

94. EFEITO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS E ANTIMICROBIANOS ÀS BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS PRESENTES EM SOLOS ORIZÍCOLAS

Gabriela Cristina Alles¹, Jaime Vargas de Oliveira² e Lidia Mariana Fiuza^{1,2}

Palavras-chave: agrotóxicos, biocontrole, agrocossistemas.

INTRODUÇÃO

O uso de produtos fitossanitários, em áreas de cultivo agrícola, vem sendo bastante discutido quanto aos impactos gerados nos agroecossistemas. Os efeitos nocivos sobre o meio ambiente, incluindo o aumento na população de pragas resistentes e o impacto sobre os microrganismos do solo, especialmente as bactérias entomopatogênicas, salienta a importância de estudos nessa área e da utilização de agrotóxicos mais seletivos, visando à conservação e o equilíbrio entre as espécies (ALVES et al., 1998).

Microrganismos entomopatogênicos são estudados objetivando a sua utilização como agentes de controle microbiano, representando uma alternativa ecológica em substituição aos agroquímicos utilizados no manejo integrado de pragas. Dentro deste grupo, as bactérias do gênero *Bacillus* destacam-se como bioindicadores por suportar condições adversas do ambiente, permanecendo na forma de endosporos, no solo, por longos períodos, participando do ciclo biológico do carbono e nitrogênio, além de promoverem o controle biológico natural de pragas (SNEATH, 2001).

O entomopatógeno *Bacillus sphaericus* caracteriza-se por apresentar esporo subterminal esférico que deforma o esporângio. Essa espécie é considerada promissora no controle de insetos, pois durante a esporulação produz um cristal protéico constituído por toxina binária composta de duas proteínas larvicidas.

Nesse enfoque, o presente trabalho objetivou verificar a interação de produtos fitossanitários utilizados na cultura do arroz irrigado, e alguns antimicrobianos utilizados em laboratório, sobre o entomopatógeno *B. sphaericus* isolados de agroecossistemas orizícolas, visando dar subsídios para a escolha de produtos seletivos que possam ser utilizados em associação com agentes de controle biológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 20 cepas de *B. sphaericus* provenientes de agroecossistemas orizícolas, pertencentes ao Banco de Bactérias Entomopatogênicas da UNISINOS.

O perfil de resistência e/ou sensibilidade a antimicrobianos foi avaliado, em laboratório, em triplicata segundo a técnica de difusão do antibiótico, a partir de discos impregnados com quantidades conhecidas, segundo o método de Bauer et al. (1996). Os antimicrobianos usados foram os seguintes: Cefoxitina, 30mg; Ciprofloxacina (30mg); Cloranfenicol (30mg); Estreptomicina (10mg); Gentamicina (10mg); Penicilina G (10mg); Tetraciclina (30mg); Sulfametoxazol/trimetoprim (25mg) e Vancomicina (5mg), em laboratório.

Para os ensaios com produtos fitossanitários, realizados em triplicata, as linhagens foram crescidas em NYSM por 48 horas, onde 2mg de cada produto fitossanitário (Tabela1) foi depositado em pontos distintos da superfície do meio (NYSM), cerca de 2 cm distantes um do outro, após as culturas terem previamente crescido, durante 48 horas, a 33°C. Em seguida, as placas de Petri inoculadas foram mantidas em estufa a 33°C. Com 24 hs de incubação foi efetuada a leitura dos halos de crescimento.

¹ UNISINOS - PPG em Biologia, Microbiologia, São Leopoldo, RS, Brasil, 93022-000. E-mail: gabialles@hotmail.com

² IRGA - Estação Experimental do Arroz, Instituto Rio Grandense do Arroz, Cachoeirinha, Rio Grande do Sul.

Para os cálculos estatísticos, os resultados foram transformados em matrizes binárias e submetidos ao programa de análise numérica NTSYS-pc - versão 2.1 (ROHLF, 2002)

Tabela 1. Dados correspondentes aos produtos fitossanitários aplicados no controle de pragas em agroecossistemas.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Grupo químico	Formulação e concentração	*Dose utilizada em campo	*Dose utilizada no laboratório	Classe toxicol. e ambiental ⁴
¹ Klap®	Fipronil	Pirazol	SC 200 g/L	60 mL/ha	4,0 µL	III, II
² Sirius®	Pirazosulfuron-etil	Sulfoniluréia	SC 250 g/L	60 mL/ha	4,0 µL	IV, III
² Facet®	Quincloraque	Ácido quinolinocarboxílico	PM 500 g/Kg	300 g/ha	0,020 g	III, III
² Stam®	Propanil	Anilida	CE 480 g/L	4 L/ha	255,0 µL	II, ⁵
³ Priori®	Azoxistrobina	Estrubilurina	SC 250 g/L	400 mL/ha	26,0 µL	III, III

Legenda: CE: concentrado emulsionável; PM: pó molhável; SL: concentrado solúvel; SC: solução/supensão concentrada.

Classificação toxicológica: I - Extremamente tóxico; II - Altamente tóxico; III - Medianamente tóxico; IV - Pouco tóxico.

Classificação ambiental: I - Altamente perigoso; II - Muito perigoso; III - Perigoso; IV - Pouco perigoso.

¹Inseticida; ²Herbicidas; ³Fungicida.

⁴Fonte: SIA - Sistemas de Informações sobre agrotóxicos, AGROFIT 2009.

⁵Não avaliado pelo IBAMA - Registro decreto 24.144/34

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios frente aos antimicrobianos testados, permitem concluir que as linhagens de *B. sphaericus* foram 100% resistentes a Penicilina (PN). No perfil de sensibilidade, as estirpes não apresentaram 100% de inibição a nenhum dos antimicrobianos, revelando uma expressiva heterogeneidade entre as estirpes isoladas de agroecossistemas orizícolas. Considerando os dados de literatura, disponíveis sobre esse tema, verifica-se que essa heterogeneidade e o perfil de multi-resistência às estirpes de *B. sphaericus* também já foram demonstrados em SILVA et al.,(1999).

Nos resultados dos ensaios com produtos fitossanitários, as estirpes apresentaram 100% de sensibilidade ao herbicida Stam®. Duas estirpes (IRGA 47-1 e IRGA 47-2) foram sensíveis ao Sirius®, Facet® e Priori®. Nos cálculos estatísticos as linhagens formaram 6 grupos de isolados com o mesmo perfil de resistência e sensibilidade (Figura 1), com uma similaridade superior a 44%. Estes dados corroboram com as observações feitas por ALVES et al.,(1998), os quais comentam que a ação dos inseticidas químicos sobre microrganismos entomopatogênicos varia em função da natureza química e concentração dos produtos.

Os resultados deste estudo, frente aos pesticidas, corroboram com as observações feitas por ALVES et al.,(1998), os quais comentam que a ação dos inseticidas químicos sobre microrganismos entomopatogênicos varia em função da natureza química e concentração do produto.

Grande parte das reações dos pesticidas, atualmente utilizadas no controle de pragas é desconhecida devido a carência de informações a respeito da compatibilidade destes produtos com os entomopatógenos (ALVES et al., 1998). Para *B. sphaericus*, a maioria dos trabalhos realizados de interação, são provenientes da década de 70, como reflexo da demasiada aplicação de inseticidas sintéticos orgânicos como hidrocarbonetos, clorinados, organofosforados, metilcarbamatos e piretróides, entre 1940 -1950.

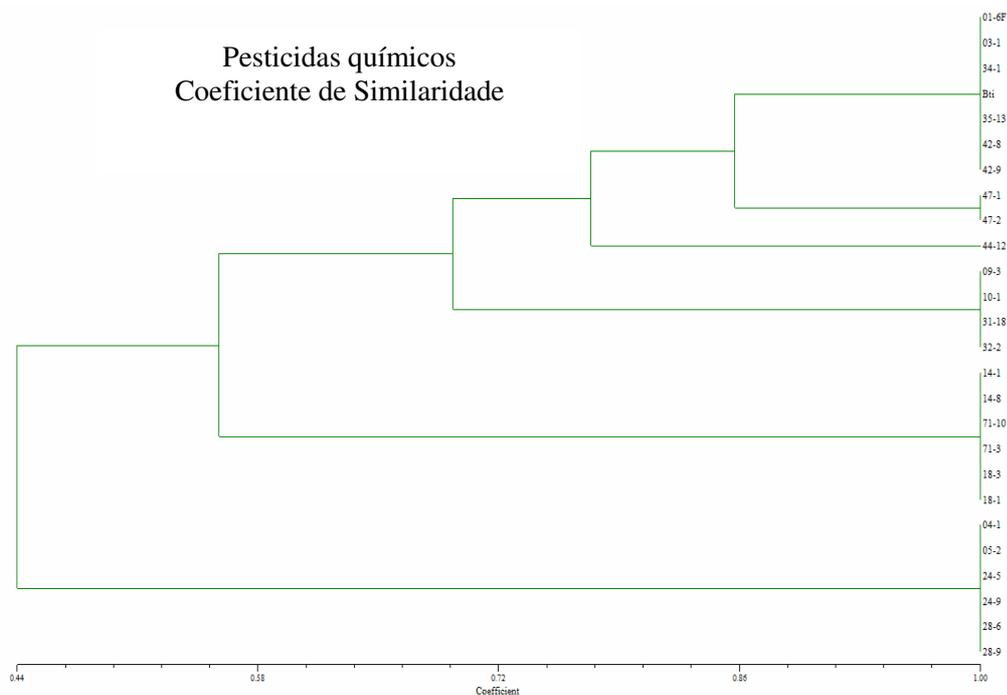


Figura 1: Fenograma resultante da análise numérica baseada em dados obtidos a partir do crescimento na presença dos pesticidas químicos de estirpes de *Bacillus sphaericus*.

CONCLUSÕES

Os estudos com antimicrobianos revelam um perfil heterogêneo das cepas do entomopatógeno, *B. sphaericus*, oriundas de solos orizícolas. Os dados de interação com os produtos fitossanitários mostram o elevado impacto da sulfoniluréia na população bacteriana em estudo como bioindicadora de qualidade ambiental. Os resultados obtidos nesse estudo servirão para análises posteriores com ensaios *in vivo* a serem realizados com *Spodoptera frugiperda* com os mesmos produtos utilizados. A maioria dos trabalhos existentes são referentes a estudos *in vitro* com fungos entomopatogênicos, por isso são necessárias pesquisas tanto *in vivo* como *in vitro* para avaliar os impactos de produtos fitossanitários e antimicrobianos sobre bactérias entomopatogênicas, responsáveis tanto pela ciclagem de nutrientes do solo quanto pelo controle biológico natural representando uma alternativa junto ao controle de pragas.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES/Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B., et al. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. *In: ALVES, S.B. Controle microbiano de insetos*. São Paulo: FEALQ. p.217-238, 1998.
- BAUER, A.W., et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, p.493-496, 1996.
- ROHLF, F.J. *NTSYS-PC: Numerical Taxonomy for System for the IBM PC Microcomputer*. Setauket. New York: Applied Biostatistics 2002. 191pp.
- SILVA, K.R., et al. Phenotypic and genetic diversity among *Bacillus sphaericus* strains isolated in Brazil, potentially useful as biological control agents against mosquito larvae. *Brazilian Journal of Microbiology*. v. 33 p.153-160, 1999.
- SNEATH, P.H.A. Endospore-forming Gram-positive Rods and Cocci. *In: BUTLER, J.P., (Ed.) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins. p.1104-1139, 2001.