a) Área de Microrganismo

1) Coleção de fungos entomopatogênicos: biodiversidade para o controle biológico de pragas na agropecuária brasileira.

José Eduardo Marcondes de Almeida

Graduado em Agronomia pela UFV (1990), Me. (1994) e Dr. (1998) em Entomologia pela USP. Atualmente é Pq C VI do Instituto Biológico (IB). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Defesa Fitossanitária, atuando principalmente nos seguintes temas: controle biológico, controle microbiano, fungos entomopatogenicos, produção e formulação de bioinseticidas a base de fungos entomopatogênicos.

Antonio Batista Filho

Graduado Eng. Agr. (1981) Me. (1990) e Dr. (1997) em Entomologia pela ESALQ/US. Diretor Geral do IB desde 2004, Pq C VI, Prof. disciplina "Controle Biológico de Pragas e Doenças", e da disciplina "Produtos e processos biotecnológicos aplicados a agropecuária" da Pós-Graduação em "Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio" do IB, e da disciplina " Microrganismos Entomopatogênicos" da UNESP-Botucatu. Tem experiência em Entomologia Agrícola, atuando principalmente na área de controle microbiano de pragas.

Luís Garrigós Leite

Graduado em Agronomia pela Unesp- Jaboticabal (1983), Me. (1991) e Dr. (2001) em Entomologia pela ESALQ/USP. Atualmente é Pq C VI do Instituto Biológico. Tem experiência na área de Entomologia, com ênfase em Controle Microbiano de Insetos, atuando principalmente nos seguintes temas: fungos entomopatogênicos, nematóides entomopatogênicos, produção e formulação de bioinseticidas.

Ana Paula Santos Bartels

Tecnóloga em Gestão Ambiental, São Bernardo do Campo, pela Universidade Metodista de São Paulo. Técnica de Laboratório - Instituto Biológico, Lab. Controle Biológico, Campinas-SP.

Roselanie Nunes Silva Bueno

Tecnóloga em Gestão Ambiental, Ambiental, na Universidade Metodista de São Paulo. Técnica de Laboratório - Instituto Biológico, Lab. Controle Biológico, Campinas-SP.

Resumo

O controle biológico de pragas baseado em fungos entomopatogênicos necessita de pesquisas na área de biodiversidade a fim de isolar, identificar, caracterizar e selecionar os isolados para o controle de pragas. O suporte para as pesquisas com o uso de fungos para o desenvolvimento de bioinseticidas está relacionado a uma coleção, onde são

armazenados e conservados, permitindo assim a sua manipulação em laboratório para as pesquisas de controle de pragas e estudos de produção em larga escala, formulação e comercialização desses microrganismos. Os objetivos desse trabalho foram: introdução de novos isolados de fungos entomopatogênicos, desenvolver novas técnicas de armazenamento, permitindo assim maior precisão para a seleção de isolados para pragas. Atualmente a coleção possui 868 acessos de isolados de diferentes espécies de fungos entomopatogênicos, que dão suporte a projetos de desenvolvimento de bioinseticidas, controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, citros, frutas, hortaliças e seringueira. Os fungos estão armazenados em tubos de centrífuga com micélio a - 20° C, em meio de cultura cobertos com óleo mineral estéril conservado a 5° C e em criopreservação a - 80° C com glicerol e sílica gel. A coleção está cadastrada como fiel depositária no CGEN/MMA sob no. 044/2011 SECEX/CEGEN Processo no. 02000.001642/201-31.

Palavras-chaves: fungos entomopatogênicos, controle biológico, conservação.

Introdução

Os fungos foram os primeiros agentes a serem aplicados no controle microbiano de insetos, com cerca de 80% das doenças de insetos causadas por esses patógenos. No Brasil, esses patógenos vêm sendo estudados a mais de sessenta anos, sendo que após 1964, com a aplicação em massa do fungo *Metarhizium anisopliae* para o controle da cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar *Mahanarva posticata*, ganhou efetivo impulso (Alves, 1998).

Os fungos são capazes de atacar um grande número de espécies de insetos e praticamente todos os estágios de desenvolvimento desses organismos. A maioria dos fungos atua por contato e por ingestão, sendo que a sua grande variabilidade genética permite estudos de seleção de cepas ou isolados e avaliação dos mais virulentos para o controle de pragas (Alves *et. al.* 2010).

A maioria dos projetos de pesquisa com controle microbiano de insetos é com fungos entomopatogênicos, devido às características de ação desses patógenos, pois atuam por contato e ingestão, e sua grande variabilidade genética desfavorece a evolução da resistência em populações de ácaros e insetos-praga. Estão presentes em grande quantidade na natureza sendo o solo o seu maior reservatório e por serem mais difícil dos insetos tornarem-se resistentes pela sua grande variabilidade genética (Batista Filho et al. 2006; Alves *et. al.* 2010).

Todo programa de controle microbiano é baseado em microrganismos entomopatogênicos, como o próprio nome revela, necessitando, portanto de pesquisas na área de biodiversidade a fim de isolar, identificar, caracterizar e selecionar os isolados mais interessantes para o controle de pragas específicas (Almeida & Batista 2001).

A coleção é uma fonte inesgotável de material genéticos para o controle microbiano de insetos e ácaros e a biodiversidade de seus microrganismos e isolados é fonte de riqueza

para a agricultura brasileira, fornecendo novas alternativas para o controle de pragas, diminuindo perdas e melhorando a produtividade da lavoura (Tanada & Kaya, 1993).

O Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental Central do Instituto Biológico, com sede em Campinas-SP, há 45 anos tem se dedicado às pesquisas de controle biológico de pragas na agricultura. Dentre os programas existentes, o controle microbiano de pragas, com fungos, é um dos mais desenvolvidos, obtendo sucesso no controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, cigarrinhas-das-pastagens, moleque-da-bananeira, broca-dos-citros, cigarrinhas-do-feijoeiro, gorgulho-aquático-do-arroz, cupins de montículo, broca-do-café, carrapatos bovinos e percevejo-de-renda da seringueira. A Coleção de Fungos Entomopatogênicos "Oldemar Cardim Abreu", iniciada em 1981, teve como finalidade inicial apenas preservar alguns isolados de fungos, bactérias e vírus utilizados em trabalhos de controle biológico de pragas, mas que devido ao crescimento da demanda de pesquisas foi tomando corpo, chegando a 868 isolados até 2015.

Os objetivos desse trabalho foram: introdução de novos isolados de fungos entomopatogênicos, desenvolver novas técnicas de armazenamento, permitindo assim maior precisão para a seleção de isolados para pragas.

Material e métodos

Para a conservação dos isolados na coleção, utilizou-se o seguinte material: Placas de Petri, Tubos de cultura, Óleo Nujol, Eppendorfs, Alça de platina e meio BDA, tudo devidamente auto clavado a 121 º C por 20 minutos. Cada isolado foi repicado, usando Alça de platina, em Placa de Petri e Tubos de cultura contendo meio BDA, mantidos em câmara B.O.D a 25 º C, UR 60% e fotoperíodo de 12h, por sete dias.

Verificado o crescimento do isolado nas placas de Petri, providenciou-se a raspagem da massa de micélio para os tubos Eppendorfs, que foram armazenados à temperatura de -20ºC por períodos indeterminados. Já os isolados repicados em tubos, antes de serem armazenados, foram acrescidos de óleo mineral e armazenados à temperatura de 5ºC em refrigerador.

Os mesmos isolados foram armazenados em ultrafreezer a - 80º C em suspensão de glicerol 10% e em suspensão de leite em pó desnatado esterilizado em sílica gel azul (superseca).

Resultados e discussão

A Coleção de fungos entomopatogênicos "Oldemar Cardim Abreu" possui 868 acessos de isolados de diferentes espécies de fungos entomopatogênicos, que dão suporte a projetos de desenvolvimento de bioinseticidas, controle biológico de pragas da cana-de-açúcar, citros, frutas, hortaliças e seringueira. A coleção está cadastrada como fiel

depositária no CGEN/Ministério do Meio Ambiente sob no. sob no. 044/2011 SECEX/CEGEN Processo no. 02000.001642/201-31 (Tabela 1).

A demanda por inseticidas microbiológicos vem crescendo e alguns isolados, selecionados da coleção, para o controle de *Mahanarva fimbriolata* na cana-de-açúcar, *Deois flavopicta* em pastagens, como o IBCB 425 de *Metarhizium anisopliae* e IBCB 66 de *Beauveria bassiana* para o controle de *Cosmopolites sordidus* em banana, *Tetranycus urticae* em hortaliças e flores e *Bemisia tabaci* em diversas culturas, são referências para inseticidas microbiológicos aplicados na agricultura orgânica pelo Min. Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA, de acordo com a normativa no. 3 SDA/SDC, causando um aumento na demanda desses fungos no mercado, sendo necessário sua produção em massa. O isolado IBCB 425 de *M. anisopliae* é aplicado em mais de 1 milhão de hectares de cana-de-açúcar no Brasil e o IBCB 66 de *B. bassiana* está registrado por cinco empresas no sistema Agrofit do MAPA. A assessoria técnica para implantação e manutenção de biofábricas para produção de fungos entomopatogênicos por fermentação sólida é um trabalho de transferência de tecnologia mantido pelo Instituto Biológico e que tem produzido bioinseticidas sem efeitos poluentes para o ambiente, gerado empregos, divisas para o país e economia no campo (Almeida *et al.* 2015).

Referências bibliográficas

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos: biodiversidade para o controle microbiano de pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. v.20, n.3, p.30-33. 2001.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G. Programa de desenvolvimento de biofábricas para a produção de inseticidas microbiológicos a base de fungos entomopatogênicos por fermentação sólida. Resumo. 28ª. Reunião Anual do Instituto Biológico. **O Biológico**, v. 77, n. 2, p. 91, 2015.

ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.J.O.; FARIA, M.R. (coord.) **Recomendações para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas.** Ed. CP 2: Piracicaba, 2010, 52 p.

ALVES, S.B. (coord.) **Controle Microbiano de Insetos,** Alves, S.B. (ed.). Editora FEALQ: Piracicaba. 1998. 1163 p.

ALVES, S.B.; LOPES, R.B. ed. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina**. Ed. FEALQ: Piracicaba, 2008, 414 p.

BATISTA FILHO, A., L.F.A. ALVES, J.E.M. ALMEIDA, L. G. LEITE, L.A. MACHADO, V.A. COSTA, M. E. SATO, N.W. PERIOTO, R.I.R. LARA. Controle biológico de insetos e ácaros. **Boletim Técnico Instituto Biológico**, n. 15, 2006, 85 p.

Tabela 1. Isolados acondicionados na Coleção "Oldemar Cardim Abreu" Instituto Biológico, Lab. Controle Biológico, Campinas-SP.

Microrganismos	Número de isolados	Número de isolados	Manutenção 2015
	2001	2010	Viáveis
Arthrobotrys sp.	1	1	0
Aschersonia aleyrodis	1	1	0
Beauveria amorpha	1	1	0
Beauveria bassiana	197	348	257
Beauveria broghniartii	6	17	4
Beauveria sp	*	47	25
Cladosporium sp.	3	3	1
Cordycipes sp.	1	1	0
Hirsutella thompsonii	2	3	0
Metarhizium anisopliae	61	330	264
Metarhizium sp	*	5	1
Nomuraea rileyi	9	13	1
Paecilomyces fumosoroseus	21	23	6
Paecilomyces farinosus	15	18	4
Paecilomyces lillacinus	2	4	2
Paecilomyces sp	*	36	22
Sporothix insectorum	7	7	1
Sporothix sp	*	1	0
Verticilium lecanii	2	2	0
Verticilium sp	*	2	0
Lecanicilium lecanii	*	2	2
Lecanicilium muscarium	*	1	1
Lecanicilium sp	*	1	1
Colletotrictrum	*	1	0
Total	329	868	592