

EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE CARBONO E NITROGÊNIO NA PRODUÇÃO DE *SPOROTHRIX INSECTORUM* EM FERMENTAÇÃO LÍQUIDA AERÓBICA

A. Batista Filho¹, J.E.M. Almeida², C. Franklin^{2*}, L.G. Leite², L.F.A. Alves³

¹Centro Experimental Central do Instituto Biológico, CP 70, CEP 13001-970, Campinas, SP, Brasil. E-mail: batistaf@biologico.sp.gov.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi de estudar o efeito da concentração de nitrogênio e carbono sobre a multiplicação do fungo *Sporothrix insectorum*, bem como avaliar a produção de biomassa (blastosporos e corpos hifais) do fungo em meios de cultura líquido constituídos por subprodutos agroindustriais. A avaliação da concentração de nitrogênio e carbono foi realizada usando a combinação de ácido casamínico como fonte de nitrogênio e dextrose como fonte de carbono, nas proporções de 60, 40, 20 e 10 g/litro de água. Avaliou-se a biomassa (g) e o número de corpos hifais e blastosporos aos 2, 4, 6 e 8 dias. Após a determinação do balanceamento mais adequado, avaliaram-se os meios alternativos do mesmo modo, sendo estes: levedura de cerveja, leite em pó, proteína de soja, extrato de levedura + sacarose, caldo de feijão e leite de soja, balanceados para aproximadamente 60 g de nitrogênio/L e 20 g carbono/L. Verificou-se que o fungo *S. insectorum* exige uma quantidade de nitrogênio de no mínimo 6% do meio de cultura para uma produção considerada aceitável de biomassa, blastosporos e corpos hifais. Os meios de cultura caldo de feijão (100 g/L), extrato de levedura (10 g/L) + glicose (20 g/L), ácido casamínico (60 g/L) + glicose (20 g/L), leite em pó (200 g/L) e levedo de cerveja (164 g/L) permitem uma alta produção de biomassa, corpos hifais e blastosporos de *S. insectorum* em 8 dias de fermentação líquida. O levedo de cerveja (164 g/L) é o meio mais viável para a produção de *S. insectorum* a custo de R\$ 1,35/L.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, *Leptopharsa hevea*, *Sporothrix insectorum*, seringueira, meio de cultura.

ABSTRACT

EFFECT OF DIFFERENT CARBON AND NITROGEN SOURCES ON PRODUCTION OF THE *SPOROTHRIX INSECTORUM* ON LIQUID AEROBIC FERMENTATION. The aim of this study was to evaluate the effect of concentration of nitrogen and carbon for production of *Sporothrix insectorum* on liquid aerobic fermentation with alternative media. Casamino acid and dextrose were used to evaluate for concentrations of nitrogen and carbon, using different combinations: 60, 40, 20 and 10 g/L water. Evaluations were made of biomass (g), blastospores and hyphae on day 2, 4, 6 and 8. After the determination of better concentrations of nitrogen and carbon for the production of *S. insectorum*, evaluated alternative media with same concentrations the protein and carbohydrate: beer yeast, powder milk, soybean protein, bean, soybean milk and yeast extract + sucrose, with 60 g nitrogen/L and 20 g carbon/L. *S. insectorum* needs 6% of nitrogen for better development. The bean (100 g/L), yeast extract (10 g/L) + sucrose (20 g/L), casamino acid mediums (60 g/L) + Dextrose (20 g/L), Powder Milk (200 g/L) and Beer Yeast (164 g/L) produced more than 7×10^9 blastospores and propagates/mL and a good biomass in 8 days. The beer yeast (164 g/L) is the best for production of *S. insectorum* because its cost is R\$ 1,35/L.

KEY WORDS: Biological control, *Leptopharsa hevea*, *Sporothrix insectorum*, rubber tree.

² Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, Campinas, SP, Brasil.

³ UNIOESTE, Cascavel, PR, Brasil.

*Bolsista do CNPq.

INTRODUÇÃO

O Estado de São Paulo destaca-se como o maior produtor de látex no Brasil, sendo que a heveicultura caracteriza-se como uma cultura de grande importância sócio-econômica, ocupando uma área de aproximadamente 40.000 ha, explorada por mais de 2.000 pequenos e médios produtores, concentrados, principalmente, na região de São José do Rio Preto (MARTIN, 1996; GONÇALVES, 2002).

Os problemas fitossanitários associados à cultura da seringueira são de grande importância, mas, pouca pesquisa tem sido feita na área de entomologia, razão pela qual existem poucas informações nesta área. A partir do início da década de 90, a ocorrência freqüente de ácaros e insetos em seringais paulistas passou a causar preocupação nos heveicultores (BATISTA FILHO *et al.*, 1998; TANZINI, 1999).

O percevejo-de-renda, *Leptopharsa heveae*, que era praga somente em regiões do Centro-Oeste e Norte do país, foi introduzido no Estado de São Paulo em 1994 (BATISTA FILHO, 1995), passando a ocorrer em altos níveis populacionais, sendo estimada em 30% a redução na produção de látex, devido ao ataque do percevejo-de-renda da seringueira (GLOBO RURAL, 1994).

Os adultos e ninfas de *L. heveae* permanecem na página inferior das folhas jovens e adultas, sugando a seiva e destruindo o parênquima, reduzindo a atividade fotossintética e produzindo lesões, predispondo ao ataque de microrganismos nos seringais (CABRERA, 1973; MOREIRA, 1985).

Neste sentido, em 1986 foi constatada em Manaus, AM, a ocorrência do fungo *Sporothrix insectorum* causando altos níveis de infecção na população do percevejo-de-renda (CELESTINO FILHO & MAGALHÃES, 1986).

Esse fungo tem sido produzido em larga escala em condições de laboratório, utilizando-se como substrato o arroz pré-cozido, embora a produção em meio líquido seja também explorada e apresente grande potencial (JUNQUEIRA *et al.*, 1997).

Considerando a importância da cultura, do ponto de vista econômico e social e a crescente preocupação dos heveicultores das principais regiões produtoras, com relação ao ataque do percevejo-de-renda, e a necessidade de fomentar um programa de controle biológico dessa praga como forma de evitar o desequilíbrio ecológico, este trabalho teve por objetivo estudar o efeito da concentração de nitrogênio e carbono sobre a multiplicação do fungo *S. insectorum* e a produção de blastosporos e corpos hifais do fungo em meios de cultura líquidos constituídos por subprodutos agroindustriais.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo de concentrações de fontes de nitrogênio e carbono visando o aumento da produção de blastosporos de *S. insectorum*.

Foi utilizado o isolado IBCB 79 de *Sporothrix insectorum* de *Leptopharsa heveae* proveniente de Itiquira, MT, armazenado na Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos "Oldemar Cardim Abreu" do Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico.

Foram preparados meios de cultura líquido, tendo como fonte de Nitrogênio o ácido casamínico e de Carbono a glicose, nas concentrações de 60, 40, 20 e 10 g/L de cada substância. Os meios correspondiam a diferentes combinações entre si das concentrações citadas, sendo preparados para cada combinação, 5 frascos erlenmeyer de 250 mL de capacidade, contendo 100 mL do meio, que após esterilização em autoclave durante 20 minutos a 120°C, receberam um inóculo do fungo *S. insectorum*, proveniente de 9 mm de colônias produzidas em BDA, com 7 dias de idade.

Os frascos foram incubados por 8 dias em câmara incubadora-agitadora, regulada para 50 rpm e 25°C. Diariamente foram tomadas, em condições assépticas, amostras de 5 mL do meio de cultura divididas em duas subamostras, sendo 1 mL analisado em microscópio óptico para estimar a concentração de blastosporos, em câmara de Neubauer, e outra de 4 mL destinados à determinação do peso da biomassa.

Para tal, discos de papel-filtro de 8 cm de diâmetro, previamente secos em estufa regulada para 60°C, durante 24 horas, e mantidos por 12 horas em um dessecador com sílica gel foram pesados e, em seguida utilizados na filtragem do meio de cultura, em um funil de Buchner. O papel de filtro com micélio, foi colocado em estufa a 40°C por 12 horas e depois foi novamente pesado. Como comparação para a produção de biomassa, foram preparados frascos contendo meio de cultura não inoculados. O procedimento foi repetido após 2, 4, 6 e 8 dias da inoculação.

O delineamento experimental foi fatorial, com 16 combinações de fontes de Nitrogênio e Carbono e quatro tempos de avaliação. Os dados obtidos foram analisados pelo teste de Tukey a 5%, por meio do programa SPSS 11.1.

Seleção das fontes de nitrogênio e carbono para a produção de *Sporothrix insectorum*

Utilizando-se as mesmas concentrações de Carbono e Nitrogênio obtidas nos três melhores meios utilizados na etapa anterior e adotando-se a mesma metodologia, foram preparados 6 novos meios de cultura por tratamento, que foram comparados com o ácido casamínico e glicose, nas concentrações que mais se destacaram na etapa anterior, como é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Meios de cultura padrões e alternativos avaliados para a produção de *Sporothrix insectorum*, em condições de laboratório (25° C e 50 rpm).

Composição	Concentração de Carbono e Nitrogênio
60 g/L de ácido casamínico e 60 g/L de glicose*	6 g de Nitrogênio e 60 g de Carbono
60 g/L de ácido casamínico e 20g/L de glicose*	6 g de Nitrogênio e 20 g de Carbono
20 g/L de extrato de levedura e 20 g/L de dextrose*	15 g de Nitrogênio e 20 g de Carbono
100 g/L de leite de soja	42 g de Nitrogênio e 28 g de Carbono
143 g/L de leite de soja,	60 g de nitrogênio e 40g de carbono
100 g/L de levedura de cerveja	36,5 g de Nitrogênio e 46 g de Carbono
164 g/L de levedura de cerveja	60 g de nitrogênio e 75 g de carbono
67 g/L de proteína de soja e como fonte de carbono, 20 g/L de sacarose	67 g de Nitrogênio e 20 g de Carbono

*Meios de cultura considerados padrão

Tabela 2 - Meios de cultura alternativos avaliados para a produção de *Sporothrix insectorum*, em condições de laboratório (25° C e 50 rpm).

Composição	Concentração de Carbono e Nitrogênio
100 g /L de feijão cozido	55 g de Nitrogênio e 25 g de Carbono
60 g/L de ácido casamínico e 20g/L de glicose	6 g de Nitrogênio e 20 g de Carbono
200 g/L de leite em pó	50 g de Nitrogênio e 30 g de Carbono
10 g/L de extrato de levedura e 20g/L de dextrose	7,5 g de Nitrogênio e 20 g de Carbono
164 g/L de levedura de cerveja	60 g de nitrogênio e 75 g de carbono

A partir dos resultados obtidos no experimento anterior, foram selecionados dois meios que se destacaram na produção do fungo que foram comparados com outros três meios, como consta na Tabela 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo de concentrações de fontes de nitrogênio e carbono visando o aumento da produção de blastosporos de *S. insectorum*.

Quanto à produção de biomassa, verificou-se que a combinação de 60 g/L de ácido casamínico e 60 g/L de glicose permitiu a produção de maior número de biomassa (peso seco) durante todo o período de avaliação. Observou-se, também, que nas concentrações mais baixas (20 e 10 g) de ácido casamínico, a produção de biomassa foi menor, diferenciando-se das maiores concentrações (60 e 40 g) (Tabela 3).

Com relação à produção de blastosporos e corpos hifais, verificou-se que aos 2 dias de avaliação, os tratamentos 40 g - 60 g; 40 g - 40 g e 40 g - 20 g de ácido casamínico e glicose respectivamente, produziram maior quantidade de corpos hifais, diferenciando-se dos demais tratamentos. Já, aos 4, 6 e 8 dias de avaliação, o tratamento 60 g de ácido casamínico de 20 g de glicose produziu uma

quantidade superior de corpos hifais e blastosporos, diferenciando-se dos demais. (Tabela 4). Verificou-se também que os tratamentos com menores quantidades de fonte de Nitrogênio (ácido casamínico) foram os menos adequados para a produção de biomassa, corpos hifais e blastosporos, demonstrando-se que *S. insectorum* exige maior quantidade de proteína para o seu desenvolvimento. Tal resultado difere do observado para outros fungos Deuteromicetos como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, que necessitam de maior quantidade de fontes de Carbono (glicose, amido etc.) e não de proteína, para que possam se desenvolver plenamente (ALVES, 1998).

Seleção das fontes de nitrogênio e carbono para os meios de cultura de *Sporothrix insectorum* alternativos

Com relação à produção de biomassa, verificou-se que o tratamento com 164 g de levedura de cerveja diferenciou-se dos demais, produzindo maior quantidade de biomassa, seguido dos tratamentos 100 g de levedura de cerveja e com leite de soja. Os tratamentos com ácido casamínico e extrato de levedura foram os que produziram menor quantidade de biomassa (micélio) (Tabela 5).

Verificou-se ainda que o tratamento 164 g de levedura de cerveja produziu maior quantidade de corpos hifais e blastosporos, diferenciando-se dos demais tratamentos. A seguir, o tratamento 100 g de levedura de cerveja e os tratamentos com Leite de soja e proteína de soja + sacarose produziram maior quantidade de corpos hifais e blastosporos. Os tratamentos com ácido casamínico e extrato de levedura produziram quantidades menores de corpos hifais e blastosporos, sendo diferentes dos demais tratamentos (Tabela 6).

Estudo com outros meios de cultura de *S. insectorum* para seleção das fontes de nitrogênio

Com relação à biomassa, verificou-se que o levedo de cerveja permitiu a produção de maior número de biomassa (peso seco) durante todo o período da avaliação, bem como nos experimentos anteriores. O meio a base de caldo de feijão produziu biomassa em quantidade diferenciada dos meios com extrato de levedura, leite em pó e o ácido casamínico (Tabela 7).

Tabela 3 - Médias da biomassa do fungo *Sporothrix insectorum*, nos 2º, 4º, 6º e 8º dias após a inoculação (g/4mL).

Tratamento	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
60g-60 g	0,12±0,01 a A	0,13±0,02 a A	0,12±0,01 a A	0,10±0,02 a A
60g-40 g	0,09±0,08 ab A	0,11±0,01 ab A	0,07±0,02 bc B	0,08±0,01 ab B
60g-20 g	0,08±0,02 bc A	0,09±0,01 bc A	0,07±0,01bcd B	0,07±0,02 abc B
60g-10 g	0,08±0,01 bc A	0,08±0,01 cd A	0,06±0,01cdef B	0,06±0,01 bc B
40g-60 g	0,09±0,01 bc A	0,12±0,01 bc A	0,09±0,01 ab A	0,08±0,01 ab B
40g-40 g	0,08±0,02 bc A	0,07±0,02 cde A	0,06±0,01bcdeA	0,06±0,01 bcd A
40g-20 g	0,06±0,01 cd A	0,07±0,01 f A	0,04±0,01defg A	0,05±0,02 bcd A
40g-10 g	0,05±0,01de A	0,05±0,01 ef A	0,04±0,01efg A	0,04±0,01 cde A
20g-60 g	0,06±0,01cd B	0,06±0,01de B	0,08±0,01 bc A	0,08±0,01 ab A
20g-40 g	0,05±0,01de A	0,05±0,02 ef A	0,05±0,01cdef A	0,05±0,01bcd A
20g-20 g	0,03±0,01de B	0,05±0,01 ef A	0,03±0,01 fg B	0,03±0,02 de B
20g-10 g	0,03±0,0 e A	0,03±0,01 f A	0,02±0,01 g A	0,02±0,01 e A
10g-60 g	0,06±0,01 cd C	0,08±0,01bcd A	0,07±0,01bcd B	0,07±0,01 ab B
10g-40 g	0,06±0,01 cd B	0,07±0,01 cde A	0,04±0,01defg B	0,06±0,01 bc B
10g-20 g	0,03±0,01defA	0,03±0,01 gh A	0,02±0,01 fg A	0,03±0,01 cde A
10g-10 g	0,01±0,01 e A	0,02±0,01 h A	0,01±0,01 g A	0,02±0,01 e A

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na vertical e letra maiúscula na horizontal pelo teste de Tukey a 5% . Dados transformados por $\sqrt{x} + 0,5$. CV = 26%.

Tabela 4 - Média de corpos hifais e blastosporos do fungo *Sporothrix insectorum*, nos 2º, 4º, 6º e 8º dias após a inoculação. ($\times 10^7$ conídios/mL).

Tratamento	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
60g-60 g	2,30±1,82 abc D	5,84±1,93 abC	11,7±3,2 b A	9,71±3,68 cd B
60g-40 g	2,14±1,33 abc C	5,02±1,34 abB	7,48±2,8 bcA	8,32±2,71 cde A
60g-20 g	0,30±0,29 bc D	7,41±1,06 a C	54,6±13,9 aB	108,3±23 a A
60g-10 g	2,29±0,95 abc D	5,13±3,51ab C	18,9±11,7 bB	26,3±37,3 b A
40g-60 g	3,19±1,91 a B	5,60±2,33ab B	8,2±3,3bcAB	10,6±4,82 c A
40g-40 g	3,21±1,46 a A	4,44±1,2abc A	8,1±2,7 bc A	5,44±2,03 cdef A
40g-20 g	3,70±0,64 a A	3,49±0,8bcd A	4,02±2,3 cdA	3,92±1,08 cdef A
40g-10 g	3,10±1,52 ab B	5,90±1,23ab A	7,7±1,14bc A	5,93±1,67 cdef A
20g-60 g	2,02±0,65 abc A	0,99±0,61de A	1,62±1,1 d A	1,65±1,51 ef A
20g-40 g	2,54±2,13 abc A	1,54±0,6cde A	1,48±0,8 d A	2,12±0,70 def A
20g-20 g	1,21±2,41 abc A	0,48±0,2 e A	0,95±0,5 d A	1,20±0,26 f A
20g-10 g	0,25±0,05 c A	0,40±0,24 e A	0,56±0,12d A	0,90±0,38 f A
10g-60 g	0,25±0,14 c A	0,22±0,13 d A	0,39±0,28fgA	0,03±0,31 c A
10g-40 g	0,19±0,07 c A	0,20±0,16 d A	0,22±0,09 gA	0,02±0,08 c A
10g-20 g	0,18±0,07 c A	0,12±0,07 d A	0,24±0,14g A	1,01±0,06 c A
10g-10 g	0,12±0,04 c A	0,06±0,04 d A	0,21±0,05g A	0,01±0,07 c A

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na vertical e letra maiúscula na horizontal pelo teste de Tukey a 5% . Dados transformados por $\log x + 10$. CV = 17%

Tabela 5 - Média da biomassa dos meios de cultura alternativos com o fungo *Sporothrix insectorum*, nos 2º, 4º, 6º e 8º dias após a inoculação. (g/4 mL).

Tratamento	Período de incubação (Dias)			
	2	4	6	8
60 g de ácido casamínico-60 g de glicose	0,05 cd A	0,08±0,01 ab A	0,04±0,01cd A	0,04±0,01bc A
60 g de ácido casamínico-20 g de glicose	0,02±0,01d A	0,02±0,04 b A	0,03±0,01d A	0,04±0,01 c A
10 g de extrato de levedura-20 g de dextrose	0,015±0,01d A	0,023±0,01b A	0,009±0,01d A	0,03±0,01 c A
100 g de leite de soja	0,07±0,01cd A	0,04±0,01 b B	0,02±0,008d B	0,05±0,01 bc B
143 g de leite de soja	0,14±0,01b B	0,18±0,03 ab A	0,016±0,01d D	0,02±0,003 c C
100 g levedura de cerveja	0,03±0,01d C	0,08±0,019ab B	0,08±0,01bc B	0,09±0,01b A
164 g de levedura de cerveja	0,26±0,03 a A	0,21±0,04 a A	0,34±0,02 a A	0,23±0,018a A
67 g de proteína + 20 g de sacarose	0,1±0,006 bc A	0,11±0,01ab A	0,1±0,11 b A	0,06±0,01 bc B

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na vertical e letra maiúscula na horizontal pelo teste de Tukey a 5%. Dados transformados por $\sqrt{x + 0,5}$. CV = 7%

Tabela 6 - Média de corpos hifais e blastosporos do fungo *Sporothrix insectorum*, nos 2º, 4º, 6º e 8º dias após a inoculação. (blastosporos e corpos hifais x 10⁷/mL).

Tratamento	Período de incubação (Dias)*			
	2	4	6	8
60 g de ácido casamínico-60 g de glicose	9,53±1,30 c A	9,2±1,18 b A	14,5±1,3 d A	15,3±1,7 d A
60 g de ácido casamínico-20 g de glicose	5,55±2,33 c A	7,4±1,32 b A	25,7±24,3 cd A	53,4±32,7cd A
10 g de extrato de levedura-20 g de glicose	5,32±85,7 c A	131,3±19,1ab A	182,7±32,5 b A	236,6±18 bc A
100 g de leite de soja	78,8±85,7 b A	84,4±94,04ab A	231,7±8,9 b A	204,7±14 bc A
143 g de leite de soja	35,2±6,04 bc A	265,4±77,3ab A	232,9±20,3 b A	245,8±14 bc A
100 g levedura de cerveja	1043,2±346aAB	271,8±40,0ab C	1133,2±391 ^a A	906,5±352ab B
164 g de levedura de cerveja	932,8±270 a C	920,2±300 a C	1511,7±170 ^a B	3560±2254a A
67 g de proteína + 20 g de sacarose	24,32±2 bc A	113,1±15 ab A	99,6±12,10bc A	158,9±19,5c A

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na vertical e letra maiúscula na horizontal pelo teste de Tukey a 5%. Dados transformados por $\log x + 10$. CV = 30%

Tabela 7 - Médias de biomassa do fungo *S. insectorum*, nos dias 2º, 4º, 6º e 8º, dias após a inoculação (g/4mL).

Tratamento	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
Caldo Feijão	0,09±0,01 b A	0,07±0,01bcAB	0,05±0,00 b B	0,05±0,00 b B
Extrato Levedura	0,01±0,00 cd A	0,01±0,00 c A	0,01±0,01 bc A	0,01±0,00 b A
Ac. Casamínico	0,00±0,00 d A	0,03±0,03 bc A	0,01±0,00 bc A	0,01±0,01 b A
Leite em pó	0,04±0,00 c A	0,10±0,01 b A	0,01±0,00 b B	0,01±0,01 b B
Levedo cerveja	0,36±0,01a A	0,30±0,02 a A	0,23±0,02 a A	0,20±0,01a A

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na vertical e letra maiúscula na horizontal pelo teste de Tukey a 5%. Dados não transformados por $\sqrt{x + 0,5}$. CV = 8,7%

Tabela 8 - Média de corpos hifais e blastosporos do fungo *S. insectorum*, nos dias 2º, 4º, 6º e 8º dias após a inoculação. (x 10⁹ conídios/mL)

Tratamento	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
Caldo Feijão	1,77±0,34 b C	3,0±0,50 a ABC	7,48±1,76 a A	7,02±0,59 a AB
Extrato Levedura	2,79±0,83 ab A	2,08±0,38 a A	1,66±0,23 c A	5,14±1,74 a A
Ac. Casamínico	2,39±0,40 b A	2,22±0,73 a A	2,58±0,49 c A	3,92±0,65 a A
Leite em pó	5,20±0,54 a A	3,05±0,63 a A	3,06±0,56 bc A	3,21±0,40 a A
Levedo cerveja	5,20±0,54 a A	4,05±2,15 a A	6,71±1,01ab A	6,85±1,13 a A

* Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na vertical e letra maiúscula na horizontal pelo teste de Tukey a 5%. CV = 6,6%

Tabela 9 - Custo de produção por ingrediente dos meios de cultura selecionados para a produção de *Sporothrix insectorum* em fermentação líquida.

Tratamento	Valor de mercado R\$	Valor calculado para 1 L de meio de cultura R\$
Caldo Feijão	R\$ 2,82 – 1 kg	R\$ 0,28
Extrato Levedura + Glicose	R\$ 280,00 – 500 g	R\$ 45,90
Ac. Casamínico + Glicose	R\$ 380,00 – 500 g	R\$ 5,90
Leite em pó	R\$ 4,00 – 400 g	R\$ 2,00
Levedo cerveja	R\$ 1,65 – 200 g	R\$ 1,35

Na produção de blastosporos e corpos hifais, verificou-se que aos 2 dias de avaliação, os tratamentos leite em pó, extrato de levedura e levedo de cerveja, respectivamente, produziram maior quantidade de corpos hifais, diferenciando-se dos demais tratamentos. Aos 6 dias o que mais se destacou foi o feijão e o levedo, porém ao término do processo verificou-se que não houve diferença entre os tratamentos, demonstrando que esses meios selecionados possuem alta capacidade de produção de blastosporos e corpos hifais de *S. insectorum* (Tabela 8).

Os resultados desta pesquisa estão de acordo com OLIVEIRA (1999), que verificou que o extrato de levedura, na concentração de 3 a 5%, suplementou a produção de micélio de *S. insectorum* em meios de cultura a base de farelo de trigo, extrato de batata e macerado de guandu, demonstrando a importância do Nitrogênio na produção desse fungo.

Analisando o custo para 1 Litro de meio de cultura utilizando-se como base os ingredientes selecionados, verificou-se que o caldo de feijão (100 g/L) é o mais barato, seguido do Levedo de Cerveja (164 g/L). Os meios mais caros foram ácido casamínico (60 g/L) + glicose (20 g/L) e o Extrato de Levedura (10 g/L) + Glicose (20 g/L). O Levedo de cerveja poderia ser considerado o mais interessante para ser utilizado na produção de *S. insectorum*, pois não demanda o cozimento e, portanto, a mão-de-obra é menos requisitada como no caso do Caldo de Feijão (Tabela 9).

CONCLUSÕES

O fungo *S. insectorum* exige uma quantidade de Nitrogênio de no mínimo 6% do meio de cultura para uma produção considerada aceitável de biomassa, blastosporos e corpos hifais.

Os meios de cultura Caldo de Feijão (100 g/L); Extrato de Levedura (10g/L) + Glicose (20 g/L); Ácido

Casamínico (60 g/L) + Glicose (20 g/L); Leite em pó (200 g/L) e Levedo de Cerveja (164 g/L) permitem uma alta produção de biomassa, corpos hifais e blastosporos de *S. insectorum* em 8 dias de fermentação líquida.

O Levedo de Cerveja (164 g/L) e o caldo de feijão constituem-se nos meios mais viáveis para a produção de *S. insectorum*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; SILVEIRA, A.P. Ocorrência da mosca de renda *Leptopharsa heveae*, em Buritama, SP. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.62, supl., p.81, 1995.
- BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; LAMAS, C.; MARTINS, A.L.; SILVEIRA, L.C.P.; ALVES, L. F. A.. Incidência de *Leptopharsa heveae* em diferentes clones de seringueira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., 1998, Rio de Janeiro. *Resumos*. Rio de Janeiro: 1998. v.2, p.747.
- CELESTINO FILHO, P. & MAGALHÃES, F.B.L. *Ocorrência do fungo Sporothrix insectorum Hoog & Evans, parasitando a mosca da renda (Leptopharsa heveae Drake & Poor) em seringal de cultivo*. Manaus: EMBRAPA/CNPDS, 1986. 2p.
- GONÇALVES, P.S. Uma história de sucesso: a seringueira no Estado de São Paulo. *Agrônomo*, v.54, p.6-14. 2002.
- JUNQUEIRA, N.T.V.; LIMA, M.I.P.M.; MARTINS, M.A.M.; MAGALHÃES, F.E.L. *Isolamento e cultivo do fungo Sporothrix insectorum (Hoog & Evans), a ser utilizado para o controle da mosca de renda da seringueira*. Manaus: EMBRAPA-CNPDS, 1987. 4 p. (Comunicado Técnico, 56).
- MARTIN, N. B. *Perspectivas para o mercado de borracha*. São José do Rio Preto: Apostila, 1996. 30p.
- MOREIRA, I.P.S. *A Leptopharsa heveae (Drake & Poor) e seus danos às mudas de Hevea brasiliensis (Muell.)*. Curitiba: 1985. 48p. [Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba].
- NÉVOA PROTETORA. *Rev. Globo Rural*, p.43-46, 1994.
- OLIVEIRA, S.M.C. *Exigências físicas e nutricionais para produção de Sporothrix insectorum em meios de cultura líquidos*. Jaboticabal: 1999. 45p. [Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal].
- TANZINI, M. R. *Manejo Integrado do percevejo-de-renda da seringueira e ácaros na Hevea*. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE A HEVEICULTURA PAULISTA, 1., 1999, Barretos. *Anais*. Barretos: 1999. p.31-44.

Recebido em 6/8/03

Aceito em 17/11/03