

AGR-01

COLETA, ISOLAMENTO E TESTES ENZIMÁTICOS DE FUNGOS COM POTENCIAL PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE INSETOS.

Beatriz Souza da Conceição ⁽¹⁾ **Luiz Antonio de Oliveira** ⁽²⁾;

⁽¹⁾ Bolsista FAPEAM/PIBIC ; ⁽²⁾ Pesquisador INPA/ CPCA

Produtores rurais e famílias vêm se defrontando com um grave problema, que é o de encontrar um melhor meio de combate aos insetos pragas de suas lavouras, uma vez que tem-se conhecimento da problemática do uso de agrotóxicos. Além disso, é bastante conhecida a relativa facilidade com que os insetos nocivos se adaptam a tais tóxicos sintéticos. Em vista disso, faz-se necessário buscar outras alternativas de controle de insetos prejudiciais, onde microrganismos entomopatogênicos figuram como potentes meios de combate eficaz, sem prejudicar a natureza. Há trabalhos recentes que demonstram que os fungos podem controlar várias pragas, sendo que o método de controle biológico desponta como uma das mais modernas metodologias utilizadas atualmente. Enzimas como a quitinase, proteases, etc (Rodrigues & Pinto, 1997; Alfnas, 1998; Sing et al., 1990; Brockamp & Kula, 1990; Vepsalainen & Niemi, 2002; Fungaro & Maccheroni, 2000) são de interesse agrônomo e florestal, que podem ser encontradas em microrganismos da região. O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a presença dessas enzimas em fungos isolados de insetos, visando conhecer seus potenciais de uso agrônomo e florestal. As atividades implicaram no isolamento, purificação, armazenamento e manutenção dos fungos em condições de laboratório e, testes usando meios de cultura específicos para a detecção de proteases, fenoloxidasas e quitinase. Para isso, amostras de solos foram coletadas em áreas florestais e comunidades rurais do Estado do Amazonas, colocando-as em copos plásticos. Pedacos de besouros (ordem Coleoptera, família Scarabaeidae, subfamília Dynastinae) foram colocados nas amostras de solos, permitindo o desenvolvimento de fungos e bactérias capazes de usarem-nos como alimento. Os fungos desenvolvidos nessas condições foram inoculados em placas de petri contendo meio de cultura (Meio Mínimo = MM) e incubados a temperatura de 25°C durante alguns dias. Posteriormente, os isolados purificados foram inoculados em meio agar-gelatina-leite para detecção de proteases, agar-ácido tânico para detectar a produção de fenoloxidasas e meio mínimo (MM) adicionado de quitina parcialmente hidrolisada para detectar a produção de quitinase. As placas foram incubadas a 25°C durante cinco dias e observadas diariamente. Foram feitas medidas do diâmetro das colônias dos fungos e dos halos enzimáticos. Constatou-se (Tabela 1), o desenvolvimento de colônias e halos nos

meios sólidos para detecção de fenoloxidase e protease, e apenas formação de colônias nos ensaios para quitinase. A partir dos resultados citados anteriormente, conclui-se portanto, que esses fungos apresentam a capacidade de degradação somente de ácido glutâmico, ocasionada pela enzima fenoloxidase e, de proteínas, através da presença de proteases. Não se observou nesses fungos, a presença da quitinase, essencial para a quebra da camada de quitina presente na parede externa dos insetos.

Isolados	Microrganismos	Proteases		Fenoloxidases	
		Colônia	Halo	Colônia	Halo
1	<i>Aspergillus</i> sp.	90.00	0.00	7.75	18.33
2	bactéria	26.30	33.10	0.00	0.00
3	bactéria	54.70	82.33	0.00	0.00
4	Indeterminado	90.00	0.00	0.00	0.00
5	Indeterminado	90.00	0.00	11.10	21.76
6.1	<i>Fusarium</i> sp.	69.12	90.00	23.74	26.32
6.2	Indeterminado	0.00	0.00	0.00	0.00
7	<i>Aspergillus</i> sp.	90.00	0.00	0.00	0.00
8	Indeterminado	90.00	0.00	0.00	0.00
9	<i>Aspergillus</i> sp.	90.00	0.00	8.61	8.61

Tabela 1: Observação do desenvolvimento de colônias e formação de halos. No isolado 6.1, o diâmetro do halo indica a degradação por meio de protease e fenoloxidase.

Alfenas, AC. 1998. *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: Fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos*. Editora UFV, Viçosa, MG, 574p.

Oliveira, LA; Moreira, FMS; Moreira, FW. 1997. Ocorrências de microrganismos benéficos em ecossistemas amazônicos. In: Noda, H.; Souza, LAG; Fonseca, OJM (eds.) *Duas décadas de contribuições do INPA à pesquisa agrônômica do Trópico Úmido*. INPA, Manaus, p. 221-240.