



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS HUMANAS- CAMPUS IX
ENGENHARIA AGRONÔMICA

**AVALIAÇÃO DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO DO CERRADO
BAIANO PARA CONTROLE DE *Spodoptera cosmioides*.**

MARA GOMES DA SILVA

BARREIRAS-BA
Dezembro- 2018

MARA GOMES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO DO CERRADO
BAIANO PARA CONTROLE DE *Spodoptera cosmioide*.**

Monografia apresentada ao Colegiado de Engenharia Agrônômica da Universidade do Estado da Bahia – UNEB, Campus IX, como requisito parcial para avaliação do Trabalho de Conclusão do Curso de Engenharia Agrônômica.

Orientador: Prof. DSc. João Luís Coimbra.

BARREIRAS-BA

Dezembro-2018

**AVALIAÇÃO DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO DO CERRADO
BAIANO PARA CONTROLE DE *Spodoptera cosmioide*.**

Monografia apresentada ao Colegiado de Engenharia Agrônômica da Universidade do Estado da Bahia- UNEB- Campus IX, como requisito parcial para avaliação do trabalho de conclusão do curso de Engenharia Agrônômica.

Banca Examinadora:

Prof. DSc. João Luís Coimbra (Orientador)

Universidade do Estado da Bahia (UNEB)

Prof. DSc. Marco Antônio Tamai (Coorientador)

Universidade do Estado da Bahia (UNEB)

Heliab Bonfim Nunes (Examinador)

Universidade do Estado da Bahia (UNEB)

Aprovado (a) em: ____ de _____, 2018.

Dedico,

A minha mãe Josefa Farias Gomes, ao meu pai Mário Pedreira da Silva e as minhas irmãs Ana Paula Gomes da Silva e Mariana Gomes da Silva, por todo apoio e confiança ao longo de toda minha caminhada.

Aos meus amigos Anderson Gonzaga, Josiélia Montalvão, Vandyse Abades e Iara Rodrigues por toda parceria, força, apoio e incentivo em todos os momentos bons e ruins.

Ao meu companheiro de todas as horas, Rildo Nero da Silva Junior, por todo apoio, paciência e dedicação comigo.

A todos que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as conquistas e por me permitir chegar até aqui.

Ao Prof. DSc. João Luís Coimbra, pela orientação, confiança e oportunidade para realização desse trabalho.

Ao prof. DSc. Marcos Antônio Vanderlei Silva, pela orientação, confiança e todos os ensinamentos transmitidos.

Ao prof. DSc. Marco Antônio Tamai, pela orientação na realização do trabalho.

A Universidade do Estado da Bahia, *Campus IX* e ao Colegiado de Engenharia Agrônômica pela oportunidade de todo conhecimento.

SILVA. M. G. AVALIAÇÃO DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO DO CERRADO BAIANO PARA CONTROLE DE *Spodoptera cosmioide*. 2018. 37 p. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônômica). Universidade do Estado da Bahia, Barreiras-BA. 2018.

RESUMO

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a eficiência de actinomicetos do gênero *Streptomyces* isolados em solo de Cerrado Baiano no controle biológico do inseto-praga *Spodoptera cosmioide*. Folhas de soja (*Glycine max*) foram lavadas em água corrente e secas com papel toalha. Após a secagem, as folhas foram imersas na suspensão de esporos de actinomicetos. Após essa operação as folhas foram colocadas em um recipiente plástico com tampa descartável contendo papel filtro esterilizado e umedecido com água destilada. Depois de realizado todo esse processo foi colocado no recipiente uma lagarta em seu 1º Instar da espécie *S. cosmioide* cedida pelo laboratório de Entomologia do Campus IX da UNEB. Os recipientes foram mantidos fechados dentro de uma BOD (Biochemical Oxygen Demand) com temperatura controlada a 25°C durante 13 dias. Durante esse período, com auxílio de uma lupa, foram observados os seguintes parâmetros: mobilidade da lagarta, taxa de mortalidade, comportamento alimentar e coloração. Foi calculada uma taxa de mortalidade diária utilizando o programa de planilhas eletrônicas (Excel). Através dos dados obtidos pode-se concluir que todos os isolados de actinomicetos testados demonstraram capacidade de causar mortalidade nas lagartas *S. cosmioide*, apresentando potencial em ser empregado como agente de controle biológico.

Palavras-chave: Controle Biológico; *Streptomyces*; Lagarta-das-vagens;

SILVA. M. G. EVALUATION OF ACTINOMICETES ISOLATED IN CLOSED SOIL FOR CONTROL OF *Spodoptera cosmioide*. 2018. 37 p. Monography (Graduation in Agronomic Engineering). State University of Bahia, Barreiras-BA. 2018.

ABSTRACT

The present research had as objective to evaluate the efficiency of actinomycetes of the genus *Streptomyces* isolated in soil of Cerrado Baiano in the biological control of the insect pest *Spodoptera cosmioide*. Soybean leaves (*Glycine max*) were washed in running water and dried with paper towel. After drying, the leaves were immersed in the spore suspension of actinomycetes. After this operation the leaves were placed in a plastic container with a disposable lid containing filter paper sterilized and moistened with distilled water. After this process was carried out, a caterpillar was placed in the first instar of the *S. cosmioide* species, provided by the UNEB Campus IX Entomology Laboratory. The containers were kept closed inside a BOD (Biochemical Oxygen Demand) with controlled temperature at 25°C for 13 days. During this period, with the aid of a magnifying glass, the following parameters were observed: caterpillar mobility, mortality rate, feeding behavior and staining. A daily mortality rate was calculated using the spreadsheet program (Excel). Through the obtained data it can be concluded that all the isolates of actinomycetes tested showed the capacity to cause mortality in *S. cosmioide* caterpillars, presenting potential to be used as a biological control agent.

Keywords: Biological Control; *Streptomyces*; Pod-caterpillar;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxa de mortalidade acumulada diária para cada tratamento durante os 13 (treze) dias de avaliação do experimento.....	27
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem da lagarta adulta, o inseto fêmea e macho da espécie <i>S. cosmioide</i> . Fonte: Embrapa- Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja.....	155
Figura 2. Massa de ovos depositada pelo inseto, sua fase larval e pupa. Fonte: Embrapa- Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja.....	16
Figura 3. Esquematização do Ciclo de Vida da Lagarta das vagens <i>Spodoptera cosmioide</i> . Fonte: Manual de Bolso Pragas da Cultura da Soja-Monsanto.....	177
Figura 4. Experimento mantido dentro da BOD durante os 13 dias de avaliação.....	21
Figura 5. Processo de repicagem (A e B) e placas com crescimento dos Actinomicetos após a repicagem (C).....	22
Figura 6. Processo de preparo da suspensão de esporos	23
Figura 7. Folhas de soja coletadas e lavadas.....	23
Figura 8. Folhas de soja após o processo de lavagem e secagem sendo submersas na suspensão de esporos	24
Figura 9. Taxa de Mortalidade Acumulada no Final do experimento.....	26

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Cultura da Soja (<i>Glycine max</i>).....	12
2.2 Características gerais dos Actinomicetos.....	13
2.3 Lagarta-das-vagens (<i>Spodoptera cosmioide</i>).....	15
2.4 Controle biológico.....	17
2.5 Tipos de Controle biológico	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Repicagem dos Actnomicetos	21
3.2 Obtenção da suspensão de esporos dos actinomicetos	22
3.3 Montagem do experimento.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
APÊNDICE.....	33

1. INTRODUÇÃO

Dentre os grãos mais cultivados no mundo, a soja (*Glycine max*) ganha destaque pelo grande avanço científico aliado a tecnologia empregada no seu cultivo visando a obtenção de melhores produtos e maior rentabilidade da produção. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, atrás apenas dos EUA (EMBRAPA, 2016). A região Oeste da Bahia ganha destaque na produção do grão de soja sendo boa parte da produção destinada à exportação.

A safra 2017/18 quebrou todos os recordes de produção, a temporada atingiu a marca histórica ao contabilizar a produtividade de 66 sacas de soja por hectare, em uma área total de 1,6 milhões de hectares cultivados totalizando 6,3 milhões de toneladas (AIBA, 2018) Entretanto, a cultura da soja vem sofrendo com ocorrência de doenças e ataque de pragas que podem afetar a sua produção. No Cerrado, a *S. cosmioide* é uma espécie altamente polífaga, considerada praga de importância crescente nas culturas de soja.

Esse tipo de praga pode atacar as plantas logo após a emergência e causar redução de estande inicial, ocasionando até a necessidade de replantio da lavoura, além de causar desfolhamento severo ao longo do ciclo de desenvolvimento das culturas, e danificar as vagens das leguminosas. As utilizações de variedades resistentes como plantas transgênicas e controle químico são atualmente empregadas para minimizar a ocorrência dessa praga.

O controle biológico é uma importante estratégia para manutenção de pragas agrícolas em níveis de população toleráveis. Além de ser um método natural visa empregar microrganismos que irão atuar sob o inseto praga quando atinge dano de nível econômico. Nos últimos anos têm-se estudado muito sobre controle biológico e vem sendo desenvolvidos pesquisas a respeito (JANAKI, 2016). Dentre os habitantes da rizosfera das plantas, os actinomicetos são bactérias que podem ser promissoras para o controle de pragas, em virtude da sua ampla capacidade de produção de metabólicos tóxicos (COIMBRA, et al.,2004).

Os actinomicetos são bactérias Gram positivas bastante estudadas no controle de vários organismos de solo entre eles nematoides, fungos e bactérias. O emprego desse microrganismo deve-se a grande quantidade de antibiótico

produzido e por suportarem ambientes com grandes adversidades ambientais. Em alguns trabalhos já foi demonstrado o potencial dos actinomicetos em controlar insetos pragas (JANAKI, 2010)

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos actinomicetos isolados do solo de cerrado da Bahia em controlar a *Spodoptera cosmioide* na cultura da soja.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da Soja (*Glycine max*)

A soja que hoje cultivamos é muito diferente dos seus ancestrais, que eram plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtse, na China. Sua evolução começou com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China. Na segunda década do século XX, o teor de óleo e proteína do grão começa a despertar o interesse das indústrias mundiais. No entanto, as tentativas de introdução comercial do cultivo do grão na Rússia, Inglaterra e Alemanha fracassaram, provavelmente, devido às condições climáticas desfavoráveis. No final da década de 60, dois fatores internos fizeram o Brasil começar a enxergar a soja como um produto comercial, fato que mais tarde influenciaria no cenário mundial de produção do grão. Atualmente o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, com uma produção de 116,996 milhões de toneladas na safra 2017/18. (EMBRAPA, 2018).

A região Oeste destaca-se pela atividade em larga escala, realizada com empreendedorismo e alto nível de excelência nos processos de produção, tornando-se modelo de crescimento agrícola e uso de tecnologia avançada. O clima da região Oeste conta com estações bem definidas, topografia plana e índices pluviométricos que contribuem na definição dos limites territoriais, além de uma extensa bacia hidrográfica com rios perenes sobre o aquífero Urucuia, potencializando a irrigação. A produção está concentrada entre os municípios de Barreiras, Luís Eduardo Magalhães, São Desidério, Formosa do Rio Preto, Correntina, Riachão das Neves, Jaborandi, Cocos e Baianópolis. A sojicultura movimenta a economia com a comercialização de 50% da soja in natura para indústrias da região e com a exportação de 47% da produção para países como China e Holanda.

Os avanços no campo das pesquisas científicas, com o desenvolvimento de novas cultivares, adaptadas às mais diferentes condições de clima e solo, possibilitaram, de uma hora para outra, que o produtor possa colher um volume bem superior ao de anos atrás, e isso com uma área bastante reduzida. Toda essa produtividade, no entanto, gera uma massa que, se não for corretamente

manipulada, pode causar problemas como: armazenagem e escoamento de grãos, diminuição do volume de áreas para o plantio de outras culturas, além de facilitar a propagação de fungos e pragas causados pela prática da monocultura.

A região Oeste da Bahia é destaque na produção de soja, mas também enfrentam grandes problemas com ataques de pragas, a utilização de produtos químicos de forma exagerada na tentativa de controlar esse problema cria certa resistência por parte do inseto o que torna mais difícil seu controle. É necessário o desenvolvimento de estudos que propiciem alternativas de controle fazendo com que a produção não perca seu potencial.

2.2 Características gerais dos Actinomicetos

Os actinomicetos são bactérias Gram positivas com alto conteúdo de guanina/citosina em seu genoma e pertencentes ao filo *Actinobacterias*. São microrganismos anaeróbicos, filamentosos possuindo alta diversidade morfológica e um crescimento lento. Os actinomicetos produzem micélio aéreo e vegetativo, com esporos para sua dispersão, crescimento e reprodução sobrevivendo em condições adversas (HOLT et al., 1994; BATISTA, 2010 *apud* OLIVEIRA, 2014).

Estes se caracterizam pela produção de metabólicos, um exemplo destes são os antibióticos produzidos principalmente, como metabólicos secundários no final da fase exponencial do ciclo de crescimento. Os actinomicetos também são notórios na produção de pigmentos, enzimas extracelulares e compostos terpenóides que dão odor característico ao solo.

A diversidade morfológica dos actinomicetos pode ser exemplificada, primariamente, pelas suas estratégias reprodutivas que levam a formação de uma variedade de estruturas de esporos, como os artrósporos, característicos de *Streptomyces*. Os esporos de *Streptomyces* não são resistentes ao calor e são metabolicamente menos ativos do que as células vegetativas, mas possuem algumas enzimas e metabólitos endógenos e exógenos. Os actinomicetos possuem uma grande variedade de habitats podendo ser isolados de humanos, plantas, animais e produtos alimentícios.

Compreendem mais de 30% da população total de microrganismos do solo e são adaptados para crescerem sobre substratos sólidos com pH neutro á alcalino embora muitos cresçam em solos ácidos. São microrganismos capazes de utilizar

fontes variadas de carbono e energia onde a maioria é aeróbia e crescem preferencialmente em solos de pH neutro á alcalino, embora muitos cresçam em solos ácidos e sua dispersão se dá por meio de esporos hidrofóbicos, adaptados à dispersão aérea (MONCIARDINI et al., 2002 *apud* MARGARONI, 2003).

O gênero *Streptomyces* produz uma ampla diversidade de compostos bioativos incluindo moléculas com atividade antibacteriana, antifúngica, antiviral, inseticida, herbicida, entre outras, portanto, tem-se tornado organismos de interesse no controle biológico em razão da grande produção de compostos, sobretudo antibióticos com contribuição de 2/3 da produção total das substâncias já conhecidas (CHALLIS, HOPWOOD, 2003 *apud* OLIVEIRA, 2014).

Problemas de contaminação são comuns no sistema de produção, exigindo, portanto, medidas alternativas capazes de minimizar o gasto com insumos necessários ao controle de patógenos. Entre diversas técnicas, o controle biológico tem demonstrado eficiência no manejo de diversas doenças. Microrganismos capazes de controlar patógenos de plantas colaboram para a redução dos danos que afetam os processos vitais do vegetal e indiretamente auxiliam no crescimento do hospedeiro.

Por produzirem metabólitos secundários, influenciam o desenvolvimento da planta e a produção de hormônios que atuarão na secreção de antibióticos e toxinas atuando no controle de patógenos da planta. Esses organismos são empregados no biocontrole, ou seja, são utilizados para deduzir a intensidade das fitomoléstias provocadas nas plantas por outros organismos. As actinobactérias possuem grande potencial como agente de controle biológico de fitopatógenos, pois ao se associarem à planta hospedeira, produzem antibióticos, sideróforos e enzimas com ação antimicrobiana. O gênero *Streptomyces spp.* produz enzimas extracelulares, como endoglucanase que possibilita a degradação da parede celular de fitopatógenos de plantas (HOSTER et al., 2005 *apud* GUEDES, 2014).

O uso de microrganismos seja ele fungos ou bactérias pode ser uma alternativa para controle de doenças de plantas, proporcionando assim um biocontrole e contribuindo para o meio ambiente, diminuindo a utilização de produtos químicos que coloca em risco até mesmo a saúde humana.

2.3 Lagarta-das-vagens (*Spodoptera cosmiode*)

A lagarta da vagem, cientificamente conhecida como *S. cosmiode*, apresenta importância agrícola devido ao fato de alimentar-se de plantas de valor econômico, como gramíneas e leguminosas. As condições climáticas de uma região podem ser fatores determinantes para a ocorrência desta praga, pois afetam diretamente o desenvolvimento e o comportamento do inseto.

De modo geral, a faixa ótima para o desenvolvimento e atividade dos insetos situa-se entre 15°C e 38°C. Dentro dessa faixa favorável, a temperatura influencia, entre outros fatores, a velocidade de desenvolvimento, que aumenta conforme a temperatura. Com relação à desfolha o nível de ação é de 30% de desfolha no estágio de desenvolvimento vegetativo e 15% de desfolha no estágio reprodutivo (LEAL, 2015).

Conhecida popularmente como lagarta-das-vagens, esta espécie era referida como *S. latifacia*, mas referências recentes indicam que esta espécie está restrita aos Estados Unidos. As lagartas apresentam variações de cor desde amarelo-claro a preto, com listras ao longo do corpo, podendo medir 50 mm de comprimento no último instar.

Nessa fase, apresentam movimentos vagarosos, deslocando-se lentamente. Os adultos são mariposas que medem de 16 a 20 mm e apresentam dimorfismo sexual, as asas anteriores dos machos são de cor marrom avermelhado. As asas posteriores são brancas com manchas cinza nas escamas na parte distal já nas fêmeas, as asas anteriores são pardas, com muitos riscos ou desenhos brancos que se interceptam e as posteriores são de coloração branca. As fêmeas depositam ovos em massas sobre as folhas (RICARDO, 2014).



Figura 1. Imagem da lagarta adulta, o inseto fêmea e macho da espécie *S. cosmiode*. Fonte: Embrapa- Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja.

As pupas de cor avermelhada apresentam padrão comum aos noctuídeos e são encontradas no solo, a poucos centímetros de profundidade. Os ovos são colocados na parte inferior das folhas perto da nervura principal, são de coloração amarela e recoberta por escamas que a fêmea coloca para proteção dos mesmos. É uma importante praga da fase reprodutiva da cultura da soja e o dano causado pelo inseto é principalmente o ataque às vagens e quando o ataque se dá nas folhas, o consumo é aproximadamente o dobro em relação ao consumo foliar de cada uma das demais espécies de lagartas desfolhadoras que também ocorre na cultura da soja (LEAL, 2015).



Figura 2. Massa de ovos depositada pelo inseto, sua fase larval e pupa. Fonte: Embrapa- Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja.

A *Spodoptera C.* tem se destacado entre as pragas que atacam a cultura da soja, pois é um inseto que causa muito prejuízo, além da sua agilidade para se alimentar das vagens ele também destrói rapidamente as folhas da planta causando um prejuízo maior ao produtor. É necessário entender o comportamento do inseto e o seu ciclo de vida para que se possa estudar uma alternativa de controle diminuindo assim a sua população e evitando prejuízos futuro.

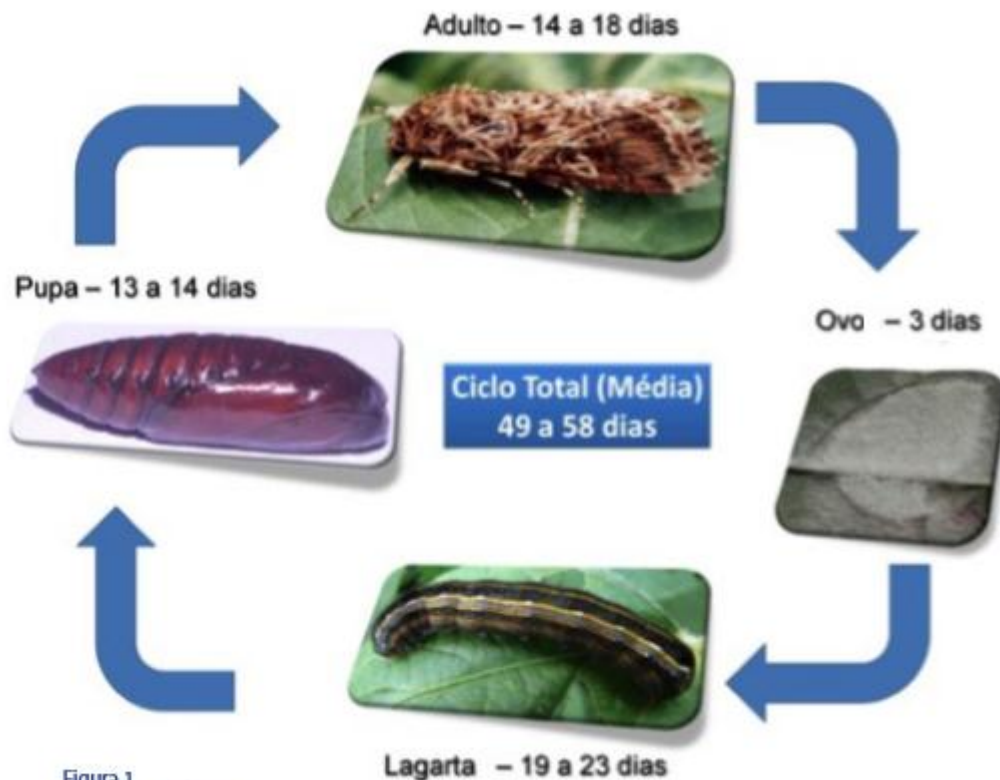


Figura 1
Fonte: Ivan Schuster

Figura 3. Esquemática do Ciclo de Vida da Lagarta das vagens *Spodoptera cosmioides*.
Fonte: Manual de Bolso Pragas da Cultura da Soja- Monsanto.

2.4 Controle biológico

No cenário do controle biológico, doença é o fruto de uma relação entre hospedeiro, organismos patogênicos e o ambiente, bem como os organismos não patogênicos residentes no sítio da infecção e que apresentam potencial para limitar a atividade do patógeno ou aumentar a resistência do hospedeiro, portanto, os componentes que constituem um biocontrole são a planta hospedeira, o patógeno e seus antagonistas onde ocorre uma interação entre todos num sistema biológico sob influência do ambiente.

Sendo assim o controle biológico define-se como o controle de um micro-organismo através de outro micro-organismo. Muito diferente do controle químico, o controle biológico não expressa um resultado rapidamente fazendo assim com que seja necessário a utilização de um método de controle auxiliar. O uso do biocontrole objetiva na produção mais sustentável de alimentos, sem aplicação de agrotóxico além de ser substâncias biodegradáveis, contribuindo assim com a redução de custos (SILVA, et al., 2013). Entre as bactérias, os actinomicetos vem se destacando

pela sua capacidade em produzir substâncias importantes com capacidade para controlar micro-organismos fitopatogênicos demonstrando assim um excelente potência antagônico (FILHO, et al., 2009 *apud* OLIVEIRA, 2014).

No Brasil, com a expansão de áreas cultivadas e uma exploração agrícola cada vez mais intensa, tem sido notado ao longo dos anos um aumento significativo no número de pragas, deixando os agricultores na dependência muitas vezes do controle químico. Isso pode trazer diversas consequências ao meio ambiente e a saúde humana, e nem sempre proporcionando resultados de controle satisfatórios (LEITE, et al., 2006).

Com o aumento dos danos e o surgimento de populações de insetos-praga resistentes a diversos defensivos agrícolas, os produtores voltaram-se para os métodos alternativos de controle que, se utilizados corretamente, podem manter a população da praga em níveis satisfatórios, ou seja, em níveis abaixo daqueles que causariam danos econômicos (FERNANDES & CARNEIRO, 2006). Dentre estes métodos encontram-se o controle biológico, que pode ser adotado dentro de um contexto de Manejo Integrado de Pragas (MIP), que considera aspectos ecológicos, econômicos, toxicológicos e sociais para a tomada de decisão de controle (BARBOSA, 2015).

2.5 Tipos de Controle biológico

O controle biológico é um componente da estratégia de manejo integrado de pragas e pode ser compreendido de três formas (BUENO, 2014):

- **Controle Biológico clássico**

Consiste na importação e colonização de parasitoides ou predadores, visando ao controle de pragas exóticas (eventualmente nativas). De maneira geral, as liberações para aumentar com o passar do tempo, e, portanto, somente se aplicaria a culturas semiperenes ou perenes.

- **Controle Biológico Natural**

Envolve as ações combinadas (fatores bióticos e abióticos) de todo o meio ambiente na manutenção das densidades características da população, e do

equilíbrio natural. Muitos organismos-praga potenciais podem ser mantidos em densidades muito abaixo dos níveis de danos por inimigos naturais que ocorrem naturalmente no campo, mas mesmo em agroecossistemas, muitas pragas potenciais são mantidas em níveis que não causam danos, por meio da ação dos inimigos naturais que ocorrem naturalmente. É muito utilizado quando práticas agrônômicas são realizadas no intuito de conservar os inimigos naturais presentes ou quando se utilizam agrotóxicos seletivos no manejo integrado de pragas (MIP). O controle biológico natural é muito importante em programas de manejo de pragas, pois são responsáveis pela mortalidade natural no agro ecossistema e, conseqüentemente, pela manutenção do nível de equilíbrio das pragas.

- **Controle biológico aplicado**

Esse tipo de controle envolve a interferência do homem e funciona no sentido de incrementar as interações antagônicas que ocorrem entre os seres vivos na natureza. Pode ser clássico, de conservação e aumentativo.

O controle biológico clássico: envolve a importação dos agentes de controle de uma região para outra, de modo a estabelecer um equilíbrio biológico a uma dada praga. Uma série de estudos, no entanto, deve ser realizada previamente com esses agentes de controle para que haja certeza no que diz respeito à segurança e efetividade, antes da implantação do programa.

O controle biológico aumentativo: onde os inimigos naturais são periodicamente introduzidos e liberados, após a criação massal em laboratório; é comercialmente aplicado em grandes áreas em vários sistemas de cultivo ao redor do mundo.

Liberação inundativa: os inimigos naturais são criados massalmente em laboratório, sendo periodicamente liberados em grandes números para obter um efeito de controle imediato de pragas por uma ou duas gerações, isto é, esses organismos são usados como inseticidas biológicos.

Esse tipo de controle biológico é bem aceito, pois tem um tipo de ação rápida, muito semelhante à de inseticidas convencionais. O controle biológico aplicado refere-se ao preceito básico de controle biológico atualmente chamado de multiplicação (criações maçais), que evoluiu muito com o desenvolvimento das dietas artificiais para insetos.

2.6 Perspectivas futuras do Controle Biológico No Brasil

O controle biológico ainda está num estágio inicial de desenvolvimento, havendo, portanto, muito conhecimento a ser gerado nesse campo. Os defensivos biológicos vieram para complementar um pacote de ferramentas de manejo que resultem em soluções para problemas fitossanitários, no qual os químicos também estão inseridos.

Devido à necessidade de que o meio ambiente seja preservado, o controle biológico tende a ser cada vez mais utilizado juntamente com alternativas de controle. A biotecnologia contribuirá para que o controle biológico passe por inovações incluindo plantas transgênicas com genes de patógenos (Bt, por exemplo) ou mesmo plantas transformadas contendo inibidores de proteinase. O Brasil tem um grande potencial por estar em uma região tropical onde o número de agentes de controle biológico é bastante grande, a maioria deles desconhecida e a comunidade científica está conscientizada da necessidade da utilização do manejo de pragas, que tem no controle biológico um de seus principais aliados. O controle biológico de pragas desempenha um papel fundamental nas tomadas de decisões das medidas sanitárias e fitossanitárias ao diminuir o uso de agrotóxicos para o controle de pragas em sistemas de produção agrícola, contribuindo de forma preponderante para a obtenção de a inocuidade alimentar e sustentabilidade ambiental (Sá & Oliveira, 2006 *apud* BARBOSA, 2015). Esse tipo de controle ainda possui certa resistência por parte do produtor rural em adotá-lo, pois ainda é um método de custo elevado, e está em um estágio inicial de desenvolvimento, mas que vem sendo testado e surgindo resultados satisfatórios. Muitas pesquisas ainda precisam ser desenvolvidas e serem levadas a campo, para saber o efeito desse tipo de controle em áreas maiores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Microbiologia na Universidade do Estado da Bahia, no campus IX de Barreiras-BA, onde foram avaliados 4 (quatro) isolados de actinomicetos do gênero *Streptomyces spp.* isolados em solo de cerrado baiano, pertencentes ao laboratório. Os isolados de Actinomicetos foram multiplicados em meio de cultura sólido BDA (Batata-dextrose-ágar) e mantidos em câmara de incubação do tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) com temperatura á 25 C° por 13 dias (Figura 4).



Figura 4. Experimento mantido dentro da BOD durante os 13 dias de avaliação. Foto: Mara Gomes.

3.1 Repicagem dos Actinomicetos

Para o processo de repicagem dos Actinomicetos, foi utilizado placas de Peri esterilizadas contendo o meio de cultura BDA. A repicagem das bactérias foi realizada em uma câmara de fluxo laminar. Para isso, com auxílio de uma alça de platina esterilizada, foi realizada estrias fazendo movimentos suaves de forma a espalhar as colônias de actinomicetos no meio de cultura (Figura 5). Após essa operação as placas foram fechadas e mantidas na BOD sob a temperatura de 25°C por um período de 7 a 8 dias até o completo crescimento da bactéria.

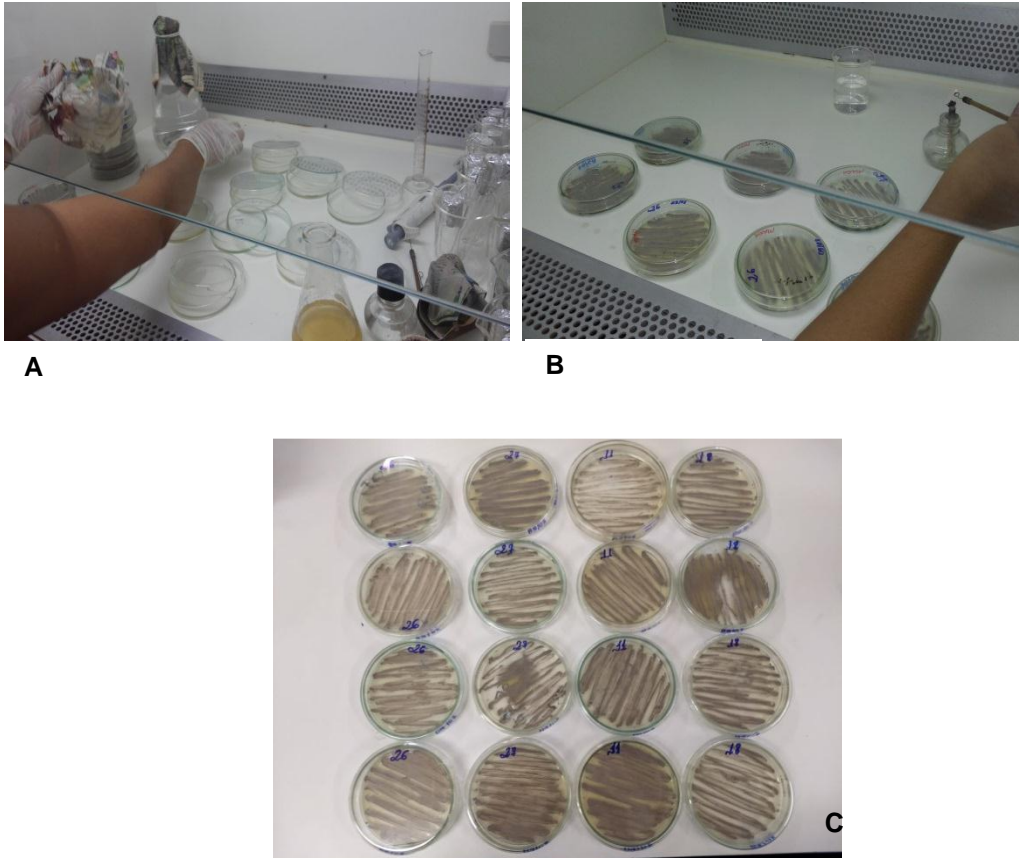


Figura 5. Processo de repicagem (A e B) e placas com crescimento dos Actinomicetos após a repicagem (C). Foto: Mara Gomes

3.2 Obtenção da suspensão de esporos dos actinomicetos

A suspensão de esporos foi obtida utilizando 2 (duas) placas de cada isolado de actinomiceto, repicado conforme descrito anteriormente. A obtenção da suspensão de esporos foi realizada dentro da câmara de fluxo laminar adicionando 25 ml de água destilada no interior das placas com crescimento bacteriano. Em seguida foi feita uma raspagem com auxílio de alça de platina de forma a obter os esporos em suspensão (Figura 6).



Figura 6. Processo de preparo da suspensão de esporos. Fonte: Mara Gomes.

3.3 Montagem do experimento

O experimento foi montado com 5 (cinco) tratamentos sendo estes compostos por Actinomicetos do gênero *Streptomyces* (Actino 11, Actino 18, Actino 27e Actino 26) onde cada tratamento foi composto por 10 (dez) repetições contendo os insetos praga. A folha de soja utilizada para a testemunha (Controle) foi constituída somente com a aplicação da água destilada.

Folhas de soja (M8949 IPRO), coletadas de plantas mantidas da casa de vegetação, foram lavadas em água corrente e secas com papel toalha. Após a secagem, as folhas foram imersas na suspensão de esporos de actinomicetos obtidos conforme descrito no item 4.2 (Figura 8).



Figura 7. Folhas de soja coletadas e lavadas. Fonte: Mara Gomes

Após essa operação as folhas foram colocadas em um recipiente plástico com tampa descartável contendo papel filtro esterilizado e umedecido com água destilada. Depois de realizado todo esse processo foi colocado no recipiente uma lagarta em seu 1º Instar da espécie *S. cosmioide* cedida pelo laboratório de Entomologia do Campus IX da UNEB. Os recipientes foram mantidos fechados dentro de uma BOD (Biochemical Oxygen Demand) com temperatura controlada a 25°C durante 13 dias.



Figura 8. Folhas de soja após o processo de lavagem e secagem sendo submersas na suspensão de esporos. Foto: Mara Gomes.

Durante os 13 (treze) dias, com auxílio uma lupa, foram observados os seguintes parâmetros: mobilidade da lagarta, taxa de mortalidade, comportamento alimentar e coloração. Para cada isolado de actinomiceto foram empregados 10 (dez) recipientes contendo uma lagarta cada totalizando 10 repetições para cada tratamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de actinomicetos testados demonstraram capacidade de causar mortalidade nas lagartas *S. cosmioide*, apresentando potencial em ser empregado como agente de controle biológico. Essa eficiência dos actinomicetos em controlar insetos pragas também já tinha sido observada em diversas pesquisas. Vijayabharathi et. Al (2014) observou que 15 isolados de actinomicetos obtidos do solo foram capazes de controlar a *H. armígera* no algodoeiro. Brean et, al (2001), estudou a atividade inseticida de actinomicetos selecionados contra a praga da folha de algodão egípcio *Spodoptera litorais* (Lepidoptera Noctuidae).

Polyanska et al (1996), identificou o antibiótico conhecido como Heliomicina com forte efeito inseticida obtido de actinomicetos do gênero *Streptomyces* que mostraram capacidade larvicida contra *H. armígera* e *S. Littura* (ARASU et al, 2013). Algumas espécies de *Streptomyces* foram usadas para controlar diversos patógenos, Gadelha et al (2007), realizou um controle de insetos usando actinomicetos de solo quinolítico como Agentes de Biocontrole. Osman et, al (2007) trabalhou com as atividades antagonistas e inseticidas de alguns isolados de *Streptomyces* coletados de diferentes solos do Egito.

Com a realização desse trabalho, notou-se que o isolado de actinomiceto 11 e 26 causou 100% de mortalidade sendo uma diferença significativa conforme mostra (Figura 9). O isolado de actinomiceto 18 causou 71,42% de mortalidade. Essa variação na porcentagem de mortalidade está associada a diferentes concentrações de metabólicos produzidos pelos actinomicetos. A ingestão de substância de natureza inseticida pelas lagartas durante seu processo de alimentação das folhas de soja foi responsável pela taxa de mortalidade observada nas lagartas de *S. cosmioide*.

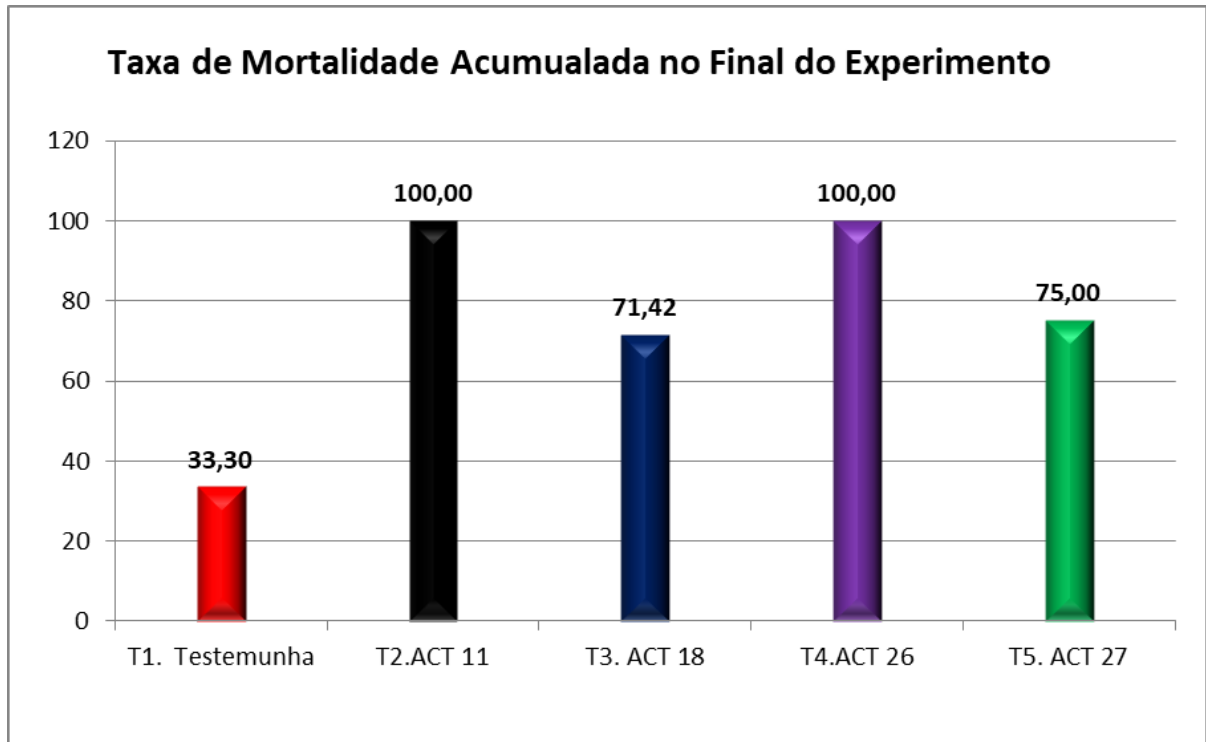


Figura 9. Taxa de Mortalidade Acumulada no Final do experimento. Fonte: Coleta de dados (2018).

Conforme os dados apresentados (Tabela 1), pode-se perceber que nos 2 (dois) primeiros dias a taxa de mortalidade para todos os tratamentos foi praticamente nula, variando apenas no terceiro dia em que o actinomiceto 26 apresentou uma taxa de mortalidade de 37,5% mantendo-se estabilizado esse valor até o sexto dia de avaliação. Para dos demais tratamentos as variações da taxa de mortalidade começaram a ser notadas no quinto dia de avaliação.

Tabela 1. Taxa de mortalidade acumulada diária para cada tratamento durante os 13 (treze) dias de avaliação do experimento.

Tratamentos	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9	Dia 10	Dia 11	Dia 12	Dia 13
T1. Testemunha	0	0	0	0	0	0	0	0	33,3	33,3	33,3	33,3	33,30
T2.ACT 11	0	0	0	0	0	0	14,28	28,57	57,14	57,14	57,14	71,42	100,00
T3. ACT 18	0	0	0	0	14,28	14,28	14,28	14,28	42,85	42,85	57,14	71,42	71,42
T4.ACT 26	0	0	37,5	37,5	37,5	37,5	50	62,5	62,5	75	87,5	87,5	100,00
T5. ACT 27	0	0	0	0	37,5	62,5	62,5	62,5	62,5	75	75	75	75,00

Durante a condução do experimento pode-se acompanhar o crescimento do inseto, sua troca de pele, sua mobilidade e sua alimentação que no decorrer do experimento se tornou cada vez mais lenta, percebendo-se pela quantidade de raspagens nas folhas que diminuíram.

O actinomiceto 27 apresentou uma taxa de mortalidade acumulada alta já a partir do sexto dia de avaliação totalizando 62,5% de mortalidade. Pode-se perceber um alto índice de mortalidade para todos os tratamentos a partir do 9º (nono) dia de avaliação, onde os actinomicetos 11, 26 e 27, apresentaram um índice de mortalidade superior a 50%, mas somente os actinomicetos 11 e 26 atingiram um percentual de mortalidade de 100% no último dia de avaliação.

Os actinomicetos testados neste trabalho foram isolados do solo do Cerrado da Bahia, o que mostra o potencial do bioma cerrado como fonte para o isolamento de microrganismos biocontroladores de insetos de importância agrícola *in vitro*. No entanto é necessário avaliar a capacidade destes actinomicetos em controlar *S. cosmiode* no campo.

CONCLUSÃO

Os Actinomicetos do gênero *Streptomyces* apresentaram capacidade de inibir o inseto *S.cosmiode* na cultura da soja. Dentre os Actinomicetos avaliados, os que apresentaram maior eficiência foram o actinomiceto 11 e actinomiceto 26, que em relação ao demais apresentaram uma taxa de mortalidade de 100% sendo significativa seguida do actinomiceto 27. Os testes foram feitos em laboratório, o que mostra a importância de que é necessário avaliar a capacidade desses actinomicetos em controlar a *S. cosmiode* no campo.

REFERÊNCIAS

AIBA. Associação de Agricultores e Irrigantes da Bahia (AIBA), **Anuário 2017/18**. Disponível em: <<http://www.aiba.org.br>>. Acesso em: 09/10/2018.

_____. **Produção de soja na Bahia**. Disponível em: <<http://sojaplusbahia.com.br/sobre-a-regiao>>. Acesso em: 27/11/2018.

ARASU et, al 2013. Antifeedant, larvicidal and growth inhibitory bioactivities of novel polyketide metabolite isolated from *Streptomyces* ssp. AP- 123 against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **BMC Microbiol.** 13: 105. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/full/10.4141/cjps2013-298#citart1>>. Acesso em: 04/12/2018.

BARBOSA, 2015. **Controle Biológico de Insetos-praga**. Disponível em: <<http://www.periodicos.ufpb.br/index.php/at/article/viewFile/26306/14180>> Acesso em: 04/09/2018.

BUENO, 2014. **Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável**. Disponível em: <<http://www.den.ufla.br/attachments/article/75/ApostilaCB%20%28final%29.pdf>> . Acesso em: 10/09/2018.

BREAN et, al 2001. **INSECTICIDAL ACTIVITY OF SELECTED ACTINOMYCETE STRAINS AGAINST THE EGYPTIAN COTTON LEAF WORM SPODOPTERA LITTORALIS (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12425071>>. Acesso em: 04/12/2018.

COIMBRA, et al.,2004. **Controle biológico do Nematóide no algodoeiro**. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/isz/v97n3/10.pdf>>. Acesso em: 07/11/2018.

EMBRAPA, 2016. **Cultura da Soja no Brasil**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1>>. Acesso em: 08/09/2018.

_____. 2018. **Cultivo da Soja**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 28/11/2018.

_____. **Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/busca-de-publicacoes/-/publicacao/991685/manual-de-identificacao-de-insetos-e-outros-invertebrados-da-cultura-da-soja>>. Acesso em: 05/12/2018.

GUEDES, 2014. **Importância dos Actinomicetos em processos ecológicos, industriais e econômicos**. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/MULTIDISCIPLINAR/importancia.pdf>>. Acesso em: 08/09/2018.

GADELHAK et al. 2007. **Insect Control Using Chitinolytic Soil Actinomycetes as Biocontrol Agents**. Disponível em: <http://www.researchgate.net/publication/252363376_Insect_Control_Using_Chitinolytic_Soil_Actinomycetes_as_Bio_control_Agents>. Acesso em: 04/12/2018.

JANAKI, 2016. **Larvicidal activity of *Streptomyces cacaoi subsp. Cacaoi MR-20* contra *Culex quinquefasciatus***. Disponível em: <<http://www.dipterajournal.com>>. Acesso em: 08/09/2018.

LEAL, 2015. **Determinação dos tipos de resistência à *Spodoptera cosmiode* em diferentes genótipos de soja**. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744147003>>. Acesso em: 30/08/2018.

MARGARONI, 2003. Características Gerais dos Actinomicetos. **Dissertação de mestrado** - Microbiologia Agrícola, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/7760>>. Acesso em: 30/08/2018.

MONSANTO. **Manual de Bolso - Pragas da Cultura da Soja**. 2015. Disponível em: <<https://www.intactarr2pro.com.br/wpcontent/uploads/2015/11/manualdepragas2015.pdf>>. Acesso em: 12/09/2018.

OLIVEIRA, 2014. **Potencial Biotecnológico de Actinomicetos**. Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22OLIVEIRA,%20J.%20C.%20M.%20D.%20de%22>>. Acesso em: 08/09/2018.

OSMAN et, al (2007). **Antagonistic and Insecticidal Activities of some *Streptomyces* Isolates**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261548652_ANTAGONISTIC_AND_INSECTICIDAL_ACTIVITIES_OF_SOME_STREPTOMYCES_ISOLATES>. Acesso em: 05/12/2018.

REVISTA RURAL. **Cultura da Soja**. Disponível em:
<<http://www.revistarural.com.br/edicoes/item/6830-crescimento-da-produ%C3%A7%C3%A3o-de-soja-tamb%C3%A9m-traz-problemas>>. Acesso em: 27/11/2018.

RICARDO,2014. Inseto-praga Largarta-das-vagens (*Spodoptera cosmióide*). **Manual de Identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**, Embrapa 3° Edição, p 70. Disponível em:
<<http://www.redalyc.org/pdf/4457/445744147003.pdf>>. Acesso em: 04/09/2018.

VIJAYABHARATHI et. al. 2014. **Biological activity of entomopathogenic actinomycetes against lepidopteran insects (Noctuidae: Lepidoptera)**. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com>>. Acesso em: 04/12/2018.

