III CONGRESSO INTERNACIONAL DAS **CIÊNCIAS AGRÁRIAS** COINTER - PDVAGRO 2018

TOLERÂNCIA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *BACILLUS* A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO INSETCIDA METOMIL

TOLERANCE OF BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS* TO DIFFERENT CONCENTRATION OF THE METHOMYL PESTICIDE

Apresentação: Pôster

Alyson da Silva Amorim¹; José Maciel Mariano da Silva²; Anderson Silva de Carvalho³;
Everlaine Leopoldino Dias Silva⁴; Júlia Kuklinsky Sobral⁵

DOI: <https://doi.org/10.31692/2526-7701.IIICOINTERPDVAGRO.2018.00678>

Introdução

A aplicação de bactérias em sistemas agrícolas e ambientais está sendo explorado em diversos aspectos, inclusive visando a biorremediação ambiental, visto que muitas bactérias são versáteis quanto a tolerância e até biodegradação de compostos químicos, como os resíduos dos pesticidas que contaminam os solos agrícolas. Dentre tais bactérias, o gênero *Bacillus* se destaca por apresentar a capacidade de crescer em variados ambientes, possuindo

¹ Engenharia Agrônômica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, alysonamorim.ccb@hotmail.com

² Engenharia Agrônômica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, jmaciel_mariano@outlook.com

³ Engenharia Agrônômica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, anderson_carvalho18@hotmail.com

⁴ Engenharia Agrônômica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, everlaineldias@gmail.com

⁵ Professor Associado na UFRPE-UAG, Universidade Federal Rural de Pernambuco, jksobral@yahoo.com.br

habilidade de conservar o meio ambiente, através de sua habilidade em biodegradar compostos poluentes (PEREIRA et al., 2012).

Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a tolerância a diferentes concentrações do inseticida metomil, utilizado no controle da *Spodoptera frugiperda*, praga chave da cultura do milho, por bactérias do gênero *Bacillus*. Para o teste de tolerância ao inseticida metomil, foram avaliadas duas linhagens bacterianas pertencentes ao gênero *Bacillus* (UAGAT35 e UAGAT71). Foi utilizado o meio mínimo mineral líquido modificado acrescido de glicose, onde cada tratamento recebeu 25,50, 100 e 200 mg L⁻¹ do inseticida metomil, além do tratamento controle, isento de inseticida. As duas bactérias avaliadas apresentaram tolerância ao inseticida, pois ambas desenvolveram-se bem em diferentes concentrações do metomil, sendo assim, aptas para exploração em programadas de manejo integrado, inclusive para avaliações visando a biorremediação ambiental.

Fundamentação Teórica

Uma das principais pragas do milho é pertencente à ordem Lepidoptera, da família Noctuidade, a espécie *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), conhecida vulgarmente como a lagarta do cartucho (FERNANDES ET AL., 2014). O inseto ataca a parte aérea, onde após a eclosão dos ovos, as lagartas, efetuam raspagem nas folhas (ROSA, 2011), e conforme os insetos vão crescendo fazem perfurações nas folhas, penetrando o cartucho, podendo danificar as espigas da cultura (MAPA, 2003).

Dentre os insumos agrícolas usados na produção agrícola do milho está o metomil, pesticida usado no controle da *S. frugiperda*, o mesmo faz parte do grupo químico metilcarbamato de oxima, que atua na transmissão sináptica inibindo a enzima acetilcolinesterase, ou seja, não permite a catalisação do neurotransmissor acetilcolina através

de sua enzima, provocando assim a passagem contínua dos impulsos nervosos, levando o inseto à fadiga e, conseqüentemente, a morte (GALLO et al., 2002).Embora tenha o manejo integrado de pragas (MIP) ainda é comum usar inseticidas químicos na agricultura, objetivando maior praticidade e eficiência no controle da *Spodoptera frugiperda*. Existem vários inseticidas registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2003) , como por exemplo estão os organofosforados, espinosinas, metilcarbamatos e entre outros e por conta do mal uso destes xenobióticos é bem visível a contaminação de solos, fontes hídricas, rios, lagos etc.Com isso, o uso da biodegradação de pesticidas por bactérias é importante e muito explorada nos estudos relacionados à biorremediação ambiental (JOUTEY ET AL., 2013). Há hoje uma preocupação em desenvolver técnicas que venham minimizar os impactos causados pelas más práticas agrícolas.Atualmente, o uso de bactérias promotoras de crescimento em plantas (BPCP) também está sendo uma alternativa muito vantajosa na agricultura, pois além do interesse em conduzir uma produção econômica e de alta qualidade, são usados como critérios de preservação ambiental e saúde humana (DARTORA et al., 2013).

Esse grupo de bactérias se classifica como micro-organismos benéficos, que podem estar localizados endofiticamente (no interior) ou epifiticamente (na superfície) nos vegetais (COMPANT; CLÉMENT; SESSITSCH, GARCIA et al 2002). É interessante ressaltar que todas estas e outras características executadas por esse grupo de micro-organismos, dependem de uma relação íntima e direta entre genótipos da bactéria interagindo com genótipo da planta (KUKLINSKY-SOBRAL et al., 2004). O uso de BPCP vem sendo estudado quanto a biorremediação ambiental, visto que muitos dos solos agrícolas estão contaminados por xenobióticos nocivos ao meio ambiente, como por exemplo os pesticidas.Dentre tais bactérias, está o gênero *Bacillus*, que possuem capacidade de sobreviver em condições adversas, como a presença de xenobióticos e ainda expressarem características como a promoção de crescimento vegetal, além disso, possuem habilidade de preservar o meio ambiente usando os xenobióticos como fonte de carbono, biodegradando as substâncias poluentes. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a tolerância de duas linhagens de *Bacillus*, UAGAT35 e UAGAT71, em relação a diferentes concentrações do inseticida metomil, utilizado no controle da *S. frugiperda*.

Metodologia

Foram utilizadas duas linhagens bacterianas de *Bacillus* sp., UAGAT35 e UAGAT71 (SILVA et al., 2016), as mesmas foram mantidas em meio TSA (Trypticase Soy Agar) e sob refrigeração de 4 °C, no laboratório de Genética e Biotecnologia Microbiana (LGBM) da Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAG – UFRPE). Para a avaliação de tolerância ao metomil, foi avaliado um inseticida comercial utilizado no controle da *Spodoptera frugiperda* em milho, o Lannate BR, que tem o Metomil como ingrediente ativo (215 g.i.a L), fabricante Du Pont.

As bactérias foram inoculadas a partir de colônias isoladas em meio TSA (Trypticase Soy Agar) 10% líquido, sendo mantidas sob agitação constante (125 rpm), durante 24-48 horas. Após, retirou-se 2 mL do inóculo para a verificação da densidade óptica em espectrofotômetro (600 nm), sendo transferidos 10 microlitros do inóculo bacteriano para tubos contendo 25 mL de Meio Mínimo Mineral (MMM) líquido modificado: 3 g K_2HPO_4 ; 0,5 g KH_2PO_4 ; 1,25 g $(NH_4)_2SO_4$; 10 mg NaCl; 100 mg $MgSO_4$; 1 mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ por litro, com PH 7,3 (MENDONZA et AL., 2011), acrescido de glicose (10 g.^l) como fonte de carbono, seguido dos seguintes tratamentos: 0 mg L⁻¹ – 25 mg L⁻¹ – 50 mg L⁻¹ – 100 mg L⁻¹ – 200 mg L⁻¹ do inseticida Metonil. Em seguida, as amostras foram inoculadas sob agitação constante (124 rpm), à 28 °C. Durante 11 dias, a densidade Óptica foi verificada em seis leituras, em intervalos de 24 horas para as cinco primeiras leituras e um intervalo final de 6 dias para a última leitura. O experimento foi realizado em triplicata, foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.4 (FERREIRA, 2010).

Resultados e Discussões

Gráfico 1: Densidade Óptica (600 nm) das Bactérias UAGAT 35 E UAGAT 71 em Meio de Cultura MMM Acrescido de Glicose Sob os Tratamentos de Diferentes Concentrações do Inseticida Metomil Durante 11 Dias

Não houve diferença estatística entre as bactérias nos diferentes tratamentos. Entre a quinta e a sexta leitura houve um intervalo de 6 dias, com isso percebeu-se que em ambas as bactérias submetidas ao tratamento de 200mgL⁻¹ apresentaram maior crescimento bacteriano, podendo-se especular que no decorrer dos dias, as mesmas foram adquirindo tolerância a esta

concentração,este mesmo efeito ocorreu ao tratamento de 25mgL⁻¹. Em relação ao tratamento 100mgL⁻¹ até a quarta leitura as bactérias apresentaram boa tolerância,todavia ao passar da quarta até a sexta leitura ocorreu um decréscimo de tolerância em ambas bactérias, sendo refletido por sua queda no crescimento bacteriano. Em relação ao desdobramento tempo e tratamento na análise estatística, a bactéria UAGAT35 e 71, nos tratamentos 25mgL⁻¹ e 200 mgL⁻¹ na quinta e sexta leitura, apresentou um melhor desenvolvimento e tolerância quando comparada as leituras anteriores, mas estatisticamente não houve diferença entre elas. E em relação ao desdobramento das bactérias aos tratamentos não houve diferença estatísticas entre elas..

Conclusões

As bactérias UAGAT35 e UAGAT71, do gênero *Bacillus*,foram capazes de crescer em diferentes concentrações do inseticida metomil, ou seja, apresentaram tolerância até concentrações maiores que a aplicação no campo.Com isso, as mesmas podem ser usadas melhor exploradas em programas de manejo integrado, visando até a capacidade de biorremediação de inseticidas.

Referências

AGROFIT: **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**.2003.Acessado em 17 de set. 2018. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br-agrofit> .

BATISSON, I; CROUZET, O; BESSE-HOGGAN, P; SANCELME, M; MANGOT, JF; MALLET, C; BOHATIER, J. **Isolamento e Caracterização de *Bacillus* sp. do Solo**. Editado por Bernd Nowack Volume 157, Edição 4, Páginas 1063-1396 (abril de 2009).

CONAB: **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2018. 2003. Acessado em 17 de set. 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2359-safra-de-graos-volta-a-nivel-historico-com-producao-de-232-milhoes-de-toneladas>.

FERREIRA, D.F **SISVAR- Sistema de análise de variância. Versão 5.4** UFLA- MG Lavras, 2010.

FERNANDES, O.D.; PARRA, J.R.; NETO, A.F.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A.F .e DEMÉTRIO, C.G.B. **Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo. V.2, n.2. 25-35 p. Piracicaba. 2003.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. 920 p. FEALQ.Piracicaba, 2002.

JIN-LIANG, XU; JUN, WU; ZHI-CHUN, WANG; KUN, WANG; MENG-YING, LI; JIAN-DONG, JIANG; JIAN, HE e SHUN-PENG, LI. **Isolation and Characterization of a Methomyl-Degrading *Paracoccus* sp. Mdw-1**. Pedosphere. 238-243 p.china, 2009.

MENDOZA, JOSÉ C.; PEREA, YAZMIN S.; SALVADOR, JAME A.; MORALES, JANETTE A. e PÉREZ, GABRIELA. **Biodegradación Bacteriana de Plaguicidas Permetrina Y Cipermetrina em Cultivo Lote**. Avances em Ciencias e ingeniería, vol. 2, n.3. 45-55 p. Puebla, México. 2011.

MENEZES, ANASTÁCIO F.; OKEKE, THOMAS W.**Biorremediação de Solos Contaminados por óleo Diesel**. Braz. J. Microbiol. vol.34 suppl.1 São Paulo Nov. 2003

NITSCHKE, M.; PASTORE, GM. **Biossurfactantes: Propriedades e Aplicações**.*Quim. Nova*, Vol. 25, No. 5, 772-776, 2002.,Capinas-SP, 2002.

PEREIRA, A,R; FREITA, D.A. **Uso de Microorganismos Para a Biorremediação de**

Ambientes Impactados. Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental. v(6), nº 6, p. 975 – 1006, 2012.

SENE, L.; CONVERTI, A.; SECCHI, G.A.R.; SIMAO, R.C.G. **New aspectson atrazine biodegradation.** *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2010, vol.53, n.2.

SILVA, G.F; SANTOS, I.B; SOUSA, A.J; FARIAS, A.R; DINIZ, P.W; SOBRAL, K.S; FREIRE, M.B. **Bioprospecting and plant growth-promoting bacteria tolerant to salinity associated with *Atriplex nummularia* L. in saline soils.** *African Journal of Microbiology Research.* Vol. 10(31), pp. 1203-1214, 21 August, 2016.

VARGHA, M., TAKATS, Z., MARIALIGETI K. (2005). **Degradação da atrazina em um sistema modelo em escala de laboratório com o rio Danúbio sedimentos.** *Wat. Res.*, 39 , 1560 - 1568.