

INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA VIABILIDADE
DE CONÍDIOS DE *Metarhizium anisopliae*
(Metsch.) Sorokin

Gentil Sanches Corrêa ¹
João Lúcio de Azevedo ²

INTRODUÇÃO

Alguns insetos da Ordem Homoptera, família *Cercopidae*, conhecidos popularmente por "cigarrinhas", atacam a cana-de-açúcar e pastagens em geral. Isto vem se constituindo em sério problema para a Agricultura e Pecuária, especialmente em vários estados do Nordeste e Norte do Brasil.

Considerando as implicações no emprego de defensivos da lavoura e sobretudo pelos seus efeitos residuais nas culturas onde são aplicados, tem-se partido para a utilização do controle microbiológico através do fungo *Metarhizium anisopliae*.

Sabe-se atualmente que a reprodução e comportamento dos fungos são influenciados profundamente pela luz. LEACH (1971), estudando o efeito da luz sobre fungos, classificou o espectro da luz em três níveis: a) Ultravioleta curta (200-300nm); Ultravioleta longa (300 - 380 nm); b) Luz visível (380-750nm). Desde a década de 20 já se tem conhecimento de que a luz ultravioleta estimula a esporulação em numerosos fungos e acredita-se que estejam envolvidos pigmentos fotoreceptores pois, formas não pigmentadas são indiferentes à presença ou ausência de luz. A fotoesporogênese é conhecida em vários fungos entre os quais *Helminthosporium dematicideum*, *Stemphylium botryarum*, *Alternaria chrysantemi*, os quais são induzidos à esporulação por comprimento de onda de 230 a 360nm (LEACH, 1971).

Universidade Metodista de Piracicaba, SP.

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP,
Piracicaba.

METSCHNIKOFF & PAGE (1965) dividiram os efeitos da influência da luz, no crescimento de fungos em morfogenéticos, onde a luz induz ou inibe a formação de alguma estrutura e, não morfogenéticos, onde a luz influencia a taxa de direção do movimento de crescimento de uma estrutura ou a síntese de um composto. CHENG & CHEN (1962) verificaram que no fungo *Metarhizium anisopliae* a luz favorece a esporulação. VEEN (1967) verificou que a frutificação é melhor na luz difusa que na obscuridade. Para SANTOS (1978), a iluminação contínua aumentou dez vezes a produção de conídios, após 6 dias de incubação; o escuro total favoreceu o desenvolvimento micelial e em tratamentos alternados de 12 horas (luz-escuro) a produção de conídios foi intermediária. A mesma autora cita ainda que a luz ultravioleta é bastante efetiva em causar mortalidade dos conídios do fungo.

O presente estudo foi conduzido para determinar a viabilidade de conídios de *M. anisopliae*, quando colocados em dois tipos de solos diferentes, sendo um de textura arenosa e outro de textura argilosa. O objetivo foi verificar se havia diferenças e o grau de mortalidade sob a ação da luz ultravioleta nos dois tipos de solos ensaiados.

MATERIAIS E MÉTODOS

As linhagens utilizadas neste trabalho foram obtidas no Setor de Genética de Microrganismos da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo. São elas: A19, isolada de *Mahanarva posticata* em Salvador (Bahia); E6 e E9, isoladas de *Deois flavopicta* em Vitória (Espírito Santo); K, isolada de *Deois* sp. em Jaú (SP); e M isolada de *Deois* sp. (Amazonas). As amostras de solos utilizadas para ensaiar as linhagens foram obtidas e caracterizadas no Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, Piracicaba. O solo arenoso pertence à série Ibitiruna e o solo argiloso pertence à Série Pau D'Alho. A luz ultravioleta foi obtida de uma fonte de luz de ondas curtas equivalentes a 2537 Å.

Para verificar a viabilidade determinada através da germinação de conídios após radiação com ultravioleta no solo foram preparadas suspensões de conídios obtidos de colônias incubadas oito dias em placas de Petri contendo meio completo (NaNO_3 6g, KH_2PO_4 1,5g, KCl 0,5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5g, FeSO_4 0,01g, ZnSO_4 0,01g, glicose 10,0g, peptonina 2,0g, caseína hidrolizada 1,5g, extrato de leveduras 0,5g, solução de vitaminas 1,0g, hidrolizado de ácido nucleico de leveduras 2,5ml, ágar 15g, água destilada 1000ml e pH ajustado para 6,8 com NaOH 4%) de acordo com PONTECORVO *et al.* (1953) e modificado por AZEVEDO & COSTA (1973). A suspensão foi preparada em solução aquosa de Tween 80 (0,1% v/v), estimado seu número em hemátimetro para dar cerca de 10^6 conídios/ml; 1 ml dessa suspensão contendo os conídios já devidamente contados, foi diluído em 7 ml de solução salina, volume este necessário para deixar a amostra de solo ensaiada adequadamente umedecida. A quantidade de solo ensaiada foi de 20 gramas e foi colocada em placa de Petri e esterilizada por 20 minutos à pressão de uma atmosfera. Com uma pipeta de 10 ml foi devidamente distribuída a suspensão de conídios por toda a superfície do solo na placa de Petri. Após a distribuição dos conídios, as placas foram irradiadas a uma distância de 14cm da fonte de luz em tempos acumulados de 2'40" (dois minutos e quarenta segundos). Após 8 dias de incubação à temperatura ambiente foi preparada diluição do solo 1:10, pesando-se 10g de solo e colocadas em 90 ml de água destilada num erlenmeyer de 250ml conforme método de MARTIN (1950).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verifica-se pelos resultados dos quadros I e II que todas as linhagens ensaiadas apresentaram um decréscimo de germinação após a radiação. No solo da Série Ibitiruna, a média de sobrevivência foi em torno de 54% enquanto que o solo da Série Pau D'Alho, apresentou uma porcentagem de sobrevivência em torno de 37%.

Considerando as características morfológicas e químicas de ambos os solos, pode-se sugerir que no solo da

QUADRO I - Viabilidade determinada através da germinação de conídios de *M. anisopliae* na superfície do solo Ibitiruna após 2,40" de tratamento com luz U.V.

Linhagem	Contagem	% sobrevivência	
		Não irradiado	Irradiado
A19	3,36.10 ⁷	100	50,00
E6	4,20.10 ⁷	100	54,00
E9	5,36.10 ⁷	100	68,18
K	3,38.10 ⁷	100	53,29
M	3,37.10 ⁷	100	47,07

QUADRO II - Viabilidade determinada através da germinação de conídios de *M. anisopliae* na superfície do solo Pau D'Alho após 2,40" de tratamento com luz U.V.

Linhagem	Contagem	% sobrevivência	
		Não irradiado	Irradiado
A19	3,36.10 ⁷	100	24,52
E6	4,20.10 ⁷	100	54,10
E9	5,36.10 ⁷	100	47,97
K	3,38.10 ⁷	100	37,93
M	3,37.10 ⁷	100	42,56

linhagens ensaiadas, possivelmente, devido à textura do referido solo, que é bastante arenoso em relação ao solo da Série Pau D'Alho. Quanto à matéria orgânica, esta tem influência na germinação dos conídios agindo como substrato, sendo que quanto maior o teor de matéria orgânica do solo, ocorre maior número de conídios germinando com

mo verificaram CHAVES et al. (1981). Possivelmente, nesse experimento a matéria orgânica não teve qualquer efeito, visto que os solos ensaiados foram esterilizados. Verificou-se também que o pH deve ter influenciado muito pouco, visto que MASERA (1957) observou que o fungo *M. anisopliae* é capaz de persistir em solos que tenham pH entre 2,0 e 10,0.

Verifica-se pelos dados dos quadros III, IV, V e VI, que realmente a radiação ultravioleta tem efeitos cumulativos em relação à sobrevivência de conídios na superfície do solo. Pode-se verificar que, com 18 minutos e 40 segundos de radiação contínua, a média de sobrevivência, para as linhagens E₆ e E₉ no solo da Série Ibirituna foi de 25,77% e no solo da Série Pau D'alto foi de 12,20%. Esses dados confirmam os resultados anteriores em relação à natureza de ambos os solos, isto é, os solos arenosos apresentam propriedades que oferecem maior proteção aos conídios semeados. Possivelmente isso possa ser explicado considerando-se as características morfológicas de ambos os solos, isto é, os solos argilosos apresentam superfície mais lisa que os arenosos, fazendo com que um maior número de conídios fique diretamente exposto à radiação ultravioleta, ocorrendo conseqüentemente maior índice de mortalidade. Considerando-se a textura, verifica-se que nos solos arenosos predomina maior quantidade de macroporos em relação aos solos argilosos, proporcionando maior proteção, contra a radiação. FREIRE (1957) observou que os solos argilosos retêm com maior tensão o mesmo volume de água que os solos arenosos, diminuindo o teor de oxigênio livre do solo argiloso, dificultando a germinação do fungo.

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo verificar a influência da radiação ultravioleta, sobre a viabilidade de conídios de *M. anisopliae*. Foram ensaiados dois tipos de solos, um arenoso e um argiloso e cinco linhagens de fungo designadas por A₁₉, K, M, E₆ e E₉. A radiação ultravioleta foi obtida de uma fonte que emite ondas curtas equivalentes a 2.537 Å. Verificou-se que o

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

Tempo (min)	1ª Repetição %germinação	2ª Repetição %germinação	3ª Repetição %germinação	% média
0	100	100	100	100
2'40"	58,26	53,78	53,96	55,30
5'20"	45,21	43,18	39,68	42,69
8'	37,39	35,60	31,74	34,91
10'40"	27,82	28,78	26,19	27,59
13'20"	22,60	22,72	22,22	22,51
16'	17,39	18,18	17,46	17,67
18'40"	10,17	9,01	15,87	11,68

QUADRO IV - Efeito da luz ultravioleta na germinação de conídios de *M. anisopliae*, linhagem E₉ na superfície do solo Pau D'Alho.

Tempo (min)	1ª Repetição % germinação	2ª Repetição % germinação	3ª Repetição % germinação	% média
0	100	100	100	100
2'40"	37,80	48,35	55,81	47,32
5'20"	35,38	39,56	53,48	42,80
8'	34,41	34,06	43,34	37,93
10'40"	30,48	25,27	34,88	30,04
13'20"	24,39	23,07	30,03	25,89
16'	13,41	13,07	22,09	16,19
18'40"	10,97	12,08	15,11	12,72

QUADRO V - Efeito da luz ultravioleta na germinação de conídios de *M. anisopliae*, linhagem E₆ na superfície do solo Ibitiruna.

Tempo (min)	1ª Repetição % germinação	2ª Repetição % germinação	3ª Repetição % germinação	% média
0	100	100	100	100
2'40"	46,21	50,86	45,31	47,46
5'20"	44,69	46,55	39,34	43,69
8'	40,90	43,98	39,06	41,31
10'40"	27,12	41,37	38,28	38,92
13'20"	36,36	33,62	29,58	33,22
16'	33,33	32,75	28,90	31,66
18'40"	31,10	29,31	24,21	28,20

QUADRO VI - Efeito da luz ultravioleta na germinação de conídios de *M. anisopliae*, linhagem E₉ na superfície do solo Ibitiruna.

Tempo (min)	1ª Repetição % germinação	2ª Repetição % germinação	3ª Repetição % germinação	% média
0	100	100	100	100
2'40"	47,72	43,60	39,61	43,64
5'20"	44,48	40,16	36,43	40,35
8'	40,63	38,56	35,65	38,26
10'40"	38,44	34,42	31,00	34,62
13'20"	28,55	32,78	28,68	30,00
16'	26,35	26,22	24,03	25,53
18'40"	21,41	25,40	23,25	23,35

solo arenoso apresentou-se como mais eficaz em manter a viabilidade dos conídios do que o solo argiloso; verificou-se também que a viabilidade dos conídios foi afetada tanto em solo esterilizado como em solo natural, porém, decresceu mais pronunciadamente no solo natural.

SUMMARY

INFLUENCE OF ULTRAVIOLET RADIATION ON VIABILITY OF CONIDIA OF *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN

The present work was carried out aiming to study the influence of the radiation ultraviolet on conidium 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. Five different strains were also used (A₁₉, E₆, E₉, K and M), all of them collected from infected insects. Ultraviolet radiation was obtained from a source short wave equivalent to 2537 Å. It was shown that sandy soils were more effective in keeping the viability of conidia than clay soils. It was observed also that sterilized soils maintained a higher conidium survival than natural soils.

LITERATURA CITADA

AZEVEDO, J.L. & S.O.P. COSTA, 1973. **Exercícios práticos de Genética**, São Paulo, Ed. Universidade de São Paulo, 288p.

CHAVES, G.M., D.P. OLIVEIRA & G.E. LOURES, 1981. Estudo comparativo da sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin em diferentes tipos de solos. *Revista Theobroma* 11: 233-239.

CHENG, W.Y. & C.B. CHEN, 1962. Preliminary studies on Green Muscardine fungus. Report of Taiwan Sugar Experimental Station, 29: 72-73. Apud: VEEN, K.H. Re-

pliae chez le criquet pelerin. **Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen** 68: 1-77.

- FREIRE, J.R.J., 1975. **Microbiologia do solo**, apostila, 234p. Departamento de Solos da Faculdade de Agronomia da UFRGS, Porto Alegre.
- LEACH, C.M., 1971. A practical guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. In: **Methods in Microbiology**, volume 4, 609-664, London, Academic Press.
- MARTIN, J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. **Soil Science** 69: 215-232.
- MASERA, F., 1957. *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, a parasita del baco da seta. **Annali della Spezzimentazione Agraria** 11: 281-295.
- METSCHNIKOFF, E. & R.M. PAGE, 1965. The physical environment for fungal growth. Light. In: **The fungi**, vol. 2, AINSWORTH, G. and A. SUSSMAN, 559-574, New York, Academic Press.
- PONTECORVO, G., J.A. ROPER, L.M. HEMMONS, K.D. McDONALD & A.W.J. BUFTON, 1953. The genetics of *Aspergillus nidulans*. **Advances in Genetics** 5: 141-233.
- SANTOS, A.L.L., 1978. Influência de alguns fatores no crescimento, germinação e nodulação de conídios de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Piracicaba, ESALQ/USP, 148p. (Tese de Mestrado).
- VEEN, K.H., 1967. A technique for monospore cultures and the determination of nucleus numbers in *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology** 9: 276-278.