

JOSÉ CLÉRIO REZENDE PEREIRA

T
029/82

**Sobrevivência da *Metarhizium anisopliae*
(Metsch) Sorokin Incorporado no Solo.**

1982

Sobrevivencia do ...
1982 TS-PP-1990.00035



1990.00035

CPAA-3097-1

VIÇOSA - MINAS GERAIS

1982

JOSÉ CLÉRIO REZENDE PEREIRA

SOBREVIVÊNCIA DO Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin
INCORPORADO NO SOLO

Tese Apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como Parte das
Exigências do Curso de Pós-Gradua-
ção em Fitopatologia, para Obtenção
do Grau de "Magister Scientiae".

EMBRAPA/DID	
Valor Análises Cr\$	_____
N.º N.º de Análises	_____
Form. cont.	_____
N.º Ordem Compra	_____
Origem	_____
N.º de Tombo	_____

EMBRAPA/DID	
Valor Análises Cr\$	_____
N.º N.º de Análises	_____
Form. cont.	_____
N.º Ordem Compra	_____
Origem	Doação
N.º de Tombo	35/90

VIÇOSA - MINAS GERAIS

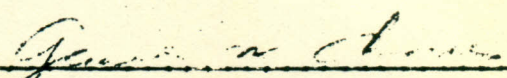
1982

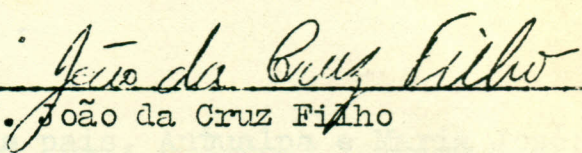
SOBREVIVÊNCIA DO Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin
INCORPORADO NO SOLO

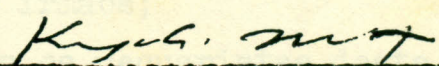
por

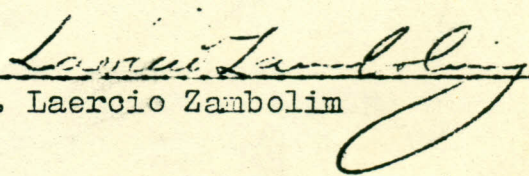
JOSÉ CLÉRIO REZENDE PEREIRA

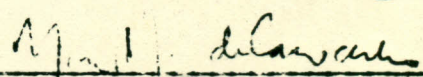
APROVADA:


Prof. Geraldo Martins Chaves
(Orientador)


Prof. João da Cruz Filho


Prof. Kiyoshi Iatsuoka


Prof. Laercio Zambolim


Prof. Murilo Geraldo de Carvalho

AGRADECIMENTOS

Ao professor Geraldo Martins Barros, pelo apoio e orientação durante todo o curso e amizade desinteressada.

Aos professores Leônio Bambolina, Cirilo de la Cruz, Lino e Lincoln Matruks, pelas sugestões e orientações.

Aos professores do Colégio Técnico de São Paulo, pela colaboração e orientação durante a preparação deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Fomento e ao Conselho Nacional de Fomento da Agricultura de Minas Gerais, pela realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Fomento, pelo apoio financeiro.

Ao amigo Geraldo Vieira Rocha, pela amizade e colaboração.

A minha mãe, Maria Inês, e meu pai, Antualpa e Maria José;
A meus irmãos;

Aos colegas de curso, especialmente ao Sr. João Vilas, pela amizade e colaboração.

Aos funcionários do Departamento de Fomento, pela amizade e colaboração.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Geraldo Martins Chaves, pelo apoio e segura orientação durante todo o curso e execução deste trabalho.

Aos professores Laercio Zambolim, Murilo G. de Carvalho e Kiyoshi Matsuka, pelas sugestões apresentadas.

Aos professores João da Cruz Filho e Onkar D.Dhingra, pela colaboração recebida durante a execução deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao convênio EPAMIG-DDSV-Secretaria da Agricultura de Minas Gerais, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa, pela ajuda financeira.

Ao amigo Geraldo Vieira Rocha, pela amizade e convivência.

A srta. Maria Lucinda Fonseca, pelo apoio e amizade no transcorrer do curso.

Aos colegas de curso, em especial a Mário Akutsu e Hilton, Tadeu Vilela, pela amizade.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, pela amizade e colaboração.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

JOSÉ CLÉRIO REZENDE PEREIRA, filho de Antualpa Arantes Pereira e Maria José Loures Pereira, nasceu em Piau, Estado de Minas Gerais.

Em março de 1976, graduou-se em Engenharia-Agrônoma pela Escola Superior de Agricultura da Universidade Federal de Viçosa.

No período compreendido entre outubro de 1977 e junho de 1981, atuou como coordenador do Programa de Controle das Cigarrinhas das Pastagens, em convênio firmado entre a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais e o Departamento de Defesa Fitossanitária Vegetal da Secretaria da Agricultura do Estado de Minas Gerais.

Em março de 1979, iniciou o Curso de Mestrado em Fito patologia na Universidade Federal de Viçosa.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE QUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
EXTRATO	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1. Sobrevivência de <u>M. anisopliae</u> na rizosfera de quatro espécies de <u>Brachiaria</u>	6
3.2. Capacidade de competição saprofítica do <u>M. a-</u> <u>nisopliae</u>	8
3.3. Permanência efetiva do <u>M. anisopliae</u> em três amostras de solos	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1. Sobrevivência de <u>M. anisopliae</u> na rizosfera de quatro espécies de <u>Brachiaria</u>	13
4.1.1. Sobrevivência de <u>M. anisopliae</u> em amos- tras de cinco solos diferentes	21
4.2. Capacidade de competição saprofítica do <u>M. a-</u> <u>nisopliae</u>	23
4.3. Permanência efetiva de <u>M. anisopliae</u> em amos- tras de três solos	27
5. RESUMOS E CONCLUSÃO	35
6. ABSTRACT	37
7. LITERATURA CITADA	39
8. APÊNDICE	43

LISTA DE QUADROS

QUADRO	Página
1 Número médio de propágulos de <u>Metarhizium anisopliae</u> , reisolados da rizosfera de diferentes espécies de <u>Brachiaria</u> , após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	14
2 Número médio de propágulos de <u>Metarhizium anisopliae</u> , reisolados de amostras de 5 solos, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	22
3 Número médio de propágulos de <u>Metarhizium anisopliae</u> , reisolados de amostras de 4 solos, após 45 dias de infestação. Viçosa - MG, 1981 ..	24
4 Número médio de ninfas das cigarrinhas das pastagens, colonizadas por <u>Metarhizium anisopliae</u> , após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	30
5 Número médio de adultos das cigarrinhas das pastagens, colonizados por <u>Metarhizium anisopliae</u> , após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	31
6 Número médio de propágulos de <u>Metarhizium anisopliae</u> , reisolados de amostras de três solos, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	32

QUADRO

Página

1A Algumas características químicas e físicas dos solos utilizados para avaliar a sobrevivência do Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin incorporado no solo 44

2A Classificação textural dos solos utilizados para avaliar a sobrevivência do Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin incorporado no solo . 45

FIGURAS

1 Número de propágulos de M. anisopliae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sua cobertura vegetal, na amostra do solo de Uberlândia, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981 11

2 Número de propágulos de M. anisopliae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sua cobertura vegetal, na amostra do solo de Uberlândia, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981 11

3 Número de propágulos de M. anisopliae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sua cobertura vegetal, na amostra do solo de Viçosa, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981 11

4 Número de propágulos de M. anisopliae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sua cobertura vegetal, na amostra do solo de Rio de Janeiro, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981 11

5 Número de propágulos de M. anisopliae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sua cobertura vegetal, na amostra do solo de Piracicaba, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981 11

6 Número médio de propágulos de M. anisopliae referidos de amostras de quatro diferentes solos, em cobertura sintética, e sua cobertura vegetal, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981 11

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Número de propágulos de <u>M. anisopliae</u> sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Uberlândia, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	15
2	Número de propágulos de <u>M. anisopliae</u> sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Governador Valadares, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	16
3	Número de propágulos de <u>M. anisopliae</u> sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Viçosa, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	17
4	Número de propágulos de <u>M. anisopliae</u> sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Rio Casca, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	18
5	Número de propágulos de <u>M. anisopliae</u> sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Pirapora, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981	19
6	Número médio de propágulos de <u>M. anisopliae</u> , reisolados de amostras de quatro diferentes solos, com competição saprofítica, e sem competição, após 45 dias de infestação. Viçosa - MG, 1981	25

FIGURA

Página

- 7 Número médio de ninfas das cigarrinhas das pas-
tagens parasitadas por M. anisopliae, em amos-
tras de três diferentes solos, após quatro pe-
ríodos de infestação. Viçosa - IG, 1981 28
- 8 Número médio de adultos das cigarrinhas das pas-
tagens parasitadas por M. anisopliae, em amos-
trastras de três diferentes solos, após quatro
períodos de infestação. Viçosa - IG, 1981 29

EXTRATO

PEREIRA, J.C.R., M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 1982. Sobrevivência do *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin incorporado no solo. Professor Orientador: Geraldo Martins Chaves.

Estudou-se a sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* na rizosfera de quatro espécies de *Brachiaria*, em amostras de solo do Estado de Minas Gerais. Determinou-se o período em que o fungo se manteve no solo em condições de infectar as cigarrinhas, bem como a sua capacidade de competir saprofitamente.

Os solos utilizados foram coletados das regiões de Uberlândia, Pirapora, Governador Valadares, Rio Casca, Viçosa e São Sebastião do Paraíso. As espécies de *Brachiaria* estudadas foram *B. decumbens*, *B. ruziziense*, *B. humidicola* e *B. brizantha*. Todos os solos foram estudados na forma natural, exceto no caso da avaliação de competição saprofítica, quando foram tratados com antibióticos, para se tornarem seletivos para as populações de fungos, de bactérias e de actinomicetos.

Os solos de Uberlândia e Pirapora apresentaram maiores populações de *M. anisopliae*, colocando-se em ordem decrescente os solos de Governador Valadares, Rio Casca e Viçosa.

sa, respectivamente.

As rizosferas das espécies de B. humidicola e de B. brizantha apresentaram maiores populações de M. anisopliae, com todos os tipos de solos.

No que se refere à capacidade de competição saprofítica, M. anisopliae comportou-se como fraco competidor. As maiores intensidades de competição foram exercidas por populações de bactérias e de actinomicetos.

A patogenicidade de M. anisopliae foi reduzida à medida que o tempo de infestação se prolongava, apresentando decréscimo significativo aos 15 dias de infestação, acentuando-se a partir dos 30 dias.

Os resultados indicaram que o fungo M. anisopliae permanece no solo por um período relativamente longo, porém seus propágulos perdem rapidamente a capacidade de infectar as cigarrinhas das pastagens (Zulia entreriana e/ou Deois schach).

1. INTRODUÇÃO

As cigarrinhas estão amplamente distribuídas em várias regiões do mundo, tendo muitas espécies vegetais como hospedeiras. Assumem papel de relevância as espécies pertencentes à família Cercopidae (Aeneolamia selecta SLK, Deois schach F., Mahanava rubicunda indentata SLK e Zulia entre-riana Berg (1879)), por constituírem a principal praga das gramíneas forrageiras.

Nas duas últimas décadas, estes insetos vêm se constituindo no principal empecilho à expansão da pecuária no Brasil, principalmente nas regiões onde as pastagens são constituídas de gramíneas exóticas. No decorrer do ano de 1977, os danos atingiram a cifra de, aproximadamente, setenta e cinco milhões e quinhentos mil cruzeiros, para um total de cento e quarenta e sete mil hectares infestados pelas cigarrinhas das pastagens (7).

Não obstante a grande importância destas pragas e por que existem dificuldades de se efetuar o controle químico ou físico adequado, o combate tem sido direcionado para o controle biológico e, neste particular, a aplicação do fungo entomógeno Metarhizium anisopliae tem sido a principal alternativa (12, 13).

A utilização do M. anisopliae como fungo entomógeno da

ta de 1879, quando Metschnikoff o isolou de besouros e passou a utilizá-lo no combate à pragas (11, 13, 23). Segundo ROBERTS e VEEN (22, 37), 204 espécies pertencentes a 7 ordens da classe Insecta são sensíveis ao Metarhizium, demonstrando que o fungo é polífago e cosmopolita (2, 10, 39).

O conhecimento do tempo de persistência deste fungo no solo, sem perder a viabilidade, surge como condição básica no controle biológico das cigarrinhas das pastagens (15, 23, 27, 40).

Este trabalho visou determinar: a - a sobrevivência de M. anisopliae na rizosfera de espécies de Brachiaria; b - o período em que o fungo se mantém no solo em condições de exercer ação patogênica contra as cigarrinhas (Zulia entre-riana Borg (1879) e Deois schach F.) e c - a capacidade de competição saprofítica de M. anisopliae.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O período de permanência de M. anisopliae no solo, passando por uma fase saprofítica, tem sido investigado por alguns pesquisadores (8, 34, 40). Segundo MILLNER e LUTTON (15), o fungo pode permanecer viável por até 547 dias em solos infestados e incubados, com temperatura variando de 16°C a 32°C e sob diferentes níveis de umidade. OLIVEIRA et alii (16), trabalhando com cinco solos diferentes e sob três coberturas vegetais, encontraram correlação negativa entre o número de propágulos e o teor de matéria orgânica e constataram efeito inibitório da microflora rizosférica, durante o período de florescimento das gramíneas empregadas como cobertura vegetal.

WALSTAD et alii (38) pesquisaram a persistência do M. anisopliae em vários substratos naturais, concluindo que seus esporos em solo natural, humus ou esterco de curral não germinaram, embora permanecessem viáveis por uma semana. Vários autores citados por CLERK (5) observaram o mesmo comportamento, citando como inibidores alguns actinomicetos e bactérias. Entretanto, ROBERTS e CALPBELL (23) mencionaram que em condições físicas e ecologicamente apropriadas e na ausência de luz ultravioleta, o solo pode constituir-se em habitat perfeito para este fungo entomógeno. MASERA (14) afirma que os conídios de Metarhizium perdem rapidamente sua viabilidade e

que, após 4 meses em condições de laboratório, deixam de germinar.

ROBERTS e CAMPBELL (23) afirmaram que o efeito de solos não tratados sobre fungos entomógenos é variável, ocorrendo geralmente redução na germinação de esporos, provavelmente por ação de fungistase. Outros pesquisadores (4, 5, 6) mencionaram que esporos expostos a solos não tratados por período de até 40 dias germinaram quando transferidos para meio estéril.

STARKEY (31) concorda que a nutrição da maior parte dos microrganismos do solo depende de resíduos orgânicos e inorgânicos de plantas. Segundo ROVERA (25), os fatores mais importantes para estimular microrganismos na rizosfera são: excreção de substâncias orgânicas, tecidos capilares das raízes mortas e células epidérmicas.

PARKINSON e THOMAS (17) afirmaram que a espécie de planta e seu estágio fenológico influenciam qualitativa e quantitativamente a microflora na região da rizosfera. Posteriormente, RAO e VENKATARAMAN (25) determinaram que o efeito máximo da rizosfera de trigo sobre microrganismos ocorre durante o período de floração; os mesmos autores confirmaram que a população de bactérias era significativamente maior na rizosfera do que em solos livres de raízes.

Diversos pesquisadores (3, 19, 24, 26, 27, 30) destacam como fator de permanência de fungos no solo certos tipos de cobertura vegetal.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de campo foram desenvolvidos em Viçosa e Governador Valadares e, os de laboratório, no Departamento de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa. A cepa utilizada em todos os ensaios foi a M.a.9, isolada a partir de exoesqueleto de Zulia entreteriana Berg, oriunda de Governador Valadares. Em ensaios preliminares, a cepa M.a.9 apresentou-se mais patogênica às cigarrinhas Zulia entreteriana e Deois schach, quando comparada a outros nove isolados. A identificação do isolado como sendo pertencente à espécie M. anisopliae var. anisopliae foi feita com base nas características descritas por TULLOCH(35).

As amostras de solos foram coletadas em propriedades agrícolas dos municípios de Uberlândia, Pirapora, Rio Casca, Governador Valadares, Viçosa e São Sebastião do Paraíso. Foram retiradas de locais onde houvera sido constatada a presença de cigarrinhas. As amostras de Uberlândia foram coletadas em pastagem de Brachiaria decumbens; as de Pirapora, em pastagem de Hyparrhenia rufa; as de Governador Valadares, em pastagem de Panicum maximum; as de Rio Casca, e Viçosa, em pastagem de Molinis minutiflora; e, as de São Sebastião do Paraíso, sob a copa de cafeeiros infestados por cigarras dessa cultura.

Para a análise microbiológica, quatro amostras de cada tipo de solo foram misturadas uniformemente, destorroadas e passadas em peneira de 2 mm de malha. A seguir tomou-se amostras de 10 g, em cinco repetições, as quais foram colocadas em erlenmeyers de 250 ml, que receberam 90 ml de água esteril, acrescidos de 0,09 ml de Tween 80. Cada erlenmeyer foi agitado por 15 minutos. Diluições sucessivas foram realizadas em tubos de ensaio até 10^{-6} (12), com as quais se efetuou o plaqueamento por meio do método de diluições em placas para a análise quantitativa de fungos, bactérias e actinomicetos (1, 20).

Paralelamente, procurou-se verificar a presença de L. anisopliae nas 6 amostras de solo estudadas, tomando-se diluições sucessivas até 10^{-3} , com as quais se efetuou o plaqueamento em meio seletivo para Metarhizium (18). Este meio seletivo consistia em um meio básico de Bacto-Agar-Difco, 20 g; Neopeptona, 6 g; glucose, 10 g; K_2HPO_4 , 0,5 g; KH_2PO_4 , 0,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1,0 g; e H_2O suficiente para 1000 ml de meio acrescido de ciclohexamida, 200 mg; cloranfenicol, 200 mg; streptomina, 100 mg; e critrocina, 80 mg.

3.1. Sobrevivência de M. anisopliae na rizosfera de quatro espécies de Brachiaria

As amostras dos solos de Uberlândia, Pirapora, Rio Casca, Governador Valadares e Viçosa constituíram os blocos e as gramíneas B. decumbens Stapf, B. brizantha (Hochsk) Stapf, B. ruziziense Germain & Edvard e B. humidicola (Hendle) Schweikerd, constituíram os tratamentos. As mudas das espécies de Brachiaria, previamente identificadas, foram fornecidas pelo Departamento de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa.

Este ensaio foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso com 5 tratamentos e 3 repetições.

As parcelas foram constituídas por canteiros que mediam 1,0 x 1,0 x 0,5 m. Estes canteiros foram protegidos lateralmente por tábuas e, na base, por sacos de polipropileno perfurados.

O ensaio obedeceu ao seguinte esquema, para cada tipo de solo.

- a - solo natural + B. decumbens + M. anisopliae;
- b - solo natural + B. ruziziense + M. anisopliae;
- c - solo natural + B. brizantha + M. anisopliae;
- d - solo natural + B. humidicola + M. anisopliae;
- e - solo natural sem forrageira + M. anisopliae.

Foram tomadas culturas de M. anisopliae com 20 dias de cultivo em meio de fubá-areia (farinha de milho (fubá), 1000 g; areia lavada, 1000 g; água destilada, 1500 ml (23)). Antes de infestar-se os solos, foi feita a contagem de esporos em hematocitômetro. Foi também realizada a avaliação do poder germinativo dos esporos, por meio de semeadura de 1 ml de uma suspensão do material fúngico utilizado em placas que continham agar-água a 2% e incubados a 27°C, por 12 horas. As leituras foram efetuadas por intermédio da contagem microscópica de 100 esporos por placa, considerando-se como germinado o conídio cujo tubo germinativo pudesse ser facilmente discernido. Desta maneira, determinou-se uma concentração de $1,7 \times 10^9$ conídios viáveis por grama de massa fúngica. Uma vez realizada esta etapa, procedeu-se a incorporação dos conídios ao solo, na razão de $1,7 \times 10^9$ conídios/g de solo, escarificando até 5 cm de profundidade.

Baseando-se nos resultados da análise das características químicas e físicas dos solos (Quadro 1A, Apêndice) e

partindo-se da premissa de que as percentagens de saturação dos solos pouco diferiram entre si, estabeleceu-se um volume de 1500 ml de água de torneira para umedecimento, em cada parcela, diariamente, a partir da infestação dos solos com M. anisopliae e subsequente plantio das gramíneas, até aos 45 dias, quando se dispensou a irrigação; em virtude de a cobertura vegetal já estar implantada.

Os reisolamentos do M. anisopliae foram efetuados aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias, após a infestação. Foram coletadas 9 amostras por parcela, junto ao sistema radicular das gramíneas, a uma distância de aproximadamente 2,5 cm e a uma profundidade de 3 cm. Diluições sucessivas foram efetuadas até 10^{-7} , utilizando-se o processo de ALLEN (1) e a metodologia de POCHON e TARDIEUX (20), em meio seletivo para Metarhizium (18). Utilizaram-se 9 placas por diluição, e incubaram-nas a 27°C, por 6 dias, quando se procedeu à contagem do número de colônias, expressando-se o resultado em número de propágulos/g de solo seco.

3.2. Capacidade de competição saprofítica do M. anisopliae

Neste ensaio, as amostras dos solos foram coletadas em propriedades agrícolas dos municípios de Pirapora, Uberlândia, Governador Valadares e Rio Casca. As amostras foram dessecadas e passadas em peneira de 2 mm de malha. Pesaram-se 50 g de solo e transferiram-nos para erlenmeyers de 125 ml, que foram fechados com papel de alumínio.

O ensaio foi conduzido em blocos ao acaso, com oito tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos obedeceram ao seguinte esquema, para cada tipo de solo:

- Solo natural + ciclohexamida (350 ppm) + Metarhizium.

Tratamento utilizado para avaliar a ação antagônica de populações naturais de bactérias do solo.

- Solo natural + cloranfenicol (150 ppm) + estreptomicina (160 ppm) + Metarhizium.

Utilizado para avaliar a ação antagônica de populações naturais de fungos do solo.

- Solo autoclavado + actinomicetos + Metarhizium.

Utilizado para avaliar a ação antagônica de populações de actinomicetos; representados por Streptomices spp.

- Solo natural + Metarhizium.

Utilizado para avaliar a ação antagônica de populações naturais de fungos e de bactérias do solo.

- Solo natural + actinomicetos + Metarhizium.

Utilizado para avaliar a ação antagônica de populações naturais de fungos e de bactérias do solo, e associados a populações de actinomicetos.

- Solo natural + ciclohexamida (350 ppm) + actinomicetos + Metarhizium.

Utilizado para avaliar a ação antagônica de populações de actinomicetos associadas a populações naturais de bactérias do solo.

- Solo natural + cloranfenicol (150 ppm) + estreptomicina (160 ppm) + actinomicetos + Metarhizium.

Utilizado para avaliar a ação antagônica de populações naturais de fungos do solo associadas a populações de actinomicetos.

- Solo natural + ciclohexamida (350 ppm) + cloranfeni

col (150 ppm) + estreptomicina (160 ppm) + Metarhizium.

Utilizado como controle.

A aplicação dos antibióticos foi realizada por via líquida. Após procedida a pesagem correspondente a cada antibiótico, estes foram veiculados em 20 ml de água estéril.

Colocaram-se os erlenmeyers em incubadoras a 28°C, durante 45 dias. Após este período, os erlenmeyers foram transferidos para câmara asséptica, procedendo-se à inoculação de M. anisopliae em todos os tratamentos e infestação de Streptomicos spp, ambos na razão de $1,6 \times 10^6$ esporos/g de solo. Em seguida, foram incubados a cerca de 28°C por 45 dias, adicionando-se água estéril sempre que os solos apresentavam aspecto de ressecamento.

O reisolamento do M. anisopliae obedeceu à metodologia empregada no ensaio correspondente à sobrevivência na rizosfera (item 3.1).

3.3. Permanência efetiva do M. anisopliae em três amostras de solos

Os solos utilizados neste ensaio foram coletados em propriedades agrícolas dos municípios de Uberlândia, Governador Valadares e São Sebastião do Paraíso. As amostras foram infestadas de forma idêntica à processada no ensaio sobre sobrevivência, descrito no item 3.1, de forma a se obter concentração de $1,7 \times 10^7$ cenídios/g de solo.

Os solos foram mantidos nas condições normais do ambiente ($t^{\circ}C$ - (25 a 27°C, UR - 80 a 95%)). Transcorridos 0, 15, 30 e 45 dias, foram retiradas amostras de, aproximadamente, 2,5 kg as quais foram mantidas em câmara fria por 90 dias para a amostra coletada ao 0 dia; 75 dias para a amostra colo-

tada aos 15 dias; 60 dias para a amostra coletada aos 30 dias, e 45 dias para a amostra coletada aos 45 dias.

Durante a primeira quinzena de mês de janeiro de 1981, quando ocorreu a maior densidade populacional das cigarrinhas das pastagens, no Vale do Rio Doce, as amostras foram transferidas para laboratório, com o objetivo de se avaliar a patogenicidade do M. anisopliae às cigarrinhas das pastagens (Zulia entreriana e/ou Decis schach).

A patogenicidade de M. anisopliae em solos infestados em quatro períodos foi testada nas cigarrinhas das pastagens, nos estádios ninfal e adulto, ou seja: cinco amostras de 50 g foram retiradas de cada solo em cada período amostrado. Estas amostras foram acondicionadas em frascos-mamadeiras, procedendo-se ao umedecimento até saturar a capacidade de retenção de umidade. Em seguida introduziram-se, em cada frasco, 5 ninfas das cigarrinhas das pastagens (Zulia entreriana e/ou Decis schach), sendo as ninfas do quarto e/ou quinto instar.

Após transcorridas 90 horas da introdução das ninfas, efetuou-se a avaliação, expressando-se os resultados em número de ninfas parasitadas.

Para testar a patogenicidade no estágio adulto das cigarrinhas das pastagens, foram tomados 500 g de cada amostra de solo, em cada período amostrado. As amostras foram transferidas para erlenmeyers de 2.000 ml, nos quais foram adicionados 1.000 ml de água estéril, acrescidos de 1 ml de Tween 80 e agitados durante 15 minutos. Após 30 minutos de repouso, procedeu-se à filtração em camada de gaze, armazenando-se cada suspensão de solo em erlenmeyer de 1.000 ml, em geladeira comum.

Para cada amostra de solo, em cada época amostrada, foram utilizadas duas gaiolas teladas, medindo 20 x 20 x 20 cm,

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Sobrevivência de *M. anisopliae* na rizosfera de quatro espécies de *Brachiaria*

De acordo com os dados do quadro 1 e das figuras 1, 2, 3, 4 e 5, com o decorrer do tempo, as populações de *M. anisopliae* decresceram na rizosfera das espécies de *Brachiaria*, em todas as amostras de solos estudadas. As principais reduções no número de propágulos ocorreram aos 60 dias da infestação, acentuando-se a partir dos 90 dias, até atingir os menores níveis aos 150 dias, quando as populações ficaram reduzidas em pelo menos 70%; exceto para o tratamento correspondente a solo sem cobertura vegetal, que diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, aos 150 dias de infestação, apresentando uma redução de, aproximadamente, 90%.

Nos solos da rizosfera foram obtidas maiores populações de *M. anisopliae*, quando comparados a solo sem cobertura vegetal. Este resultado concorda com os obtidos por OLIVEIRA *et alii* (16), que concluíram que a microflora da rizosfera influencia qualitativa e quantitativamente o número de propágulos de *M. anisopliae*, obrigando a ocorrência de uma redução mais acentuada nos solos sem cobertura vegetal. Contudo, vários autores (25, 30) apontam, como fatores de sobrevivência de

QUADRO 1 - Número médio de propágulos de Metarhizium anisopliae, reisolados da rizosfera de diferentes espécies de Brachiaria, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981

Forrageiras	Períodos (dias)				
	30	60	90	120	150
Número de propágulos*					
<u>B. humidicola</u>	5,19 Aa	5,19 Aa	3,16 Ba	2,05 Ba	1,91 Ca
<u>B. decumbens</u>	5,14 Aa	5,14 Aa	4,03 Aa	2,60 Ba	1,56 Ca
<u>B. ruziziense</u>	5,16 Aa	4,96 Aa	3,94 Ba	2,40 Ca	1,53 Ca
<u>B. brizantha</u>	5,15 Aa	5,08 Aa	3,99 Aa	2,25 Ba	1,72 Ba
Testemunha (solo sem cobertura)	4,80 Aa	4,22 Aa	3,19 Ba	1,43 Ca	0,44 Db

* Representados pelo número de colônias em meio de cultura (média de 9 repetições) e expressos em número de colônias/g de solo seco, com transformação logarítmica (\log_{10}).

- Teste de significância de Tukey: letras maiúsculas dentro da mesma linha e minúsculas dentro da mesma coluna não diferem, significativamente, ao nível de 0,05 de probabilidade.

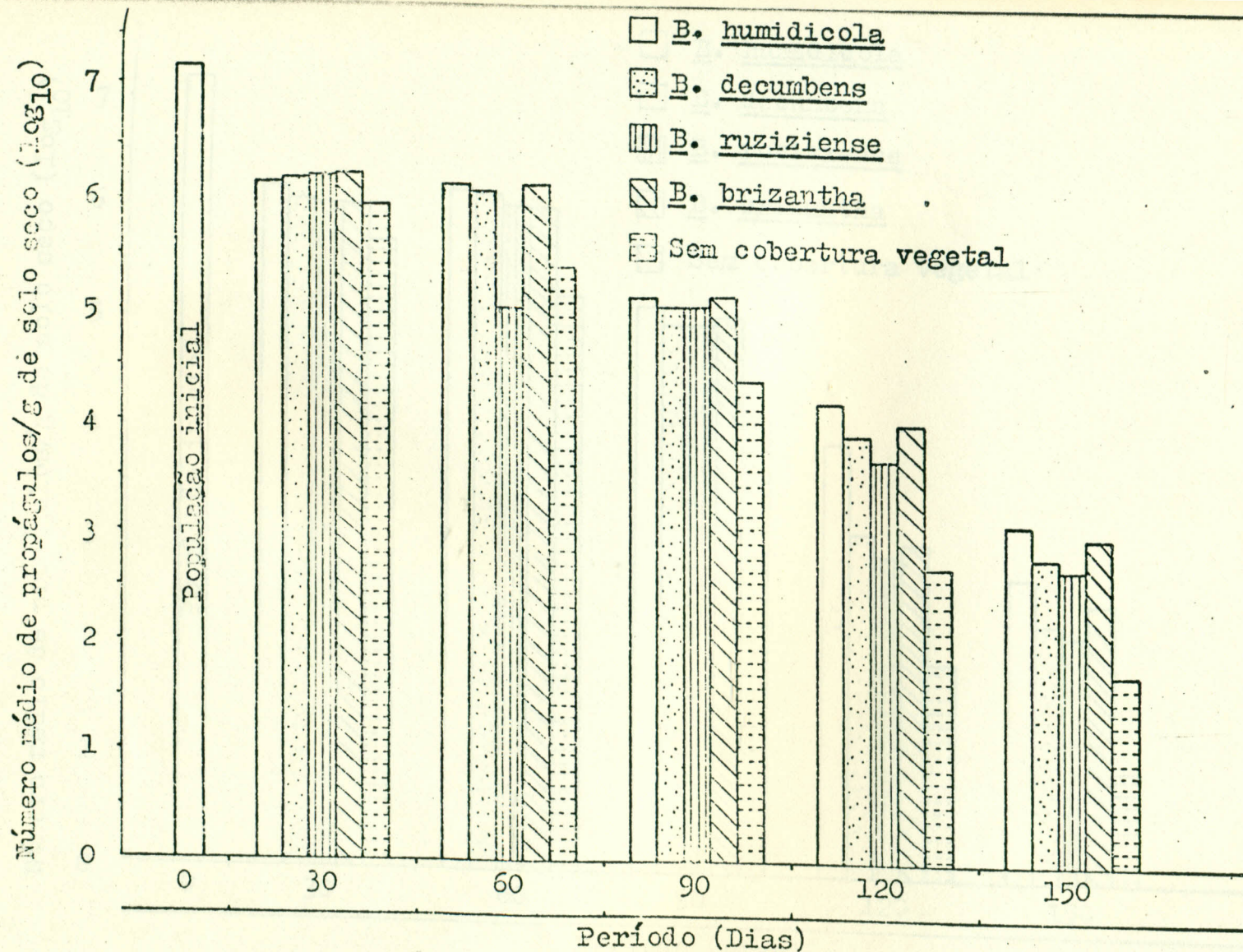


FIGURA 1. - Número de propágulos de *M. anisopliae* sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Uberlândia, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981.

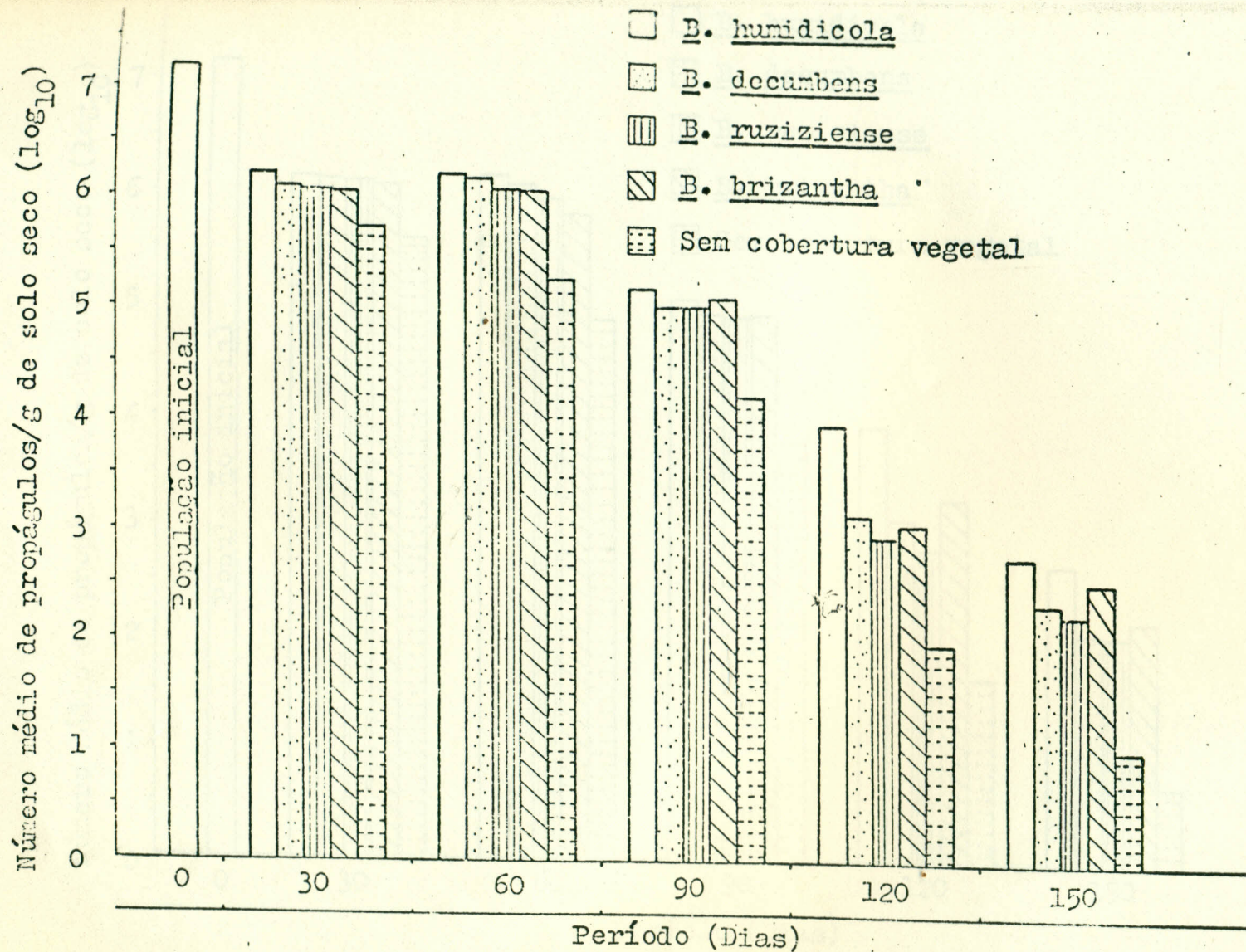


FIGURA 2 - Número de propágulos de *M. anisoniae* sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Governador Valadares, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981.

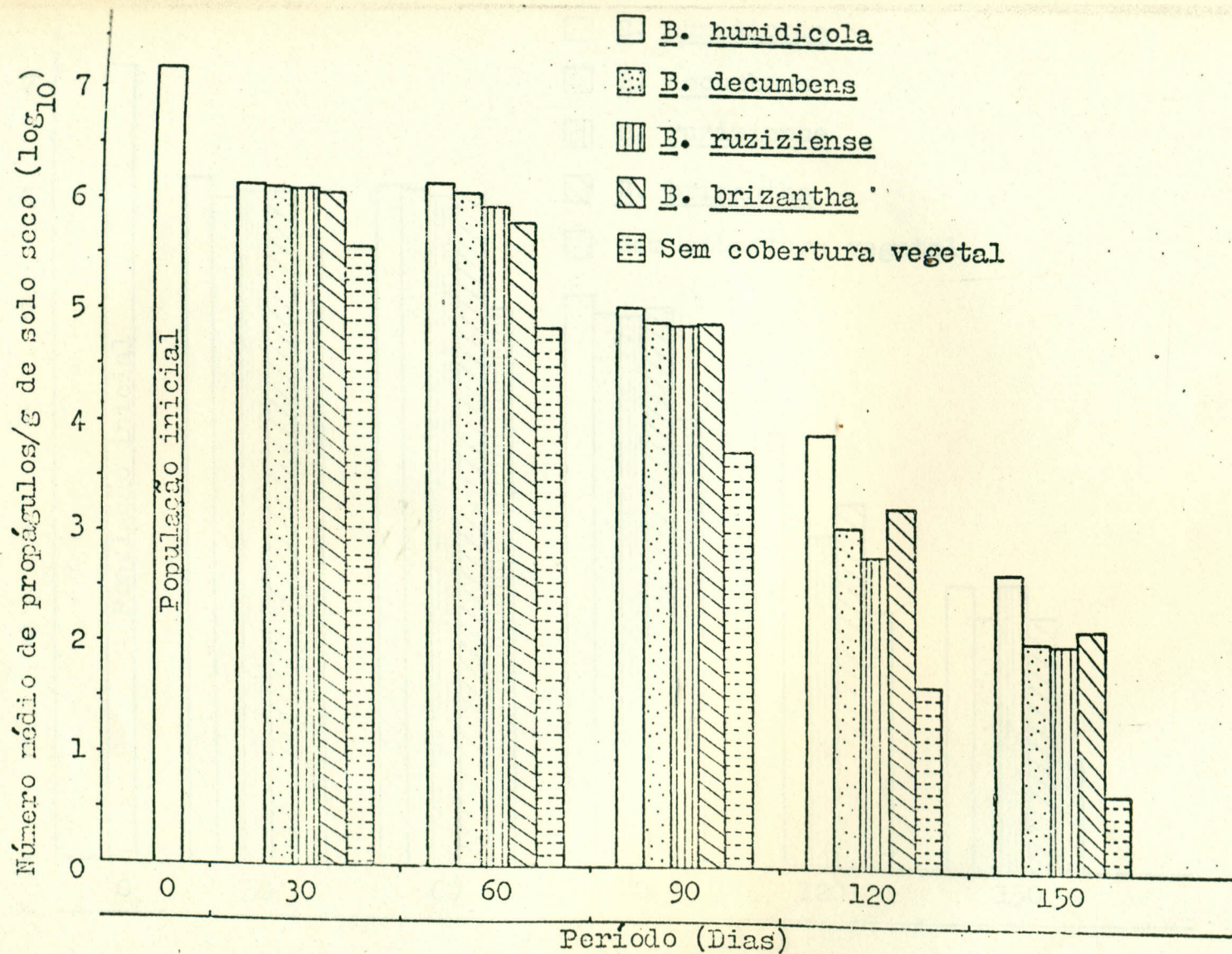


FIGURA 3 - Número de propágulos de *M. anisopliae* sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Viçosa, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981.

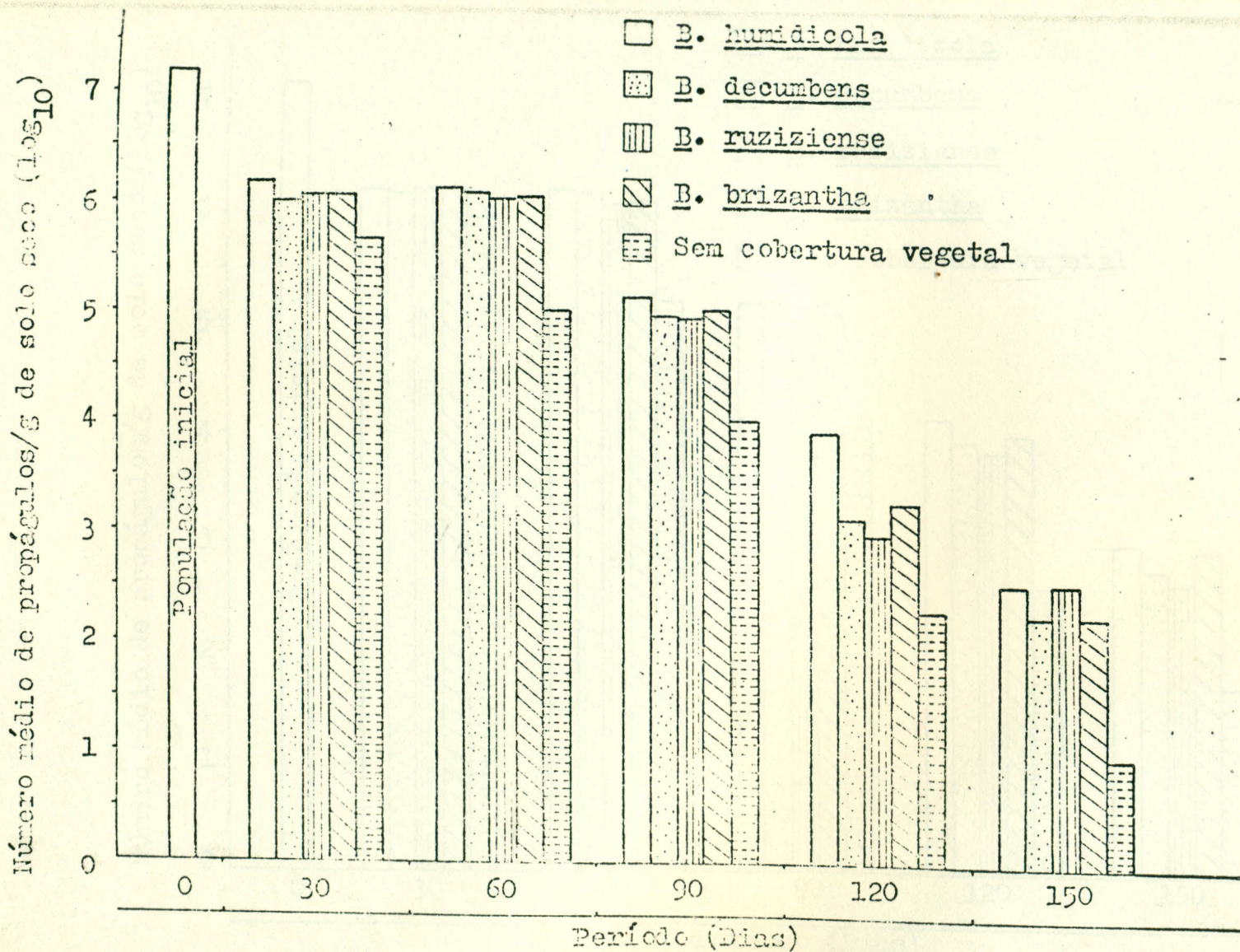


FIGURA 4 - Número de propágulos de M. uniconiae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Rio Casca, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981.

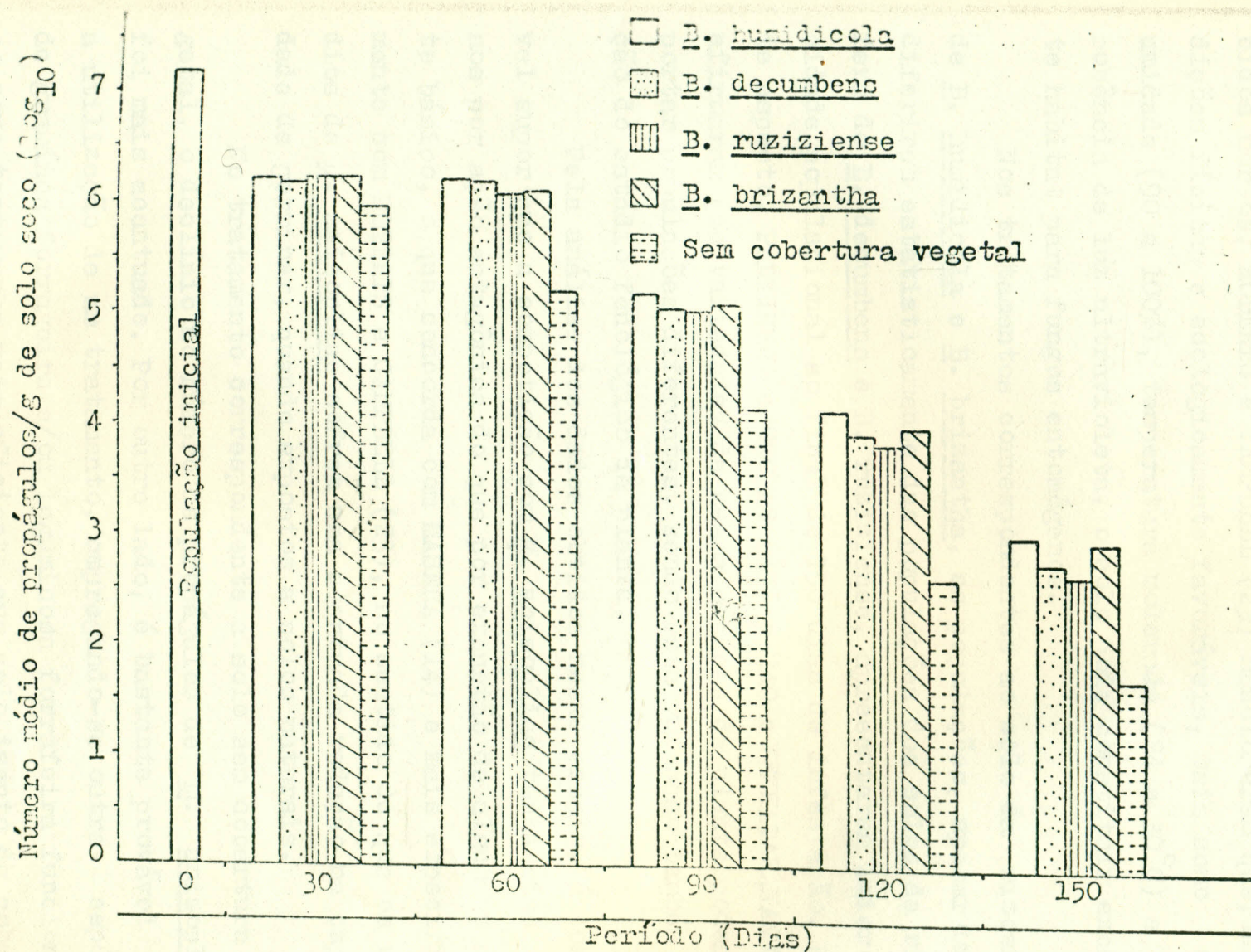


FIGURA 5 - Número de propágulos de M. anisopliae sob efeito de quatro coberturas vegetais, e sem cobertura vegetal, na amostra do solo de Pirapora, em vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981.

fungos no solo; alguns exsudados radiculares e restos de tecidos mortos. ROBERTS e CAMPBELL (23) mencionaram que, em condições físicas e ecologicamente favoráveis, tais como alta umidade (90 a 100%), temperatura moderada (24 a 30°C) e na ausência de luz ultravioleta, o solo pode constituir excelente habitat para fungos entomógenos.

Nos tratamentos correspondentes ao solo da rizosfera de B. humidicola e B. brizantha, as populações, apesar de não diferirem estatisticamente das populações dos solos da rizosfera de B. decumbens e B. ruziziense, apresentaram maior densidade populacional ao final de 150 dias de infestação. Neste aspecto, PARKINSON e THOMAS (17) e RAO e VENKATARAMAN (21) afirmaram que variedades da mesma espécie de planta podem suportar populações diferentes, sendo esta variação também função do estágio fenológico da planta.

Pela análise dos dados obtidos neste ensaio, é possível supor que a competição com M. anisopliae tenha sido menos por ação antagônica do que por exaustão de algum nutriente básico, o que concorda com MASERA (14) e mais especificamente com ROBERTS e CAMPBELL (23), no sentido de que os conídios de M. anisopliae sofrem uma acentuada redução na capacidade de germinar, quando expostos a solos naturais.

No tratamento correspondente a solo sem cobertura vegetal, o declínio no número de propágulos de M. anisopliae foi mais acentuado. Por outro lado, é bastante provável que a utilização de um tratamento, empregando-se outra espécie de gramínea forrageira e/ou leguminosa forrageira funcionasse como testemunha mais eficiente que solo isento de cobertura vegetal, posto que, quando se estudou a sobrevivência em solo sem cobertura vegetal, os propágulos de M. anisopliae estiveram mais expostos a uma variação climática maior, o que por certo, não ocorre quando o fungo é aplicado em pastagens,

visando ao controle das cigarrinhas das pastagens.

Por outro lado, pode-se deduzir da importância dos exsudatos radiculares durante o período de infestação, visto que para um mesmo solo, quando exposto às condições de meio ambiente, na ausência de cobertura vegetal, a população de M. anisopliae decresceu rapidamente. Mesmo considerando a possibilidade de ter ocorrido menor taxa de atividade biológica, o número de propágulos de M. anisopliae decresceu em todos os solos estudados, à medida que o período de infestação foi ampliado.

4.1.1. Sobrevivência de M. anisopliae em amostras de cinco solos diferentes

Os dados apresentados no quadro 2 mostram o comportamento das populações de M. anisopliae nas diferentes amostras de solo estudadas.

As populações de M. anisopliae variaram de solo para solo, porém não diferindo estatisticamente, senão em função do tempo de infestação, decrescendo à medida que o período de infestação foi ampliado.

Reduções significativas foram observadas a partir dos 90 dias de infestação, nas amostras dos solos de Governador Valadares, Pirapora e Viçosa, tornando-se evidente a partir dos 120 dias de infestação, em todas as amostras de solo estudadas. Entretanto, a permanência de M. anisopliae foi mais consistente nos solos de Uberlândia e Pirapora, que apresentaram, ao final de 150 dias de infestação, as maiores populações de M. anisopliae. Em que pese ao declínio observado, este foi menos acentuado para os solos de Uberlândia e Pirapora, e, neste particular, observa-se que a influência destes dois solos, principalmente para o solo de Uberlândia, pode

QUADRO 2 - Número médio de propágulos de Metarhizium anisopliae, reisolados de amostras de 5 solos, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981

Solos	Períodos (dias)				
	30	60	90	120	150
Número de propágulos					
Uberlândia	5,18 Aa	5,08 Aa	4,06 Aa	2,80 Ba	1,86 Ba
Governador Valadares	5,06 Aa	5,05 Aa	4,00 Ba	2,41 Ca	1,44 Da
Rio Casca	5,04 Aa	5,02 Aa	4,67 Aa	2,44 Ba	1,44 Ca
Pirapora	5,10 Aa	5,09 Aa	4,03 Ba	3,20 Ba	1,78 Ca
Viçosa	5,05 Aa	4,94 Aa	3,90 Ba	2,34 Ca	1,28 Da

* Representados pelo número de colônias em meio de cultura (média de 9 repetições) e expressos em número de colônias/g de solo seco com transformação logarítmica (\log_{10}).

- Teste de significância de Tukey: os números seguidos da mesma letra maiúscula dentro da mesma linha e letras minúsculas dentro de cada coluna não diferem, significativamente, ao nível de 0,05 de probabilidade.

estar correlacionada com as suas características físico-químicas, influenciando na taxa de atividade microbiana. Acrescenta-se que nestes dois solos foram obtidos os menores percentuais de matéria orgânica, assim como apresentaram maiores níveis de acidez (Quadro 1A, Apêndice), características estas cujo efeito pode ter sido seletivo para populações de fungos em detrimento de populações de bactérias.

Segundo RONAT e KATNELSON (24), o teor de matéria orgânica tem efeito marcante no número de bactérias e na sua atividade no solo. Ainda com relação ao teor de matéria orgânica, OLIVEIRA et alii (16) correlacionaram negativamente o número de propágulos de M. anisopliae com o teor de matéria orgânica, ou seja, solos com maior teor de matéria orgânica podem estar associados de forma seletiva a altas taxas de atividade biológica por parte de populações de bactérias em detrimento a populações de fungos.

As amostras de solo natural que constituíram melhor habitat para M. anisopliae foram as de Uberlândia e Pirapora, seguidas, em ordem decrescente, das amostras do solo de Governador Valadares, Rio Casca e Viçosa.

4.2. Capacidade de competição saprofítica do M. anisopliae

Os dados apresentados no quadro 3 e figura 6 demonstram a habilidade do fungo entomógeno M. anisopliae em competir saprofiticamente.

Em todas as amostras de solo estudadas, a maior competição com M. anisopliae foi oferecida nos tratamentos correspondentes ao efeito antagônico de populações de actinomicetos e bactérias, à exceção da amostra do solo de Rio Casca, em que o efeito antagônico de populações de bactérias foi mai

QUADRO 3 - Número médio de propágulos de Metarhizium anisopliae, reisolados de amostras de 4 solos, após 45 dias de infestação. Viçosa - MG, 1981

Solos	Tratamentos ^{a/}							
	Y	F	FAB	FB	FA	B	AB	A
Número de propágulos								
Pirapora	2,06 A	1,48 A	1,15 AB	1,05 B	0,54 BC	0,52 C	0,38 C	0,31 C
Rio Casca	2,09 A	1,44 AB	1,42 AB	0,98 B	0,80 B	0,71 B	0,98 B	0,78 B
Uberlândia	2,08 A	1,46 AB	1,43 AB	1,30 AB	0,73 BC	0,53 BC	0,63 BC	0,24 C
Governador Valadares	2,09 A	1,46 AB	1,27 AB	1,25 AB	0,51 BC	0,96 BC	0,89 BC	0,03 C

a/ Testemunha, F - fungos, FAB - fungos + bactérias + actinomicetos, FB - fungos + bactérias, FA - fungos + actinomicetos, B - bactérias, AB - actinomicetos + bactérias e A - actinomicetos.

* Número médio de propágulos/g de solo seco com transformação logarítmica (\log_{10}).

- Teste de significância de Tukey: os números seguidos pela mesma letra maiúscula dentro da mesma linha não diferem ao nível de 0,05 de probabilidade.

Número médio de propágulos de *M. anisopliae* / g de solo seco (10⁻⁷)

- *M. anisopliae*
- ▤ *M. anisopliae* x Fungos
- ▥ *M. anisopliae* x (Fungos + Bactérias + Actinomicetos)
- ▧ *M. anisopliae* x (Fungos + Bactérias)
- ▨ *M. anisopliae* x (Fungos + Actinomicetos)
- ▩ *M. anisopliae* x (Fungos + Actinomicetos)
- *M. anisopliae* x (Bactéria + Actinomicetos)
- *M. anisopliae* x Bactérias
- ▬ *M. anisopliae* x Actinomicetos

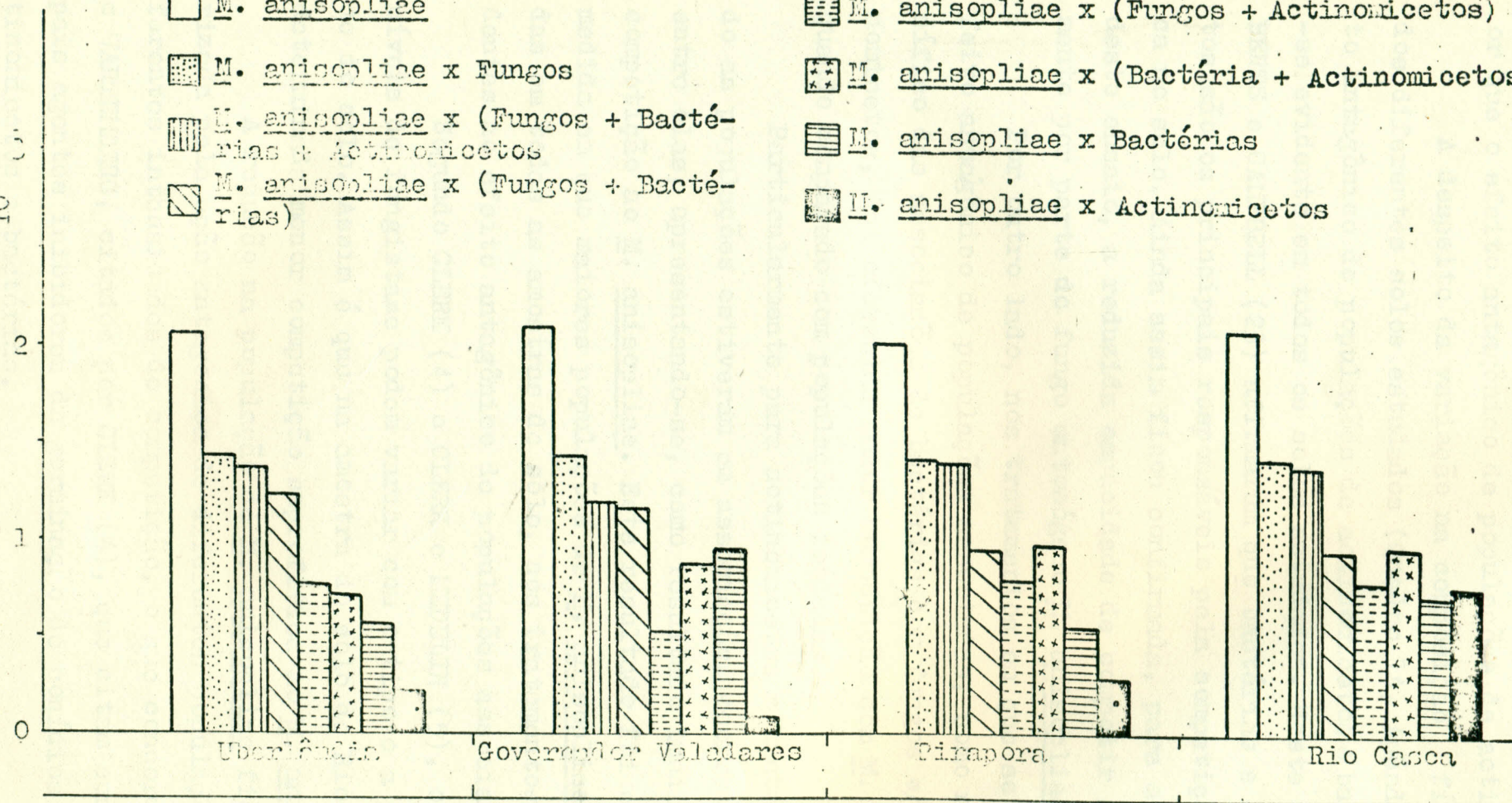


FIGURA 6 - Número médio de propágulos de *M. anisopliae*, reisolados de amostras de quatro diferentes solos, com competição saprofítica, e sem competição, após 45 dias de infestação. Viçosa - MG, 1981.

or que o efeito antagônico de populações de actinomicetos.

A despeito da variação na composição físico-química dos diferentes solos estudados (Quadro 1A, Apêndice), o efeito antagônico de populações de actinomicetos e bactérias fez-se evidente em todos os solos estudados. Neste sentido, ROBERTS e CAMPBELL (23) afirmaram que bactérias e actinomicetos são os principais responsáveis pela competição saprofítica no solo. Ainda assim ficou confirmada, para as condições deste ensaio, a reduzida capacidade de competir saprofiticamente por parte do fungo entomógeno M. anisopliae.

Por outro lado, nos tratamentos em que se estudou o efeito antagônico de populações associadas, como no caso específico das associações de bactérias com fungos e/ou com actinomicetos, foi oferecida menor competição com M. anisopliae, quando comparado com populações isoladas.

Particularmente para actinomicetos e bactérias, quando as populações estiveram em associação, ocorreu competição entre elas, apresentando-se, como resultado imediato, menor competição ao M. anisopliae. Este resultado foi comprovado na medida em que maiores populações de M. anisopliae foram obtidas em todas as amostras de solo, nos tratamentos correspondentes ao efeito antagônico de populações associadas.

Segundo CLERK (4) e CLERK e MEDELIN (5), os diversos níveis de fungistase podem variar com o tipo e a profundidade do solo. Assim é que na amostra do solo de Rio Casca foi determinada menor competição saprofítica ao M. anisopliae.

A redução na população de M. anisopliae ficou caracterizada pela ação antagônica de diferentes populações, com diferentes intensidades de competição, o que concorda com HUBER e WARTEBERG, citados por CLERK (4), que citam como principais agentes inibidores da germinação de conídios alguns actinomicetos e bactérias.

4.3. Permanência efetiva de *M. anisopliae* em amostras de três solos

As figuras 7 e 8 e os quadros 4, 5 e 6 apresentam o período de permanência efetiva do *M. anisopliae* no solo. A capacidade do fungo de infectar o estádio adulto e/ou de ninfas das cigarrinhas declinou à medida que o período de infestação foi ampliado, em todas as amostras de solos estudadas.

A patogenicidade de *M. anisopliae* decresceu, significativamente, a partir dos 15 dias de infestação. Entretanto, vários autores afirmam que o fungo pode se manter viável por longo período no solo. Assim é que MILLNER e LUTTON (15) constataram uma vida média de 547 dias, concluindo que *M. anisopliae* manteve sua patogenicidade. Os mesmos autores concluíram, também, que uma concentração de $6,6 \times 10^6$ conídios/g de solo é suficiente para causar 60% de infecção em uma população de *Rhopaea varreuxi* (Coleoptera:Scarabeidae).

Por outro lado, as reduções nas populações de *M. anisopliae* ocorridas neste ensaio (Quadro 6), entre os diversos períodos de infestação, não foram significativas. Até 15 dias após a infestação, a população de *M. anisopliae* permaneceu praticamente inalterada, apresentando ligeira redução no período compreendido entre 15 e 30 dias de infestação. Somente no intervalo compreendido entre 30 e 45 dias de infestação ocorreram maiores reduções no número de propágulos de *M. anisopliae*.

Em termos percentuais, as primeiras reduções na patogenicidade ocorreram a partir dos 15 dias de infestação, quando a patogenicidade foi reduzida de 73,33% para 27,23%, aos 30 dias, atingindo valores mínimos aos 45 dias de infestação, quando o percentual médio registrou 0,9% de insetos infectados pelo *M. anisopliae*.

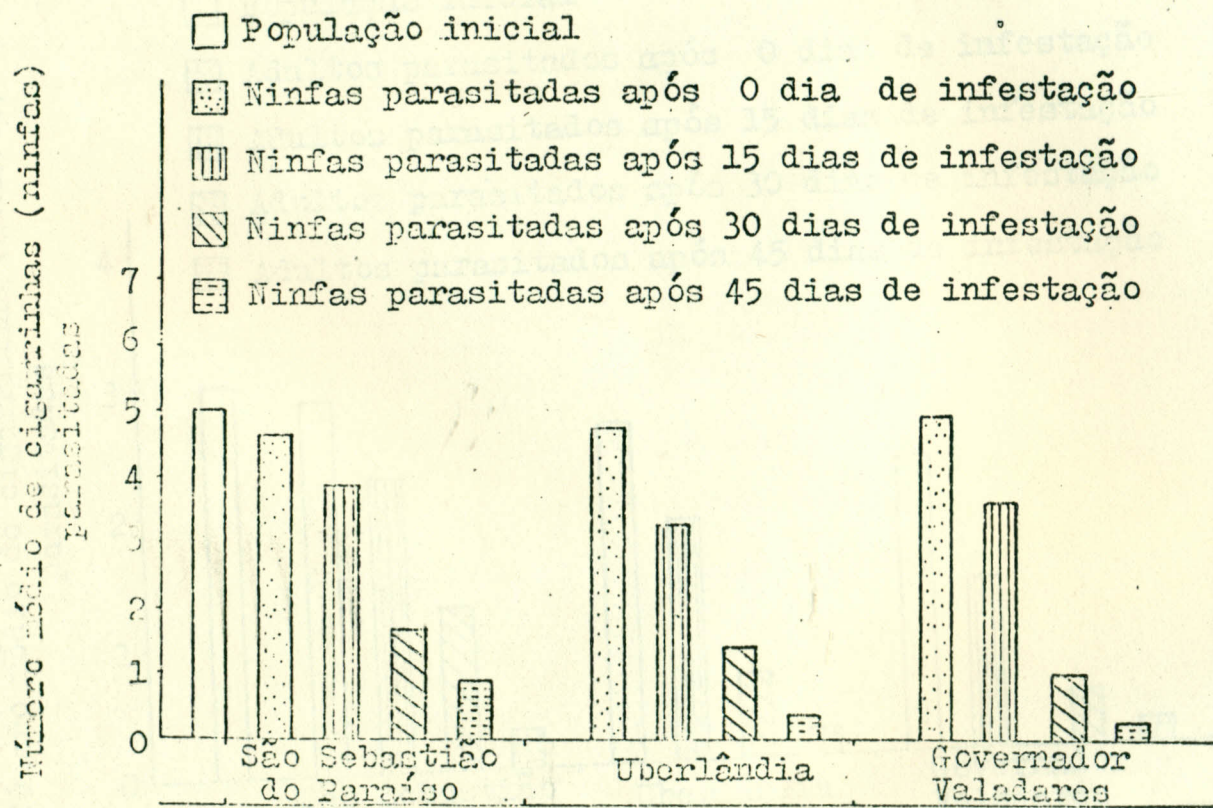


FIGURA 7 -- Número médio de ninfas das cigarrinhas das pastagens parasitadas por *M. anisopliac*, em amostras de três diferentes solos, após quatro períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981

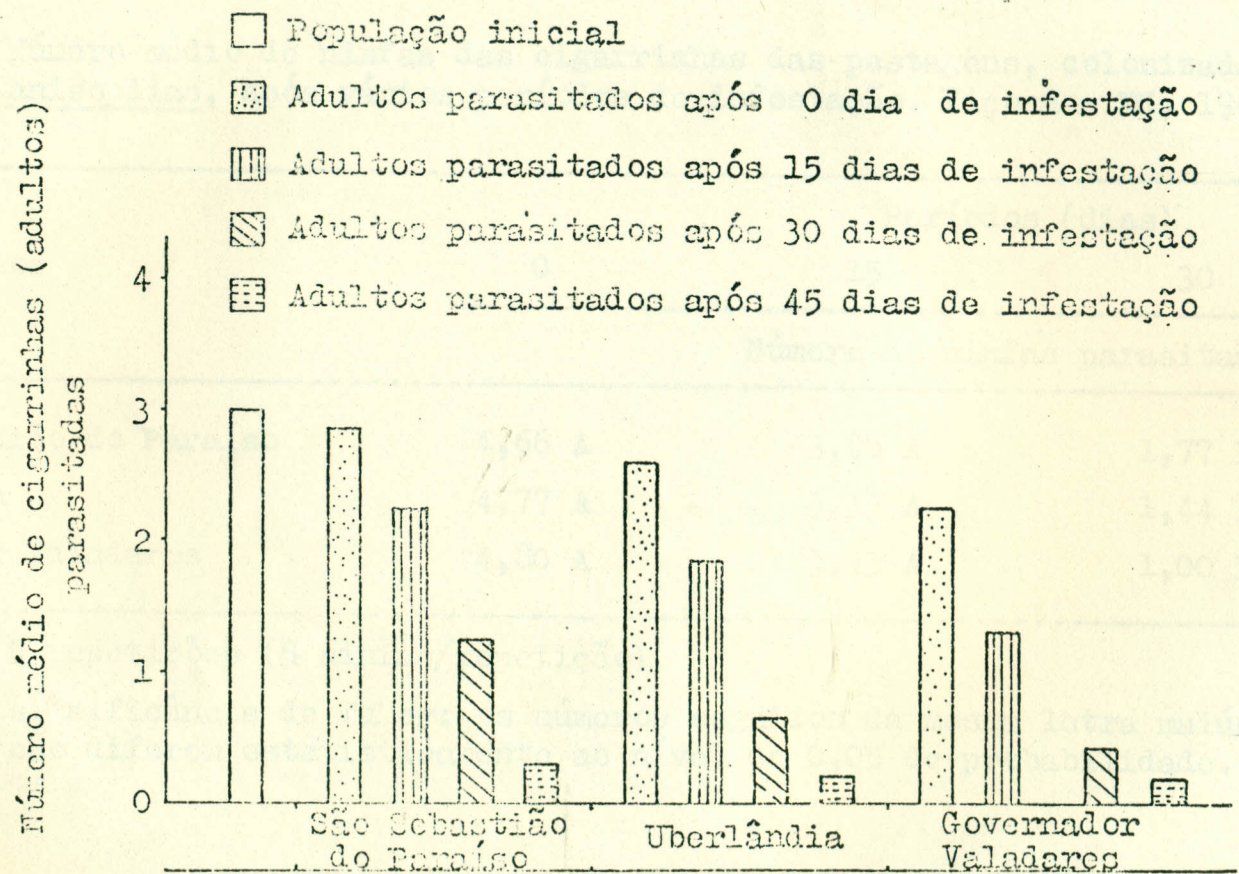


FIGURA 3 - Número médio de adultos das cigarrinhas das pastagens parasitadas por *M. anisoniiae*, em amostras de três diferentes solos, após quatro períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981.

QUADRO 4 - Número médio de ninfas das cigarrinhas das pastagens, colonizadas por Metarhizium anisopliae, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981

Solos	Períodos (dias)			
	0	15	30	45
	Número de ninfas parasitadas*			
São Sebastião do Paraíso	4,66 A	3,88 A	1,77 B	0,38 B
Uberlândia	4,77 A	3,33 A	1,44 B	0,33 B
Governador Valadares	4,80 A	3,55 A	1,00 B	0,22 B

* Média de 5 repetições (5 ninfas/repetição).

- Teste de significância de Tukey: os números seguidos da mesma letra maiúscula dentro da mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 0,05 de probabilidade.

QUADRO 5 - Número médio de adultos das cigarrinhas das pastagens, colonizados por Metarhizium anisopliae, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981

Solos	Períodos (dias)			
	0	15	30	45
	Número de adultos parasitados*			
São Sebastião do Paraíso	2,77 A	2,22 AB	1,22 B	0,33 BC
Uberlândia	2,66 A	1,88 A	0,55 B	0,22 B
Governador Valadares	2,22 A	1,33 AB	0,44 B	0,22 BC

* Média de 9 repetições (3 insetos/repetição).

- Teste de significância de Tukey: os números seguidos da mesma letra maiúscula dentro da mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 0,05 de probabilidade.

QUADRO 6 - Número médio de propágulos de Metarhizium anisopliae, reisolados de amostras de três solos, após vários períodos de infestação. Viçosa - MG, 1981

Solos	Períodos (dias)			
	0	15	30	45
Número de propágulos*				
São Sebastião do Paraíso	4,23	4,14	4,11	3,23
Uberlândia	4,13	4,12	4,10	3,25
Governador Valadares	4,20	4,17	4,11	3,26

* Representados pelo número de colônias em meio de cultura (média de 6 repetições) e expressos em número de colônias/g de solo seco, com transformação logarítmica (\log_{10}).

Portanto, para as condições em que foi realizado este ensaio, embora a população de M. anisopliae permanecesse no solo (Quadro 6), a capacidade de infectar foi reduzida, em todas as amostras de solo estudadas, na medida em que se prolongou o período de infestação.

O fato de não ter ocorrido redução significativa nas populações de M. anisopliae, enquanto a capacidade de infectar insetos foi reduzida à medida que o período de infestação foi prolongado, pode estar associado à ocorrência de fungistase. Segundo CLERK (4) e CLERK e MEDELIN (5), solos diferentes, a diferentes profundidades, podem oferecer diferentes intensidades de fungistase.

Segundo MASERA (14) e ROBERTS e CAMPBELL (23), M. anisopliae perde rapidamente a virulência e a viabilidade, quando em contato com solos naturais. Provavelmente, a redução na capacidade de infectar as cigarrinhas, quer seja estágio ninfal e/ou adulto, tenha sido por fungistase, ou seja, os conídios em contato com solo natural não germinaram, senão quando reisolados em meio estéril.

Dove-se ressaltar que a metodologia empregada para avaliar a eficiência do fungo entomógeno M. anisopliae, para infectar as cigarrinhas das pastagens (Zulia entropiana e/ou Deois schach), provavelmente não tenha sido a mais indicada. No caso específico do ensaio para avaliar o efeito sobre o estágio ninfal, as ninfas foram colocadas fora de seu habitat, ou seja, foram retiradas da região coleto-radicular das gramíneas e transferidas para laboratório, fazendo a produção de espuma, que as protege (contra predadores e parasitoides), sofrer solução de continuidade, expondo-as ao contato direto com propágulos de M. anisopliae.

Os resultados obtidos neste ensaio levam a deduzir que tão importante quanto é o período em que o fungo entomó-

geno M. anisopliae sobrevive no solo é também importante o período em que M. anisopliae se mantém no solo em condições de infectar, ou seja, o período que se mantém no solo sem sofrer ação de fungistase.

5. RESUMOS E CONCLUSÃO

Estudou-se a sobrevivência de M. anisopliae na rizosfera de quatro espécies de Brachiaria, em amostras de solo do Estado de Minas Gerais, determinando-se o período em que o fungo se mantém no solo em condições de infectar as cigarrinhas das pastagens, bem como a sua capacidade de competir saprofiticamente.

Os solos utilizados foram coletados em propriedades agrícolas dos municípios de Uberlândia, Pirapora, Rio Casca, Governador Valadares, Viçosa e São Sebastião do Paraíso. As espécies de Brachiaria estudadas foram: B. decumbens, B. ruziziense, B. humidicola e B. brizantha.

Os resultados obtidos nestes ensaios demonstraram que características físicas e químicas do solo podem influenciar na sobrevivência. Nos solos com menor percentual de matéria orgânica e/ou com níveis de acidez mais elevados, provavelmente tenha ocorrido pouca atividade microbiana, reduzindo a competição saprofítica exercida por populações de bactérias e de actinomicetos.

A influência do tipo de cobertura vegetal, na sobrevivência de M. anisopliae, pode ser explicada pela ação de diferentes exsudados radiculares. Provavelmente, nos solos da rizosfera das diferentes espécies de Brachiaria estudadas,

tenha ocorrido formação de microfloras, com diferentes capacidades de competir saprofiticamente. Assim é que na região da rizosfera, das gramíneas B. humidicola e B. brizantha, houve menor competição com o fungo entomógeno M. anisopliae.

Em todas as amostras de solo estudadas, mesmo considerando apenas o efeito antagônico de populações de fungos, o número de propágulos de M. anisopliae ficou reduzido, em pelo menos 50%, aos 45 dias de infestação, comportando-se como fraco competidor.

No que se refere à permanência efetiva no solo, a patogenicidade de M. anisopliae foi reduzida na medida em que o período de infestação se prolongava. A capacidade do fungo de infectar o estágio ninfal seguiu a mesma tendência para o estágio adulto.

Não obstante ter ocorrido redução na capacidade de infectar as cigarrinhas das pastagens, o número de propágulos de M. anisopliae não apresentou decréscimo significativo durante os diversos períodos de infestação. Provavelmente tenha ocorrido inibição da germinação dos propágulos de M. anisopliae no solo, sendo esta fungístase responsável pela redução no percentual de cigarrinhas infectadas, à medida que o período de infestação foi prolongado.

Verificou-se que a viabilidade do fungo entomógeno M. anisopliae no solo não é importante somente quando for maior o período de sobrevivência, mas também no período em que o fungo permanecer no solo mantendo a capacidade de infectar os insetos a que se pretende controlar.

Os resultados indicaram que o fungo M. anisopliae permanece no solo por um período relativamente longo, porém seus propágulos perdem rapidamente a capacidade de infectar as cigarrinhas das pastagens (Zulia entrecoriana e/ou Deois schach).

6. ABSTRACT

PEREIRA, J.C.R., M.S., Federal University of Viçosa, July of 1982. Survival of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin incorporated in soil. Advisor Professor: Geraldo Martins Chaves.

It was studied the survival of *Metarhizium anisopliae* in the rhizosphere of four species of *Brachiaria*, in samples of soil from the State of Minas Gerais. The period in which the fungus kept itself in the soil in condition to infect soil-borne froghopper in graminaceous was recorded; as well as its capacity to compete saprophytically, under field and laboratory conditions.

The soils utilized were collected from the region of Uberlândia, Pirapora, Governador Valadares, Rio Casca, Viçosa and São Sebastião do Paraíso. The species of *Brachiaria* studied were *B. decumbens*, *B. ruziziense*, *B. humidicola* and *B. brizantha*.

All the soils were studied in their natural forms, except in the case of the evaluation of the saprophytic competition when they were treated with antibiotics to make them selective to the populations of fungi, bacterias and actinomyces.

The rhizosphere of the species of *B. humidicola* and *B.*

brizantha showed larger populations of M. anisopliae with each type of soil.

The soils from Uberlândia and Pirapora presented larger populations of M. anisopliae placing in decreasing order the soils from Governador Valadares, Rio Casca and Viçosa, respectively.

In reference to the capacity of saprophytic competition, M. anisopliae behaved as a weak competitor. The greatest competition was conducted by populations of bacteria and actinomyces.

The pathogenicity of M. anisopliae was reduced while the time of infestation increased, presenting significant decrease on the 15 days of infestation, and becoming significant after 30 days of infestation.

The results indicate that the fungus M. anisopliae remains in the soil however it loses rapidly the capacity to infect soil-borne froghopper in graminaceous (Zulia entre-riana and/or Decois schach).

7. LITERATURA CITADA

1. ALLEN, O.N. Experiments in soil bacteriology. 3.ed. Minneapolis, Burges Publishing Co., 1959. 117 p.
2. BUCHER, G.E. & GORDON, E. The regulation and control of insects by fungi. Annales de la Société Entomologique de Québec. Item 3041/77, 1964.
3. CLARK, F.E. Association écologiques entre microorganismes du sol. In: Biologie des Sols. 7.ed. Paris, Unesco, 1969. p. 125-164.
4. CLERK, G.C. Influence of soil extracts on the germination of conidia of the fungi Beauveria bassiana and Paecilomyces farinosus. J. Invert. Path., 13:120-124, 1969.
5. CLERK, G.C. & MEDELIN, M.F. The longevity of conidia of three insect parasiting hyphomycetes. Trans. Brit. Mycol. Soc., 48:192-209, 1965.
6. DODSON, A.K. Ocorrência de cigarrinha dos canaviais, em canaviais de Santa Catarina. Brasil Açucareiro, 6:31-33, 1972.
7. EIDRAPA. Programa Nacional de Controle às Cigarrinhas das Pastagens. 1977. 26 p. (Mimeografado).
8. FERRON, P. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol., 23:409-442, 1978.
9. FERRON, P.; HURPIN, B. & ROBERT, P.H. Sur la spécificité de H. anisopliae (Metsch) Sorokin. Entomophaga, 17:165-173, 1972.

10. GAIJS, W. & ROZSYPAL, A. Metarhizium flavoviride N. sp isolated from insects and soil. Acta. Bot. Neerl., 22 (5):518-521, 1973.
11. GUAGLIUCCI, P. Inimigos naturais da cigarrinha Mahanarva fimbriolata Stal. Recife, Com. Comb. à Cig. nos Estados de PE e AL, 1:15-18, 1969.
12. LATCH, G.C.M. & FALLON, R.E. Studies on the use of M. anisopliae to control Oryctes shimoceros. Entomophaga, 21:39-48, 1976.
13. LATCH, G.C.M. Metarhizium anisopliae (Metschnikoff) Sorokin strains in New Zeland and their possible use for controlling inhabiting insects. N.Z. J. Agric. Res., 8:384-396, 1965.
14. MASERA, E. Metarhizium anisopliae (Metschnikoff) Sorokin parassita del Baco da seta Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin, a parasite of the silkworm. Rev. appl. Mycol., 36:527, 1957.
15. MILLNER, R.J. & LUTTON, G.G. Metarhizium anisopliae: survival of conidia in the soil. IX Annual Meeting on Invertebrate Pathology, Queen's University, Canada, 1976.
16. OLIVEIRA, D.P.; CHAVES, G.M. & GONDES, E.L. Sobrevivência do Metarhizium anisopliae (Metschn) Sorokin em rizosfera de gramíneas forrageiras. Theobroma, 10:193-202, 1980.
17. PARKINSON, D. & THOMAS, A. Studies on fungi in the root region, VII. Qualitatives studies on fungi in the rhizosphere of dwarf bean plants. Plant and Soil, 31(2): 299-310, 1969.
18. PEREIRA, J.C.R.; DHINGRA, O.D. & CHAVES, G.M. A selective medium por population estimations of Metarhizium in soil. Trans. Br. Mycol. Soc., 72:495, 1979.
19. PETERSON, E.A. Observations of fungi associated with plant roots. Can. J. Microbiol., 4:257-265, 1958.
20. POGGION, J. & TARDIEUX, P. Techniques d'analyse en microbiologie de sol. Editions de la Tourelle St. mandi seine, 1962. 111 p.

21. RAO, W.J.B.S. & VENKATARAMAN, K.V. Studies on the rhizosphere microorganisms of Wheat. Indian J. Agric. Sci., 33:163-173, 1963.
22. ROBERTS, D.W. Entomogenous fungi as microbial control agents: some areas for research emphasis. Seminar on Microbial Control of Insect Pests, Fukuoka, 1957.
23. ROBERTS, D.W. & CAMPBELL, Anny S. Stability of entomopathogenic fungi. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America, 10:13-75, 1977.
24. RCHAT, J.T. & KATNELSON, H. A study of bacteria on the root surface and in the rhizosphere soil of crop plants. J. Appl. Bact., 24:164-171, 1961.
25. ROVERA, A.D. Plant root excretion in relation to the rhizosphere effect. IV influence of plants species, age of plants, light, temperature and calcium nutrition on oxudation. Plant and Soil, 11:53-64, 1959.
26. ROVERA, A.D. A study the properties of root exudate and its effects on the grow of microorganisms isolated from the rhizosphere control soil. Plant and Soil, 2: 195-208, 1956.
27. RUSCHEL, A.P. & DOBEHEIMER, J. Bactérias assimióticas fixadoras de N na rizosfera de gramíneas forrageiras. II Congres. International de Pastagens, São Paulo, 1965.
28. SCHLIEFFENBERG, Bruno. Biological and environmental conditions for the development of mycoses caused by Beauveria and Metarhizium. J. Insect Path., 6:8-20, 1964.
29. SCHUMBERG, F. & KREUTZER, W.A. Nullification of Antagonism of Phoma betae by Bacillus subtilis var. niger in the soil and simulated rhizosphere. Phytopatology, 61: 1447-1450.
30. STARKER, R.L. Some influence of the development of higher plants upon microorganisms in the soil. II - Influence of the stage of plant growth upon abundance of microorganisms. Soil Sci., 27:355-378, 1929.

31. STARKEY, R.L. Some influence of the development of higher plants upon microorganisms in the soil. IV - Influence of proximity to roots on abundance and activity of microorganisms. Soil Sci., 32:367-393, 1931.
32. TIMMER, P.P.U. & SANDERS, F.E. Rhizosphere Microorganisms and Plant Nutrition. Soil Sci., 119:363-367, 1975.
33. TIMONINI, M.I. The interation of higher plants and soil microorganisms. III Effect of by - products of plant growth on activity of fungi and actinomicetes. Soil Sci., 52:395-413, 1941.
34. TOULANCEFF, C. Action of entomogenous fungi on the european corn borer (Pyrausta nubilalis Mun.). Rev. Appl. Mycol., 13:574, 1934.
35. TULLOCH, M. The genus Metarhizium. Trans. Br. Mycol. Soc., 66:407-411, 1976.
36. URS, H.V. & GOVINDU, H.C. Metarhizium anisopliae(Metsch) Sorokin and its host hange. Mycopath. Mycol. Appl., 44: 317-320 Ilins, 1971.
37. VERE, K.H. Reserches sur la maladie, due à Metarhizium anisopliae ches le criquet pèlerin. Meded. Landbouwnhogeschool, 68:1-17, 1968.
38. WALMAD, R.F. Effects of environmental conditions on two species of Muscardini fungi. Journal of Invertebrate Pathology, 16:221-226, 1970.
39. YENDOL, V.G. & ROBERTS, D.W. Is microbial control with entomogenous fungi possible? Proc. Inst. Colloquim Insect Pathol., IV College Park, Maryland, 1970.
40. YOUNG, E.C. The epizootiology of two pathogens of the coconut palm rhinoceros beetle. J. Invertbr. Pathol., 24:82-92, 1974.

QUANTO A - Alguns caracteres químicos e físicos dos solos analisados para avaliar a eficiência da aplicação de fertilizantes (NPK) com o objetivo de melhorar a produtividade do milho (*Zea mays* L.) em condições de cultivo em solo.

Dados de análise dos solos

Elementos analisados	Urbidão	Pira	Comissão	Itaó	Vipoca	Estreito
	diá	para	Valentim	Quara	do	Juruaçu
pH da água (p)	5,3	5,2	6,0	6,2	6,5	6,3
matéria orgânica (%) (y)	4,03	4,29		5,10	6,10	5,30
carvão (%) (y)	2,33	2,45		3,35	2,84	3,23
nitrogênio (%) (y)	0,13	0,13		0,21	0,22	0,26
fosforo (%) (y)	17,32	13,77		14,71	13,36	15,34
potássio (%) (y)	22	20		25	24	20
calcio (%) (y)	32	30		35	35	30
ácido sulfúrico (%) (y)	45	45,50		50,0	50,6	53,6

8. APÊNDICE

QUADRO 1A - Algumas características químicas e físicas dos solos utilizados para avaliar a sobrevivência do Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin incorporado no solo*

Fatores avaliados	Locais de origem dos solos					
	Uberlândia	Pirapora	Governador Valadares	Rio Casca	Viçosa	S. Sebastião do Paraíso
pH em água (x)	5,3	5,2	6,0	6,2	6,5	6,3
Matéria orgânica (%) (y)	4,03	4,29	5,36	5,10	5,10	5,20
Carbono (%) (y)	2,33	2,48	3,10	2,95	2,94	3,21
Hidrogênio (%) (v)	0,13	0,18	0,18	0,21	0,22	0,26
N (%)	17,92	13,77	17,22	14,04	13,36	12,34
Potássio (mEq/100 g de solo) (w)	92	58	220	115	104	180
Fósforo (ppm) (w)	12	10	42	35	45	60
Capacidade de saturação (%) (z)	46	49,50	50,50	56,5	52,6	53,8

* Análises efetuadas pelo Laboratório de Solos do Departamento de Solos e Nutrição Mineral de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 1981.

QUADRO 2A - Classificação textural dos solos utilizados para avaliar a sobrevivência do Metarhizium anisopliae (Metsch) Sorokin incorporado no solo*

Local de coleta	Areia grossa (%)	Areia fina (%)	Silte (%)	Argila (%)	Classificação textural*
Uberlândia	15	24	20	40	Franco-argiloso
Pirapora	15	43	20	22	Franco-argilo-arenoso
Governador Valadares	48	10	10	32	Franco-argilo-arenoso
Rio Casca	28	14	20	38	Franco-argiloso
Viçosa	28	13	13	46	Argila
São Sebastião do Paraíso	43	12	13	32	Franco-argilo-arenoso

* Baseado na classificação textural da Sociedade Brasileira de Ciências do Solo.

Análises efetuadas pelo Laboratório de Solos do Departamento de Solos e Nutrição Mineral de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 1981.