (Quintela *et al.* 1991). Esse fungo é produzido nos laboratórios do Planalsucar (Marques *et al.* 1981, Vilas Boas 1988) e na BIOTEC - Controle biológico e Assessoria Técnica Ltda (Mendonça & Rocha 1989) em Pernambuco e Alagoas, respectivamente, tendo como

Recebido em 19/10/93. Aceito em 29/09/94.

¹ EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Caixa postal 179, 74001-970, Goiânia, GO.

substrato o arroz. O laboratório de patologia de insetos do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF) substituiu o arroz por quirela de arroz para produção deste fungo. No presente trabalho descreve-se a metodologia utilizada no CNPAF para produção de *M. anisopliae* em quirela de arroz comparando à produção em arroz.

A produção de *M. anisopliae* efetuada no laboratório de patologia de insetos do CNPAF inicialmente seguiu a mesma metodologia desenvolvida pelo Planalsucar em Carpina, PE, que é descrita por Marques *et al.* (1981) e Vilas Boas (1988). O fungo é produzido no Planalsucar basicamente utilizando o arroz agulhinha ou parbolizado como meio de cultura. No CNPAF substituiu-se o arroz por quirela de arroz. Algumas modificações foram também efetuadas na relação água: arroz e a forma de distribuição da quirela nas sacolas e nas prateleiras na sala de germinação e crescimento. A produção inicia-se a partir de uma cultura pura de *M. anisopliae* que não tenha sido repicada por mais de três vezes em meio de cultura artificial. Após três repicagens, o fungo deve ser passado pelo inseto hospedeiro e posterior reisolamento, para readquirir o vigor e virulência iniciais. A passagem do fungo por um inseto hospedeiro após repicagens resulta num maior crescimento e melhor esporulação do fungo. A cultura inicial de *M. anisopliae* é produzida em placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo meio de batata com 2% de dextrose, 0,4% de extrato de levedura e agar por um período de aproximadamente 15 dias a temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. A partir desta cultura são produzidas as matrizes que vão ser utilizadas na fase de produção em grande escala. As matrizes são produzidas adicionando-se 100 gramas de quirela e 60 ml de uma solução a 1% de ácido cítrico em água destilada, em recipiente de 1 litro. Os recipientes são autoclavados a 120°C durante 15 minutos para esterilização e cozimento do arroz. No dia seguinte, a quirela é inoculada com 10 ml de suspensão fúngica da cultura inicial de aproximadamente 10^7 esporos/ml com uma seringa e incubada durante um período de mais ou menos 15 dias a temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. Nesta etapa é importante observar a ocorrência de contaminantes nas matrizes a fim de diminuir a possibilidade de contaminação durante a produção. Para produção em grande escala são utilizadas sacolas de polipropileno de $25 \times 40 \times 0,01$ cm (autoclaváveis). Em cada sacola são adicionadas 200 g de quirela e 80 ml de água destilada com ácido cítrico a 1%. A quantidade da solução a ser adicionada vai depender do tipo de quirela, é importante não haver um acúmulo de água no fundo da sacola. As sacolas são levadas a autoclave e esterilizadas a 120°C por 15 minutos. A matriz é diluída em quatro litros de água esterilizada contendo o espalhante adesivo extravon^{MR} 0,01%, a fim de homogeneizar a suspensão. A esta suspensão adicionam-se também 4 cápsulas de antibiótico quemicetina. Uma matriz produz inóculo suficiente para 200 sacolas, pois 20 ml da suspensão são adicionados por sacola, com uma seringa veterinária. Na sala de germinação e crescimento a quirela é fragmentada e agitada manualmente para uma completa distribuição da suspensão. As sacolas são distribuídas horizontalmente nas prateleiras das estantes espalhando-se toda a quirela nas sacolas para haver uma maior área de aproveitamento do substrato e assim obter o máximo de esporulação do fungo. As sacolas são incubadas por aproximadamente 20 dias a temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. Após este período, ou quando o substrato está totalmente colonizado, as sacolas são armazenadas em câmara fria.

Para comparação da produção de *Metarhizium* em diferentes substratos, foram utilizadas cinco sacolas de polipropileno de 25×40 cm contendo quirela pequena, (8,2, 77,2 e 14,2% dos grãos com 2,0, 1,2 e 0,6 mm, respectivamente) quirela média (36 e 64% dos grãos com 2,0 e 1,2 mm, respectivamente) e arroz agulhinha tipo 1 e conídios do fungo, produzido de acordo com a metodologia descrita anteriormente. As sacolas foram abertas e deixadas para secar ao ar durante três dias na sala de produção de fungos do laboratório de patologia de insetos do CNPAF com temperatura regulada para $26 \pm 1^\circ\text{C}$. De cada sacola foram retiradas três amostras de 5g de fungo mais substrato e cada amostra diluída em 60 ml de água destilada

Tabela 1. Número e quantidade de conídios e aumento da produção de *Metarhizium anisopliae* produzido em quirela pequena, média e arroz agulhinha tipo 1.

Substrato ¹	Número de conídios (5g de subst. x 10 ⁸) ²	Quantidade de conídios (g) em 5g de substrato ³	Quantidade de conídios (g) em 200g de substrato ³	Aumento da produção (%)	Preço do saco 60 kg em dólares americ.
Quirela pequena	264,8 a	0,53	21,2	34,0	7,6
Quirela média	254,1 a	0,51	20,4	31,4	7,6
Arroz agulhinha	173,2 b	0,35	14,0	-	30,4

¹ Quirela pequena com 8,2, 77,2 e 14,2% dos grãos com 2,0, 1,2 e 0,6 mm, respectivamente. Quirela média com 36 e 64% dos grãos com 2,0 e 1,2 mm, respectivamente.

² Média de quatro contagens em câmara de Neubauer de três amostras de 5g de fungo mais substrato por sacola de polipropileno de 25 x 40 cm contendo 200g de substrato. Cinco sacolas ou repetições por tratamento. Médias seguidas da mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5%.

³ Valores calculados considerando que em 1g de conídios tem 5×10^{10} esporos.

mais tween 80 0,01% e homogeneizadas durante 30 minutos em agitador magnético. Em seguida foram efetuadas quatro contagens em câmara de Neubauer para cada amostra, expressando os resultados em conídios/ml. Para cada tratamento foram utilizadas cinco sacolas distribuídas aleatoriamente nas prateleiras em desenho experimental inteiramente casualizado. Análise de variância e teste de Tukey foram realizadas para comparação das médias dos tratamentos. Os resultados da contagem de conídios na câmara de Neubauer mostraram que houve maior produção nos substratos quirela pequena e média e foram estatisticamente superiores em produção de conídios ao tratamento arroz agulhinha (Tabela 1). A quantidade média de conídios por sacola foi de 21,2, 20,4 e 14,0 gramas para os tratamentos quirela pequena, quirela média e arroz agulhinha, respectivamente. A substituição do arroz agulhinha ou parbolizado significou uma redução no custo de produção de quatro vezes devido ao menor preço da quirela de arroz e aumentou significativamente a quantidade de conídios produzido. A produção de conídios aumentou em 34,0 e 31,4% para quirela pequena e média, respectivamente em relação a produção em arroz.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Dra. Artemisia M. Vilas Boas pelas importantes sugestões na produção do fungo *Metarhizium anisopliae*, e a Lúcio F. Barbosa e Edilamar E. de Souza pela valiosa ajuda na condução do experimento.

LITERATURA CITADA

Alves, R.T., S.M. Folle & A.C. Gomes. 1989. Equipamento para aplicação de fungo no

controle de cigarrinha das pastagens (Homoptera: Cercopidae), p.229. In Resumo Congresso Brasileiro de Entomologia, 12, Belo Horizonte, 263p.

- Fernandes, P.M. 1991.** Controle microbiano de *Cornitermes cumulans* (Kollar 1832) (Isoptera: Termitidae) utilizando *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin. Tese de doutorado. ESALQ/USP, Piracicaba, 114p.
- Marques, E.J., A.M. Vilas Boas & C.E.F. Pereira. 1981.** Orientações técnicas para produção do fungo entomógeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch) em laboratórios setoriais, ESALQ. Bol. Téc., 3, 23p.
- Martins, J.F.da S., M.G.A. de Lima & E.D. Quintela. 1991.** Controle do percevejo do colmo com fungos entomopatogênicos, p.194-195. In Anais Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 19, Camboriú, 350p.
- Mendonça, A.F. & I.C.B. Rocha. 1989.** Inovações tecnológicas na produção do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch). Sorok. utilizando sacos plásticos, p.216. In Resumos Congresso Brasileiro de Entomologia, 12, Belo Horizonte, 263p.
- Quintela, E.D. & D.W. Roberts. 1990.** Controle de *Chalcodermus bimaculatus* (Coleoptera: Curculionidae) no solo com fungos entomopatogênicos, p.67-68. In Resumos Simpósio de Controle Biológico, 2, Brasília, 168p.
- Quintela, E.D. & D.W. Roberts. 1992.** Controle de *Chalcodermus bimaculatus* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) no solo com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Pesq. Agropec. Bras. 27: 95-105.
- Quintela, E.D., B.P. das Neves, M.A.W. Quinderé & D.W. Roberts. 1991.** Principais pragas do caupi no Brasil. Goiânia. EMBRAPA-CNPAP, Documentos, 35, 38p.
- Vilas Boas, A.M. 1988.** Produção e atuação do bioinseticida *Metarhizium anisopliae* sobre a cigarrinha da cana-de-açúcar *Mahanarva posticata* em Pernambuco. EMBRAPA-CNPAP, Goiânia, 17p.
-