

ESTUDO DO CRESCIMENTO E GERMINAÇÃO CONIDIAL DE LINHAGENS DO FUNGO
Nomuraea rileyi EM DIFERENTES SUBSTRATOS

Study of the Growth and Conidial Germination of *Nomuraea rileyi*
Strains in Various Substrates

Neiva Monteiro de Barros*, Kátia Regina Ricardo**
e Isabel Facchin**

RESUMO

O presente trabalho foi conduzido com a finalidade de estudar condições de crescimento, relativas ao substrato, em linhagens do fungo *N. rileyi*, isoladas de *A. gemmatilis*, coletadas em Vacaria, RS. Diferentes fatores de crescimento foram testados para estudar sua influência sobre o crescimento e germinação de *N. rileyi*. Os resultados obtidos mostraram diferenças significativas entre o tempo de germinação para cada linhagem nos diversos tratamentos analisados.

UNITERMOS: *Nomuraea rileyi*, desenvolvimento, substratos.

SUMMARY

The present work was carried out aiming the study of growth conditions of *N. rileyi* strains isolated from *A. gemmatilis*, which were obtained in Vacaria, RS, in relation to the substrates. Different factors of growth were tested to study their influence on *N. rileyi* growth and germination. The results showed significant differences among the germination time of each strain in the treatments analyzed.

KEY WORDS: *Nomuraea rileyi*, growth conditions, substrates.

INTRODUÇÃO

Nomuraea rileyi causa infecção em muitos lepidópteros na natureza. A infecção do inseto hospedeiro ocorre especialmente através da cutícula, sendo que algumas toxinas são responsáveis pela morte do hospedeiro. Vários relatos acerca da aplicação de *N. rileyi* notificam uma antecipação de duas semanas na epizootia natural causada pelo fungo (IGNOFFO et alii, 8; IGNOFFO et alii, 9; SPRENKEL & BROOKS, 14).

* Pesquisadora do Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Caixa Postal, 1352. Caxias do Sul, RS.

** Aluna do Curso de Especialização em Biotecnologia - U.C.S.

A forma usual de inoculação é feita através de conídios produzidos em meio semi-sólido (IGNOFFO, 7; BELL, 1), sendo possível, também, a utilização de blastóporos ou micélio. Para a invasão do hospedeiro, que ocorre mediante germinação dos conídios, são necessários determinados nutrientes, sendo que a invasão pode ocorrer através do integumento ou por ingestão (KISK & ALLEN, 10).

Em geral, os requisitos nutricionais de *N. rileyi* parecem ser mais dispendiosos do que os relatados por SMITH & GRULA (13) para outros fungos entomopatogênicos.

O crescimento de *N. rileyi* apresenta uma série de dificuldades, principalmente relacionados ao tempo de germinação de crescimento que ocorre normalmente após 10 dias de incubação.

A germinação conidial é um pré-requisito para infecção de insetos por *N. rileyi* e requer um meio complexo como, por exemplo, Sabouraud - maltose - ágar com extrato de levedura (KISH & ALLEN, 10).

O meio SMY, apesar de constituir-se num ótimo meio para a produção de conídios de *N. rileyi*, apresenta como desvantagem altos custos, tornando inviável sua produção em larga escala.

Vários trabalhos tem sido realizados no intuito de viabilizar economicamente a produção de *N. rileyi* (GETZIN, 6; BELL, 1; LOCH, 11; RIBA & GLANDARD, 12; CAMARGO, 5; SUTTON et alii, 15; BELL et alii, 2 e BOUCIAS & PENDLAND, 3) com escassos resultados.

Nesse sentido, o presente trabalho foi conduzido com a finalidade de determinar a influência dos componentes do SMY na germinação do fungo *N. rileyi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Linhagens Utilizadas

Foram utilizadas as linhagens Va 8601, Va 8602 e Va 8603, obtidas a partir de lagartas *A. gemmatilis* coletadas em lavouras de soja, na região de Vacaria, RS.

Meio de Cultura

SMY e meio de sais como controle (BOUCIAS & PENDLAND, 4). Ao meio de sais adiciona-se, como fonte de carbono, a maltose, e como fatores de crescimento, extrato de levedura e peptona em concentrações de 3%.

Avaliação da Porcentagem de Germinação

Inoculou-se $1,0 \times 10^6$ conídios/ml em frascos Erlenmeyer contendo 100ml de meio, mantidos sob agitação por um período de 48h, durante o qual foram retiradas alíquotas de 2ml em intervalos de 12 horas.

A determinação da porcentagem de germinação foi feita em hemocitômetro, contando-se um total de 100 conídios, entre germinados e não germinados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A porcentagem de germinação das diferentes linhagens analisadas é apresentada na Tabela 1.

Segundo os dados desta tabela o substrato que apresentou melhores resultados na indução da germinação das linhagens estudadas, nas primeiras 12 horas, foi o extrato de levedura em comparação com o SMY considerado, até então, como o melhor meio para a produção de conídios (IGNOFFO, 9).

Com referência aos substratos adicionados ao meio de saís, verificou-se que o extrato de levedura induziu maior porcentagem de germinação em comparação ao meio com adição de peptona, no qual evidenciou-se reduzida porcentagem de germinação para a linhagem Va 8603.

Em relação a linhagem Va 8602, o meio de saís com peptona mostrou-se mais eficiente quando comparado ao meio com adição de extrato de levedura.

A maltose, utilizada como fonte de carbono, praticamente não exerceu influência sobre a germinação das linhagens testadas. Isto sugere que a maltose não se constitui em um elemento essencial à germinação conidial.

CONCLUSÃO

Dos meios utilizados o extrato de levedura é o substrato que induziu maior porcentagem de germinação em todas as linhagens testadas.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao CNPq e FAPERGS pelo apoio financeiro concedido.

LITERATURA CITADA

1. BELL, J.V. Production and Pathogenicity of the fungus *Spicaria rileyi* from solid liquid media. *Journal of Invertebrate Pathology*, 26:129-30, 1975.
2. BELL, J.V.; HAMALLE, R.J. & IGNOFFO, C.M. Methods and costs of producing *Nomuraea rileyi* conidiospores. *Agricultural Research Service, Advances in Agricultural Technology, Southern Series*, nº 24, april, 1982.

TABELA 1. Percentagem de germinação das linhagens Va8601, Va8602 e Va8603 de *Nomuraea rileyi* em diferentes sub-
tratos.

Substratos testados	% média de germinação											
	12h			24h			36h			48h		
	Va8601	Va8602	Va8603	Va8601	Va8602	Va8603	Va8601	Va8602	Va8603	Va8601	Va8602	Va8603
SMY*	61,0	60,8	8,9	76,9	71,0	16,8	81,3	85,0	32,5	86,0	90,1	78,8
MS**	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	3,3	1,6	2,5	4,0
MS + maltose	0,0	0,0	0,0	2,6	1,0	0,4	2,8	2,1	1,6	3,3	2,6	3,0
MS + Extrato de Levedura	75,0	63,0	11,5	82,2	75,4	63,2	88,0	78,0	85,7	97,3	80,0	97,6
MS + Peptona	69,5	79,0	6,9	71,3	79,0	9,0	75,5	81,3	44,4	79,0	89,8	51,0

* Sabouraud Maltose + 1% de Extrato de Levedura.

** Meio de Sais.

3. BOUCIAS, D.G. & PENDLAND, J.C.- Ultrastructural Studies on the fungus *Nomuraea rileyi*, infecting the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 39: 338-45, 1982.
4. BOUCIAS, D.G. & PENDLAND, J.C. Nutritional Requirements for conidial Germination of Several Host Range Pathotypes of the Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 43:288-92, 1984.
5. CAMARGO, M. Crescimento e Esporulação do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson em diferentes meios de cultura. Piracicaba, ESALQ/USP, 1981. 51p. (Tese de Mestrado).
6. GETZIN, L.W. *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles an Entomogenous Fungus of *Trichoplusia ni* (Hübner). *Journal of Insect Pathology*, 3:2-10, 1961.
07. IGNOFFO, C.M. The Fungus *Nomuraea rileyi* as a Microbial Insecticide. In: Burges, H.D. *Microbial Control of Pest and Plant Diseases*. New York, Academic Press, 1981. p.513-38.
08. IGNOFFO, C.M.; GARCIA, C.; HOSTETTER, D.L. & PINNEL, R.E. Stability of Conidia of an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi* in and on soil. *Environmental Entomology*, College Park, 7(5): 724-7, 1978.
09. IGNOFFO, C.M.; MARSTON, N.L.; HOSTETTER, D.L. & PUTTLER, B. Natural and Induced Epizootics of *Nomuraea rileyi* in Soybean Caterpillars. *Journal of Invertebrate Pathology*, 27:191-8, 1976.
10. KISH, L.P. & ALLEN, G.E. *Fla. Agric. Exp. Stn. Bull.* 1978. p.795.
11. LOCH, L.C. Exigências Nutricionais e Ambientais do Fungo Entomogênico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson e seu Comportamento na Presença de Defensivos Agrícolas. Piracicaba, ESALQ/USP, 1978. 64p. (Tese de Doutorado).
12. RIBA, G. & GLANDARD, A. Mise au point d'un milieu nutritif pour la culture profonde du champignon entomopathogène *Nomuraea rileyi*. *Entomophaga*, 25(3):317-22, 1980.
13. SMITH, R.J. & GRULA, E.A. Nutritional Requirements for Conidial Germination and Hyphal Growth of *Beauveria bassiana*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 37:222-30, 1981.
14. SPRENKEL, R.K. & BROOKS, W.M. Winter survival of the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* in North Carolina. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 29:262-6, 1977.
15. SUTTON, R.M.; GARDNER, W.A. & NOBLET, R. Cellular and Humoral responses of fall armyworm larvae to infection by *Nomuraea rileyi*. *J. Ga. Entomol. Soc.*, 16:423-30, 1981.