

BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS DE *ORYZA SATIVA* QUE CONFEREM TOLERÂNCIA ÀS LAGARTAS DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).

Neiva Knaak¹; Larissa Bedin Battistin²; Diouneia Lisiane Berlitz³; Lidia Mariana Fiuza⁴

Palavras-chave: Bioensaios, *Chryseobacterium indologenes*, Lagarta-da-folha.

INTRODUÇÃO

No último século, a pesquisa repetidamente demonstrou que as bactérias e os fungos têm uma íntima interação com suas plantas hospedeiras e são capazes de promover o crescimento das plantas, resistência contra patógenos e parasitas, maior resistência a condições de estresse biótico e abiótico (WHIPPS, 2001), além de possuírem grande potencial biotecnológico (LINDOW; LEVEAU, 2002).

A interação benéfica entre planta e micro-organismo tem sido pouco explorada na agricultura, apesar de possuir importância global e local no equilíbrio dinâmico dos ecossistemas, para utilização em estratégias no Manejo Integrado de Doenças e Pragas.

Na cultura do arroz, *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) é conhecida como lagarta-da-folha. Esses insetos danificam plantas jovens, cortam colmos rente ao solo, desfolham plantas mais desenvolvidas e também causam danos a flores e panículas (inflorescências). No arroz irrigado o período mais severo do ataque acontece entre a emergência das plântulas e a inundação, podendo ocorrer a destruição de áreas extensas da plantação. Quando a lavoura já está inundada, a lagarta corta os colmos e folhas no nível da superfície da lâmina de água. (PEREIRA; BANDEIRA; QUINCOZES, 2005; SOSBAI, 2012).

Conforme Azevedo (2000), o controle natural e biológico de pragas agrícolas de plantas cultivadas tem sido visto como uma das maneiras de redução do uso de produtos químicos na agricultura. Dentre os microrganismos, destacam-se os endofíticos, que são aqueles que habitam o interior de tecidos e órgãos de vegetais, pelo menos durante um período do seu ciclo vital, sem lhes causar qualquer efeito danoso, sendo importantes na manutenção das plantas que residem. (AZEVEDO, 2008; PEIXOTO NETO; AZEVEDO; ARAÚJO, 2002). Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo selecionar e identificar bactérias endofíticas de plantas de arroz, *Oryza sativa*, e verificar seu potencial inseticida à lagarta *S. frugiperda*, em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas, aleatoriamente, 20 bactérias endofíticas de plantas de *O. sativa*, acondicionadas sob refrigeração (-18° C). As bactérias foram inoculadas no meio de cultivo e incubadas a 35°C (± 2°C), pelo período de 18 a 24 horas. Em seguida, foi realizada a classificação das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Para identificação das espécies bacterianas classificadas como Gram-negativas foram efetuadas provas bioquímicas no sistema API[®] 20E (Biomérieux Brasil SA) e avaliado com auxílio do programa APIWEB (Fig. 1).

¹ Doutora em Biologia. Instituto Rio Grandense do Arroz – EEA, E-mail: neivaknaak@gmail.com

² Bióloga, Universidade do Vale do Rio dos Sinos.

³ Doutora em Biologia. Control_Agro_Bio Pesquisa e Defesa Agropecuária Ltda.

⁴ Doutora em Ciências Agronômicas. Instituto Rio Grandense do Arroz.

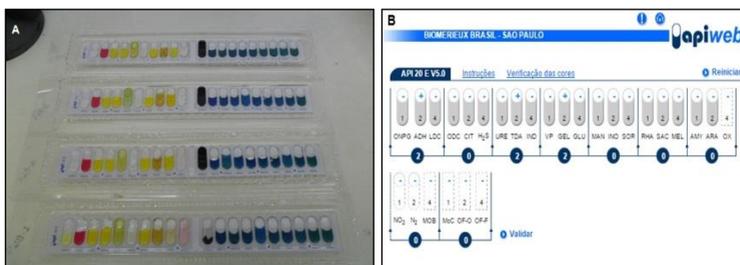


Figura 1 - Identificação bioquímicas das espécies bacterianas, no sistema API® 20E(A) e análise no programa APIWEB/Biomérieux Brasil SA(B).

Nos bioensaios com *S. frugiperda* foi utilizada a bactéria identificada como *Chryseobacterium indologenes*. Esta foi cultivada em meio usual glicosado, a 180 rpm, a 28°C por 48 horas (DEBARJAC e LECADET, 1976). Em seguida, a suspensão bacteriana foi centrifugada, a 5000 rpm, por 15 minutos. A contagem das células foi realizada em Câmara de Neubauer e microscopia óptica (400x), sendo a concentração ajustada em 1×10^{10} células/mL.

Para os bioensaios foram aplicados 10 µL da suspensão bacteriana padronizada sob a superfície de secções de folhas de soja perene acondicionadas em mini-placas de acrílico de 30 mm de diâmetro, onde 30 lagartas de 2º instar de *S. frugiperda* foram individualizadas, os ensaios foram realizados em triplicata. No grupo controle as suspensões bacterianas foram substituídas por água destilada esterilizada.

Os experimentos foram mantidos em câmara climatizada (25°C± 2°C; 70% UR e fotoperíodo de 12 horas). A mortalidade foi avaliada até o sétimo dia após a aplicação dos tratamentos, sendo corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Os dados obtidos foram submetidos ao teste t ($p < 0,05$), para comparação entre as médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as 20 cepas bacterianas avaliadas, oito foram classificadas como Gram-negativas, sendo identificadas quatro espécies endófitas do arroz (Tabela 1).

Tabela 1 - Bactérias endófitas Gram-negativas identificadas pelo sistema API® 20E e analisadas pelo programa APIWEB.

| Nº das Cepas | Espécies identificadas |
|--------------|---|
| P 17-1 | <i>Brucella</i> spp. |
| P 17-2 | <i>Chryseobacterium indologenes</i> |
| P 18-1 | <i>Brucella</i> spp. |
| P 18-2 | <i>Chryseobacterium indologenes</i> |
| P 24-1 | <i>Brucella</i> spp. |
| P 29-1 | <i>Pasteurella pneumotropica/Mannheimia haemolytica</i> |
| P 29-2 | <i>Chryseobacterium indologenes</i> |
| P 40 | <i>Bibersteinia trehalosi</i> |

Entre as cepas bacterianas identificadas, a espécie *C. indologenes* foi relacionada como uma bactéria comum nos ecossistemas, especialmente em áreas úmidas, sendo encontrada no solo, planta, alimentos, e água (CHANG et al., 2015). Dessa maneira, foi selecionada para os bioensaios contra as lagartas de *S. frugiperda*, pois as demais são descritas como patógenos em animais e humanos. (DASSANAYAKE et al., 2010; ELISEI et al., 2010).

C. indologenes, na concentração de 1×10^{10} células/mL, causou uma mortalidade corrigida de 25%, em lagartas de 2º instar de *S. frugiperda*. O teste *t* foi realizado através do programa Past, sendo obtido um valor de $t = 29,698$ com $p = 0,001$, ou seja, houve diferença significativa entre o grupo controle e a bactéria endófito isolada de *Oryza sativa*. Esse resultado infere que *C. Indologenes* tem uma função de proteção da planta hospedeira contra fitófagos.

CONCLUSÃO

A presença desse endófito em arroz é positiva, pois segundo Shi et al. (2010), plantas inoculadas com *C. indologenes*, tiveram um aumento significativo do teor de clorofila e a capacidade fotossintética, com consequente aumento da produção de carboidratos. Os dados das bactérias endofíticas de *Oryza sativa* conferem tolerância às lagartas de *Spodoptera frugiperda* que é um impotante fitófago da fase inicial da orizicultura. Estudos focados na utilização de bactérias endofíticas como ferramentas para aumentar a produtividade da cultura de cereais, como a orizicultura, indicam potencial para a aplicação desses procariontos, seja como estimuladores do crescimento e/ou agentes proteção contra as pragas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e a FAPERGS pelo apoio financeiro no desenvolvimento dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A. Method of computing the effectiveness insecticides. **Journal Economic of Entomology**. n. 18, p. 265-267, 1925.
- AZEVEDO, João Lúcio. **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. v. 3.
- CHANG, Yi-Cheng et al. Identification, epidemiological relatedness, and biofilm formation of clinical *Chryseobacterium indologenes* isolates from central Taiwan. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v.48, n. 5, p. 559-564, 2015. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S1684118214000632/1-s2.0-S1684118214000632-main.pdf?_tid=5e8ca00e-2882-11e7-870e-00000aacb361&acdnat=1492992785_71c069455c09f4466285de94674f85c2>. Acesso em: 12 abr. 2017.
- DASSANAYAKE, R. P. et al. *Bibersteinia trehalosi* inhibits the growth of *Mannheimia haemolytica* by a proximity-dependent mechanism. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 76, n. 4, p. 1008-1013, 2010. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/76/4/1008.full.pdf+html>>. Acesso em: 12 abr. 2017.
- DEBARJAC, H.; LECADET, M. M. Dosage biochimique d'exotoxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* d'après l'inhibition d'arn-polymerases bacteriennes. **Comptes Rendus de L'academie des Sciences**. v. 282, n. 1, p. 2119-2122, 1976.
- ELISEI, C. et al. Evidência molecular de *Brucella* sp. em *Ozotoceros bezoarticus* (veado campeiro) do Pantanal Sul-Mato-Grossense. **Pesq. Vet. Bras**. v. 30, n. 6, p. 503-509, 2010.

Disponível em: <http://www.pvb.com.br/pdf_artigos/02-07-2010_19-28Vet%20822_1747%20WM.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2017.

LINDOW, S.E.; LEVEAU, J.H.J. Phyllosphere microbiology. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 238-243, 2002.

PEIXOTO NETO, Pedro A. de Sá; AZEVEDO, João Lúcio; ARAÚJO, Welington Luiz. Microrganismos endofíticos: interação com plantas e potencial biotecnológico. **Biociência**, n. 29, p. 62-76, 2002.

PEREIRA, Diego Petiz; BANDEIRA, Diná Lessa; QUINCOZES, Eliana da Rosa Freire (Ed.). Cultivo do arroz irrigado no Brasil: pragas do arroz irrigado. **Embrapa Clima Temperado, Pelotas**, 2005. (Sistemas de Produção, 3). Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducao6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=5101&p_r_p_-996514994_topicId=5527>. Acesso em: 23 abr. 2017.

SHI, Y., LOU, K.; LI, C. Growth and photosynthetic efficiency promotion of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) by endophytic bacteria. **Photosynth Res**, 105: 5-13, 2010.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (Sosbai). Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. **Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado**, 29. Itajaí, p. 110, 2012. Disponível em: <http://www.irga.rs.gov.br/upload/20140724143610boletim_arroz_irrigado_2012.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2017.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.