

## LEVANTAMENTO DE BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS EM AMOSTRAS DE SOLOS DE ÁREAS ORIZÍCOLAS DO RIO GRANDE DO SUL

Ana Cristina Antonio<sup>(1)</sup>, Laura Massochin Nunes Pinto<sup>(1)</sup>, Marisa de Azevedo e Souza de Jesus<sup>(2)</sup> & Lidia Mariana Fiuza<sup>(1,2)</sup>. <sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia, Centro 2, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, UNISINOS. C.P. 275, CEP 93001-970, São Leopoldo, RS. <sup>2</sup>EAA/Instituto do Riograndense do Arroz. C.P. 29, CEP 94930-030, Cachoeirinha, RS. E-mail: fiuza@cirrus.unisinos.br

As bactérias do solo são responsáveis por algumas das mais específicas transformações biogênicas nos ciclos de elementos, como por exemplo no ciclo do carbono e do nitrogênio (Pelczar *et al.*, 1996). Na compreensão dos ciclos biológicos e das transformações no ecossistema faz-se necessário o conhecimento das espécies de microrganismos e suas funções. As áreas cultivadas e não cultivadas têm diferentes ambientes físicos que alteram a composição de fatores que determinam o crescimento e a estrutura da população de microrganismos (Kennedy & Smith, 1995).

A população de bactérias do solo apresenta ampla diversidade, onde alguns dos fatores que têm maior influência na ocorrência e abundância de bactérias incluem pH e a matéria orgânica (Siqueira *et al.*, 1994). A maioria das bactérias de vida livre provavelmente experimenta períodos de escassez de matéria orgânica e níveis variados de pH, porém existem bactérias que possuem a capacidade de formar esporos, garantindo sua sobrevivência às condições adversas sob forma vegetativa (Mello & Azevedo, 1998).

As bactérias esporulantes têm sido consideradas promissoras no controle biológico de insetos-praga, pois podem ser utilizadas como biopesticidas ou na obtenção de plantas resistentes. Dentre as bactérias entomopatogênicas atualmente conhecidas, somente o gênero *Bacillus*, família *Bacillaceae*, tem sido utilizado em larga escala no controle microbiano de pragas. Considerando este gênero, a espécie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) oferece as melhores alternativas de controle devido as proteínas inseticidas (toxinas) constituintes dos corpos de inclusão paraesporais, denominados cristais (Figura 1).

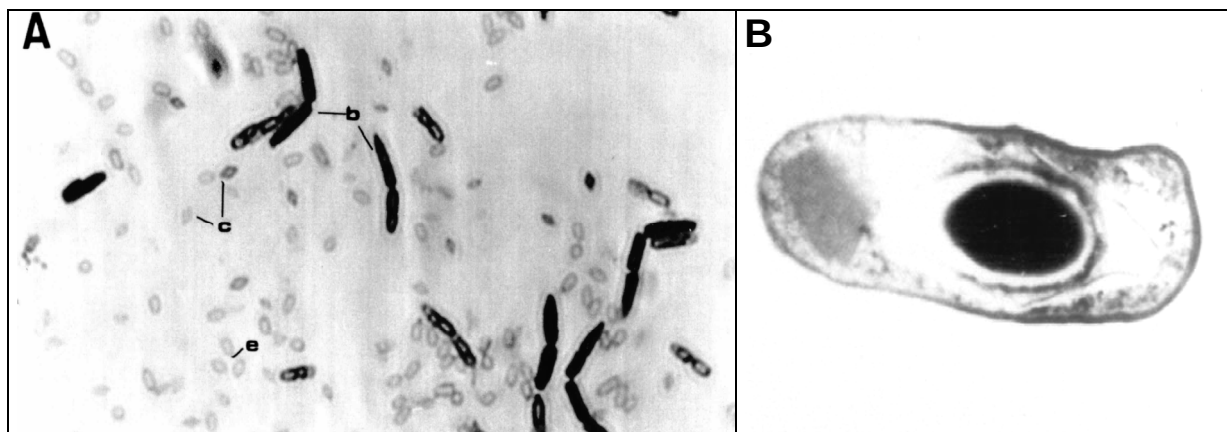


Figura 1 - *Bacillus thuringiensis* (A) Células em microscopia de contraste de fase e (B) em microscopia eletrônica de transmissão; (b) bastonete; (c) cristal; (e) esporo.

O presente trabalho objetivou a análise da ocorrência de bactérias esporulantes, especialmente *Bacillus thuringiensis*, em áreas de cultivo de arroz irrigado do Rio Grande do Sul (RGS).

As amostras de solos foram coletadas em municípios representativos de regiões do RGS, produtoras de arroz irrigado, totalizando 52 amostras. Para o isolamento bacteriano, 1g de amostra foi homogeneizada em solução salina e pasteurizada. Em seguida, as

suspensões foram diluídas e distribuídas em Ágar Nutriente, sendo mantidas por 24 horas a 30°C. AS colônias crescidas foram avaliadas quanto a morfologia, sendo estas transferidas para Caldo Nutriente, contendo Penicilina G ou Estreptomicina. O material inoculado foi incubado 24 horas, a 30°C e 180 rpm , sendo em seguida efetuada a avaliação dos isolados crescidos no meio seletivo através da microscopia de contraste de fase. No Laboratório de Análise de Solos (EEA) foram avaliadas as amostras coletadas quanto ao pH e a concentração de M.O. Os dados obtidos foram submetidos a Análise de Variância e as médias comparadas por Tukey a 5%.

Nas amostras analisadas foram obtidas 278 colônias de bactérias esporulantes (Figura 2), sendo que 24,12% das colônias pertencem às amostras de solos provenientes da região da Campanha; 42,84% do Litoral e 33,12% da Fronteira Oeste.

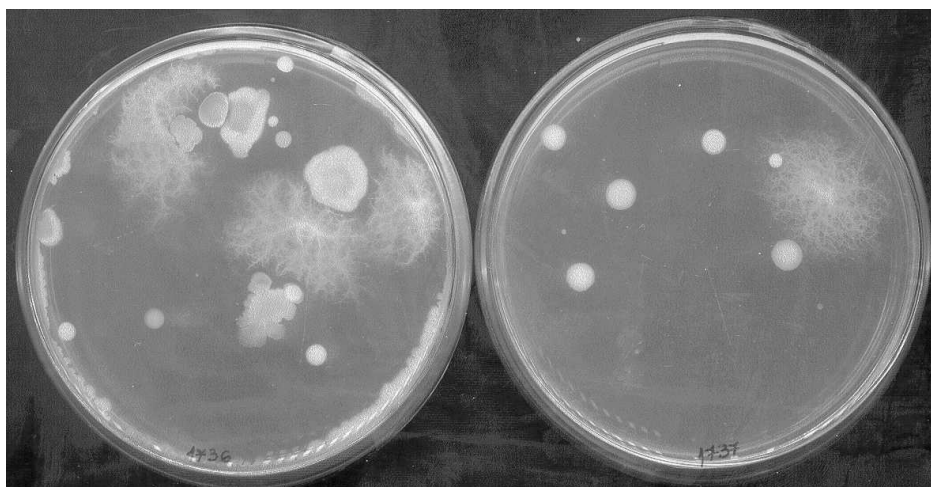


Figura 2 - Crescimento de bactérias esporulantes em Ágar Nutriente.

Entre os isolados crescidos em meio seletivo (Figura 3) foi observada a ocorrência de bactérias do gênero *Bacillus* em 18,36% do número total de bactérias esporulantes. A análise estatística para as regiões avaliadas no presente estudo não revelou diferença significativa entre o número de amostras de *Bacillus* spp. obtidos, totalizando 51 isolados. A bactéria entomopatogênica, *B. thuringiensis* foi encontrada nas três região analisadas, totalizando 49 isolados, sendo que 28,57% correspondem às amostras de solos da Campanha, 32,65% do Litoral e 38,77% da Fronteira Oeste. Esses resultados podem estar relacionados a concentração de Matéria Orgânica dos solos dessas regiões, correspondendo a 61,68% na Campanha, 62,25% no Litoral e 54,55 na Fronteira Oeste. De acordo com Mello & Azevedo (1998), a M.O. é rica em compostos carbonados que se encontram em diversos substratos, representando assim um fator limitante ao crescimento bacteriano. Quanto ao pH dos solos observou-se que há uma diferença significativa entre as regiões da Campanha ( $\text{pH } 5,4 \pm 0,3$ ) e do Litoral ( $\text{pH } 5,1 \pm 0,4$ ), as quais não diferem da região da Fronteira Oeste ( $\text{pH } 5,3 \pm 0,4$ ), sendo esses predominantemente ácidos. Dados de pesquisa revelam que os valores de pH favoráveis ao crescimento bacteriano variam de 4,0 a 9,0 (Siqueira *et al.*, 1994; Mello & Azevedo, 1998).

Os dados das amostras de solos das lavouras de arroz irrigado revelam a ocorrência natural de bactérias entomopatogênicas, pertencente ao grupo de bactérias esporulantes, predominantemente *Bacillus thuringiensis*. Sendo que os dados da Matéria Orgânica não diferiram entre as regiões analisadas e os valores de pH mostraram-se predominantemente ácidos.

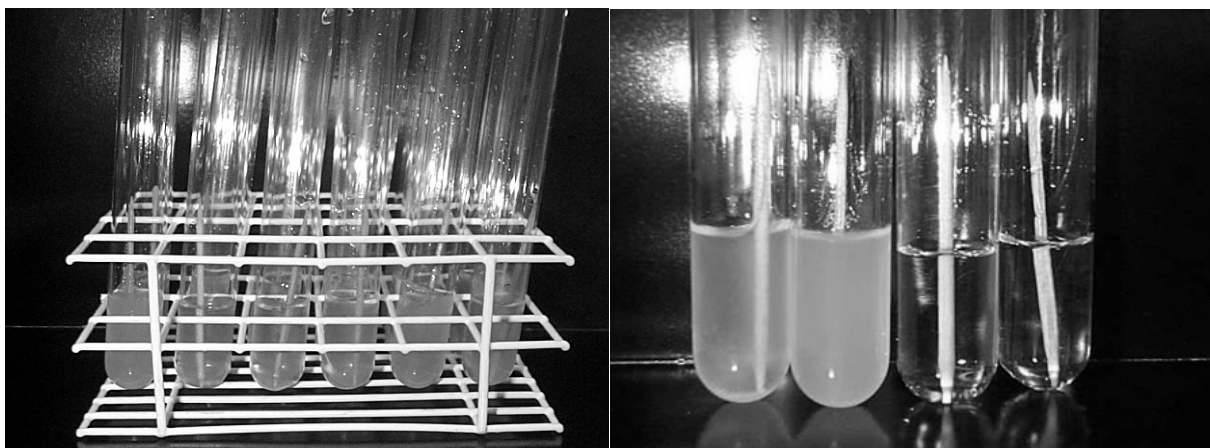


Figura 3 - Crescimento de *Bacillus* sp. em meio seletivo.

**Apoio:** EEA/IRGA e UNISINOS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KENNEDY, A.C. & SMITH, K.L. 1995.** Soil microbial diversity and the sustentability of agricultural soil. *Plant and Soil*. 170:75-86
- MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. 1998.** *Ecologia Microbiana*. EMBRAPA-CNPMA. Jaguariúna. 488p.
- PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.** *Microbiologia: conceitos e aplicações*, Vol 1 e 2. 2 ed. São Paulo: Ed. MAKRON Books do Brasil LTDA.1996.
- SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S.; GRISI, B.M.; HUNGRIA. M. & ARAUJO, R. 1994.** *Microrganismos e Processos Biológicos do Solo: Perspectiva Ambiental*. EMBRAPA-CNPAF. 142p.

## PREDIÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DE NOVOS ISOLADOS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* ATRAVÉS DA PCR

Laura Massochin Nunes Pinto <sup>(1)</sup> & Lidia Mariana Fiuza <sup>(1,2)</sup>. <sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia, Centro 2, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, UNISINOS. C.P. 275, CEP 93001-970, São Leopoldo, RS. E-mail: lau@pro.via-rs.com.br. <sup>2</sup>EEA/Instituto do Riograndense do Arroz. C.P. 29, CEP 94930-030, Cachoeirinha, RS. E-mail: fiuza@cirrus.unisinos.br

As propriedades entomopatogênicas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) são altamente variáveis, assim, várias pesquisas nesta área buscam a seleção de novos isolados de *Bt* com atividade tóxica para diferentes espécies de insetos (Schnepf *et al.*, 1998). Atualmente a procura de genes que sintetizam as proteínas inseticidas de *Bt* (Figura 1), genes *cry*, tem sido feita através da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), técnica molecular que tem se mostrado uma ferramenta valiosa à predição da atividade inseticida de novos isolados de *Bt*. Este trabalho teve como objetivo verificar a presença de seis famílias de genes *cry* de *Bt* com atividade inseticida às ordens Lepidoptera e Coleoptera.