

## BANCO DE GERMOPLASMA DE BACTÉRIAS E FUNGOS AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO

Myrian S. Tigano e Rose G. Monnerat S. de Pontes  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF

**Palavras-chave:** coleção de culturas, controle biológico, fungos, *Bacillus* spp.

A conservação dos recursos genéticos vegetais, animais e microrganismos, envolvendo sua obtenção, identificação, caracterização e disponibilização, constitui prática indispensável ao desenvolvimento da pesquisa científica e tecnológica. No Brasil, país detentor da maior biodiversidade do planeta, a conservação de microrganismos ainda é bastante incipiente. No entanto, a necessidade de manutenção da diversidade biológica e a importância da função dos microrganismos nos ecossistemas são bastante reconhecidas. Além disso, a falta de preservação dos microrganismos implica na não exploração dos recursos genéticos que eles representam. Os recursos genéticos microbianos são de extrema importância para as áreas industrial, farmacêutica, agropecuária e preservação ambiental. Na área agrícola, a utilização dos microrganismos como agentes de controle biológico tem sido estimulada nos últimos anos, principalmente pela possibilidade de minimizar os impactos ambientais causados pelo uso dos pesticidas.

Mais de 1500 microrganismos encontrados na natureza são conhecidos pela capacidade de controlar pragas agrícolas de interesse econômico. Um número menor de microrganismos é também mencionado como antagônico aos patógenos de plantas. Bactérias e fungos são empregados eficientemente na substituição de defensivos agrícolas como os inseticidas, herbicidas e fungicidas. Mais de 100 bactérias e 750 fungos foram isolados de insetos e reconhecidos como causadores de doenças nos mesmos (Alves, 1998). Além disso, esses microrganismos representam uma fonte de genes que podem ser utilizados em organismos geneticamente modificados, como é o caso dos mais de 100 genes diferentes de *Bacillus thuringiensis*, os quais codificam proteínas eficazes contra insetos (Crickmore *et al.*, 1998).

A coleta de novos isolados de bactérias e fungos pode proporcionar um grande potencial na exploração de agentes de controle biológico de pragas. No Brasil, bactérias e fungos já apresentam resultados promissores nessa área. O fungo *Metarhizium anisopliae*, por exemplo, vem sendo aplicado há vários anos no controle de cigarrinha da cana-de-açúcar na região nordeste (Alves, 1998). Além disso, as bactérias *Bacillus sphaericus* e *B. thuringiensis* representam agentes potenciais no controle de diversas espécies de mosquitos (Schenkel *et al.*, 1992) e da lagarta do cartucho do milho (Silva-Werneck *et al.*, 1999), respectivamente.

A preservação de reservas naturais pode assegurar a conservação dos microrganismos *in situ*. Essa estratégia merece maior atenção quanto aos diferentes organismos envolvidos nos ecossistemas preservados. No entanto, existem ainda muitas implicações quanto ao uso dessa abordagem para a conservação dos microrganismos (Hawksworth, 1991).

A forma clássica de preservação de bactérias e fungos tem sido a conservação *ex situ*, através das coleções de culturas. Atualmente existem processos bastantes eficientes de conservação *in vitro*. Principalmente na Europa e nos Estados Unidos existem importantes coleções de culturas microbianas de caráter geral, e algumas mais especializadas. Este é o caso da coleção de culturas de fungos entomopatogênicos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Humber, 1992). Para bactérias entomopatogênicas, a coleção do Instituto Pasteur na França, mantida pela Organização Mundial de Saúde, se destaca como uma das mais importantes, disponibilizando estirpes padrões. No entanto, na maioria dos casos, as coleções não dão ênfase aos microrganismos das regiões tropicais e, ainda, várias dessas coleções não disponibilizam gratuitamente as culturas.

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) mantém um Banco de Germoplasma de bactérias e fungos agentes de controle biológico, desenvolvendo atividades de levantamento, coleta, isolamento, intercâmbio, caracterização e conservação desses microrganismos. Além disso, as culturas armazenadas são selecionadas quanto a patogenicidade e virulência a pragas de culturas agrícolas, em cooperação com outros centros da Embrapa e com outras instituições de pesquisa. As coleções de culturas desse banco contam atualmente com aproximadamente 2400 acessos (Tabela 1).

As culturas de fungos são preservadas a -196°C em nitrogênio líquido e a 4°C após liofilização. A viabilidade das culturas dos fungos entomopatogênicos armazenados por vários meses apresenta uma perda de no máximo 13,3% e 94,5% na germinação dos conídios para o material mantido em nitrogênio líquido e liofilizado, respectivamente (Faria *et al.*, 1999). Embora a conservação das culturas liofilizadas não seja tão eficiente a longo prazo como a preservação em nitrogênio líquido, o material liofilizado representa uma segurança para a coleção e facilita o intercâmbio de culturas.

As culturas de bactérias são conservadas em sua forma esporulada, em tiras de papel de filtro contidas em ampolas mantidas em temperatura ambiente. Esta técnica permite o armazenamento das estirpes por vários anos.

A manutenção e expansão desse banco permitirá a disponibilização desses agentes para estudos e uso no controle biológico, além de assegurar a preservação da biodiversidade e melhorar o conhecimento científico desses patógenos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, S. B. 1998. Controle Microbiano de Insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1163p.
- Crickmore, N.; Zeigler, D.R.; Feitelson, J.; Schnepf, E.; Van Rie, J.; Lereclus, D.; Baum J.; Dean, D.H., 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Review*, v. 62, 807-813.
- Faria, M.R., Martins, I., Mello, R. e Tigano, M.S. 1999. Entomopathogenic fungal (Hyphomycetes) collection: assessment of conidial viability. *Pesq. Agropec. Bras.* 34, 1497-1503.
- Hawksworth, D.L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycol. Res.* 95, 641-655.
- Humber, R. 1992. Collection of entomopathogenic fungal cultures: catalog of strains. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, ARS-110, 177p.
- Schenkel R. G. M.; Nicolas L.; Frachon E.; Hamon S., 1992. Characterization and toxicity to Mosquito Larvae of Four *Bacillus sphaericus* Strains Isolated from Brazilian Soils. *Journal of Invertebrate Pathology*, 60, 10-14.
- Silva-Werneck, J.O.; De-Souza, M. T.; Dias, J.M.C.S.; Ribeiro, B. 1999. Characterization of *Bacillus thuringiensis* subs. *kurstaki* strain S93 effective against the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Canadian Journal of Microbiology*, 45 (6): 464-471.

**Tabela 1. Banco de Germoplasma de Bactérias e Fungos Agentes de Controle Biológico.**

<b>Agentes</b>	<b>Nº armazenado</b>
<b>Bactérias entomopatogênicas do gênero <i>Bacillus</i></b>	
<i>B. cereus</i>	663
<i>B. laterosporus</i>	21
<i>B. pumillus</i>	1
<i>B. sphaericus</i>	302
<i>B. subtilis</i>	2
<i>B. thuringiensis</i>	404
<i>Bacillus</i> sp.	101
<b>Fungos entomopatogênicos</b>	
<i>Aschersonia aleyrodis</i>	1
<i>Beauveria</i> spp.	234
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	3
<i>Gliocladium</i> sp.	1
<i>Hirsutella thompsonii</i>	5
<i>Metarhizium</i> spp.	179
<i>Nomuraea</i> spp.	78
<i>Paecilomyces</i> spp.	173
<i>Sporothrix insectorum</i>	1
<i>Verticillium lecanii</i>	5
<b>Fungos patogênicos a plantas daninhas</b>	
<i>Alternaria</i> spp.	29
<i>Cercospora</i> spp.	40
<i>Myrothecium</i> sp.	1
<b>Outros fungos</b>	
<i>Dicyma</i> spp.	60
<i>Duddingtonia</i> spp.	8
<i>Harposporium anguillulae</i>	1
<i>Trichoderma</i> spp.	14
<b>Total</b>	<b>2.327</b>