

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA EXTRAÇÃO FÍSICA DE
CONÍDIOS DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* E *BEAUVERIA*
BASSIANA PARA FORMULAÇÃO PÓ SECO E
MOLHÁVEL DE BIOINSETICIDAS

J.E.M. Almeida, T.C. Rocha*, A. Batista Filho

Instituto Biológico, Centro Experimental Central, CP 70, CEP 13001-970, Campinas, SP, Brasil. E-mail: jemalmeida@biologico.sp.gov.br

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método físico de extração de conídios de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* do meio de cultura grãos de arroz pré-cozidos com inertes por agitação. Avaliou-se o efeito abrasivo dos seguintes inertes aos grãos com conídios: Caulin SAZ, Caulin ML, Filito Cremogeo, Argila Lopes, Diatomita e Leucita Calcinada, em diferentes tempos de agitação. Os resultados obtidos indicaram que a Diatomita foi mais eficaz para extração de conídios de *M. anisopliae* e a peneira comum como Testemunha para *B. bassiana*.

PALAVRAS-CHAVE: Formulação, controle biológico, fungos entomopatogênicos.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A PHYSICAL EXTRACTION METHODOLOGY FOR CONIDIA OF *METARHIZIUM ANISOPLIAE* AND *BEAUVERIA BASSIANA* FOR BIOINSECTICIDE FORMULATIONS. This study was aimed at developing a physical extraction method of *M. anisopliae* and *B. bassiana* conidia from precooked rice culture media by agitation with inert. Evaluation was made of the abrasive effect of the following inert: Caulin SAZ, Caulin ML, Filito Cremogeo, Argila Lopes, Diatomita and Leucita Calcinada, at different times of the agitation. It was verified that Diatomita was the most efficient for *M. anisopliae* conidia extraction and the sieve for *B. bassiana*.

KEY WORDS: Formulation, biological control, entomopathogenic fungi.

Os fungos entomopatogênicos são os mais estudados e utilizados no controle microbiano de pragas devido sua especificidade, seletividade, compatibilidade com outros métodos e segurança ambiental. Porém, ainda existem limitações para a aplicação desses, tais como a produção massal e a forma de conservação que permita a manutenção da patogenicidade e virulência pelo menos por dois anos, em condições de fácil armazenamento e aplicação. O desenvolvimento de formulações é fundamental para bioinseticidas de origem fúngica.

Segundo BATISTA FILHO *et al.* (1998), a formulação de um agente de controle microbiano tem como objetivo liberar o ingrediente ativo em uma forma apropriada de uso, de fácil aplicação, com alta eficiência e baixo custo. Por isso, um inseticida microbiano deve ser produzido, formulado e estabilizado, a fim de que as condições do ambiente de armazenamento não afetem as propriedades inseticidas. Portanto, para tor-

nar a sua exploração comercial viável, o inseticida microbiano deveria permanecer estável por 20 a 24 meses em condições ambiente.

Outro fator que está diretamente ligado à formulação é a produção de fungos em escala comercial, que deve levar em consideração a formulação final do produto, levando em conta: o tipo de propágulo produzido; certos tratamentos dados aos microrganismos durante a produção; materiais adequados para uso no meio de cultura; separação dos propágulos do meio de cultura; outros aspectos próprios de cada patógeno e formulação. Além disso, o sistema de produção deve minimizar a manipulação necessária para a obtenção do produto final (ALVES *et al.*, 1987; ALVES; PEREIRA 1989; ALVES; PEREIRA 1998).

Novos estudos de formulações das principais espécies de fungos, utilizados no controle de pragas precisam ser realizados, principalmente as formulações partindo do próprio meio de cultura (pó molhável,

*Bolsista CNPq/PIBIC.

pó seco e suspensões concentradas) e as formulações à base de óleo emulsionável. Outro fator importante na formulação de fungos é a liberação dos conídios do meio de cultura de arroz pré-cozido, o que facilitaria a elaboração de formulações de todos os tipos, de modo a obter maior proteção dos conídios.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de inertes para extração física dos conídios de *M. anisopliae* e *B. bassiana* do meio de cultura sólido arroz pré-cozido.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental Central do Instituto Biológico, localizado no Município de Campinas, São Paulo.

Para a produção de conídios puros de *M. anisopliae* e *B. bassiana*, utilizaram-se 20 kg de arroz pré-cozido para cada fungo, empregando o método da bandeja (ALVES; PEREIRA, 1989).

Para os testes de extração dos conídios dos fungos foram utilizados os seguintes inertes:

Caulin SAZ, Caulin ML, Filito Cremogeo, Argila Lopes, Diatomita e Leucita Calcinada. A peneira de arroz comum foi usada como tratamento Testemunha.

Os inertes foram utilizados nas proporções de 15% e 25% de 200 g de arroz pré-cozido com o fungo, nos tempos de agitação de 1 e 3 minutos em sacos de polietileno. Após a agitação de cada tratamento, procedeu-se a separação do inerte com os conídios do fungo dos grãos de arroz através de peneira malha 100.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 26 tratamentos e 3 repetições para cada fungo. Como testemunha utilizou-se o peneiramento simples dos grãos com fungo. Para a avaliação da eficiência de extração de conídios lavou-se 1 g de arroz processado na extração, em 10 mL de água estéril, seguido de agitação por 1 minuto e contagem de conídios em câmara de Neubauer.

Tabela 1 - Número de conídios de *Metarhizium anisopliae* em 1 g de arroz pré-cozido após o processamento com diferentes inertes e tempo de agitação.

Tratamento	Médias (Conídios x 10 ⁷)*
Caulin ML 25% - 3 min	7,83 a
Argila Lopes 15% - 1 min	7,60 ab
Leucita Calcinada 25% - 1 min	7,60 ab
Leucita Calcinada 15% - 1 min	7,40 ab
Argila Lopes 15% - 3 min	7,20 ab
Filito Cremogeo 15% - 1 min	6,30 ab
Caulin ML 25% - 1 min	6,16 abc
Peneira Freezer	5,86 abc
Caulin SAZ 25% - 1 min	5,66 abc
Leucita Calcinada 25% - 3 min	5,66 abc
Argila Lopes 25% - 3 min	5,40 abcd
Peneira seco	5,23 abcd
Filito Cremogeo 15% - 3min	5,16 abcd
Caulin SAZ 15% - 3 min	4,76 abcde
Caulin SAZ 15% - 1 min	4,73 abcde
Caulin ML 15% - 1 min	4,73 abcde
Filito Cremogeo 25% - 1 min	4,73 abcde
Caulin ML 15% - 3 min	4,53 abcdef
Argila Lopes 25% - 1 min	4,26 abcdef
Leucita Calcinada 15% - 3 min	4,00 bcdef
Caulin SAZ 25% - 3 min	4,00 bcdef
Filito Cremogeo 25% - 3 min	2,50 cdef
Diatomita 25% - 1 min	1,96 def
Diatomita 15% - 1 min	1,83 def
Diatomita 25% - 3 min	1,13 ef
Diatomita 15% - 3 min	0,94 f

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV = 26%.

Tabela 2 - Número de conídios de *B. bassiana* em 1 g de arroz pré-cozido após o processamento com diferentes inertes e tempo de agitação.

Tratamento	Médias (Conídios x 10 ⁷)*
Caulin ML 15% - 1 min	12,31 ± 1,18 a
Caulin SAZ 25% - 3 min	11,85 ± 1,92 ab
Filito Cremogeo 25% - 3 min	11,54 ± 2,50 ab
Caulin SAZ 25% - 1 min	10,62 ± 2,13 ab
Caulin SAZ 15% - 1 min	10,59 ± 1,72 ab
Caulin ML 15% - 3 min	10,03 ± 2,04 ab
Diatomita 15% - 3 min	9,30 ± 0,63 ab
Argila Lopes 15% - 1 min	8,99 ± 0,63 ab
Caulin SAZ 15% - 3 min	8,95 ± 1,55 ab
Filito Cremogeo 15% - 1 min	8,72 ± 0,84 ab
Caulin ML 25% - 1 min	8,54 ± 1,43 ab
Argila Lopes 25% - 3 min	8,02 ± 0,93 ab
Caulin ML 25% - 3 min	7,95 ± 1,21 ab
Leucita Calcinada 25% - 1 min	7,83 ± 0,86 ab
Leucita Calcinada 15% - 1 min	7,56 ± 1,24 ab
Argila Lopes 25% - 1 min	7,28 ± 1,18 ab
Diatomita 15% - 1 min	6,84 ± 1,00 ab
Leucita Calcinada 25% - 3 min	6,68 ± 0,66 ab
Diatomita 25% - 3 min	6,50 ± 0,68 ab
Filito Cremogeo 15% - 3 min	6,32 ± 1,05 ab
Leucita Calcinada 15% - 3 min	6,06 ± 0,72 ab
Filito Cremogeo 25% - 1 min	5,87 ± 1,04 ab
Argila Lopes 15% - 3 min	5,80 ± 0,85 ab
Diatomita 25% - 1 min	5,37 ± 0,49 ab
Peneira	4,89 ± 0,37 b

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. CV = 27%.

Para *M. anisopliae*, a Diatomita em todas as concentrações e tempos de agitação, diferenciou-se dos demais tratamentos, obtendo-se de 0,9 a $1,9 \times 10^7$ conídios por grama de arroz pré-cozido, enquanto que no tratamento Caulin ML 25% em agitação por 3 minutos, a contagem de conídios em 1 grama de arroz pré-cozido foi de $7,8 \times 10^7$ conídios (Tabela 1). A maior parte dos inertes não se diferenciou do tratamento com peneira somente, demonstrando que não são interessantes para a aplicação de extração de conídios ou para a formulação direta, a partir da extração.

O tratamento com inerte Filito Cremogeo 15% a 3 minutos também produziu uma extração razoável de conídios de *M. anisopliae*, sendo considerado menos abrasivo do que a Diatomita, podendo ser mais interessante na aplicação de formulações a partir da extração de conídios.

Para o fungo *B. bassiana*, verificou-se que a Peneira Comum diferenciou-se apenas do tratamento Caulin ML 15% - 1 min (Tabela 2), indicando que o uso de inertes abrasivos são ineficazes no tratamento desse fungo tanto para uso em extração de conídios como para a formulação direta, a partir da extração.

Os inertes Diatomita 25%, Argila Lopes 15% e Filito Cremogeo 15% também produziram uma extração razoável de conídios nos 2 tempos de extração, apesar da Peneira ter extraído mais conídios. Todavia, ao se trabalhar com formulações em uma linha industrial a eliminação de uma etapa significa redução de custos. Portanto, mesmo que haja uma pequena perda na extração de conídios, a aplicação direta de

inertes, tais como a Diatomita, ou Argila Lopes ou Filito Cremogeo é uma vantagem para a formulação de *B. bassiana*.

O fungo *M. anisopliae* é mais fácil de se desprender dos grãos de arroz utilizados como meio de cultura, já que a quantidade de conídios encontrados nos grãos lavados é menor que o fungo *B. bassiana*, que possui maior aderência, necessitando de maior agitação e/ou abrasamento para melhorar a extração.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B.; SLVEIRA NETO, S.; PEREIRA, R.M.; MACEDO, N. Estudo de formulações do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em diferentes condições de armazenamento. *Ecossistema*, v.12, p.78-87, 1987.
- ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. *Ecossistema*, v.14, p.188-92, 1989.
- ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Ed. Fealq, 1998. cap. 27, p.845-869.
- BATISTA FILHO, A.; ALVES, S.B.; ALVES, L.F.A.; PEREIRA, R.M.; AUGUSTO, N.T. Formulação de entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: Ed. Fealq, 1998. cap.30, p.917-965.

Recebido em 15/9/06

Aceito em 8/11/07