

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FUNGOS E NEMÁTODES ENTOMOPATOGÉNICOS  
ASSOCIADOS À VINHA NA REGIÃO DEMARCADA DO DOURO**

**Coordenador científicos:** Guilhermina Marques, Laboratório de Micologia e Microbiologia do Solo, UTAD

**Outros investigadores:** Lav Sharma

Com o objectivo de promover as práticas que incrementam a biodiversidade funcional na vinha, tendo em vista a protecção biológica de conservação contra pragas, em particular contra a traça-da uva, *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Fig. 1), iniciou-se o isolamento e caracterização das populações naturais de fungos e nemátodos entomopatogénicos nas vinhas da RDD abrangidas pelo projecto.



**Fig. 1.** Lagarta da traça-da-uva (*Lobesia botrana*)

Sendo a protecção biológica de conservação um serviço do ecossistema muito influenciado pelas condições do habitat pretende-se relacionar a presença e abundância dos organismos antagonistas com o meio envolvente e as práticas utilizadas. Estes organismos, isoladamente, ou integrados noutras estratégias de protecção biológica das culturas, podem reduzir significativamente o uso de pesticidas.

### ***Isolamento e caracterização de fungos entomopatogénicos (FEP)***

Os fungos entomopatogénicos (FEP) são fungos que parasitam insectos levando-os à morte ou incapacitando-os. São os principais responsáveis pela mortalidade natural de insectos-praga nos ecossistemas agrícolas e, por isso, com elevado potencial para uso como agentes de controlo biológico, existindo já comercializados vários produtos à base destes microrganismos.

Há um crescente interesse na avaliação do potencial biotecnológico destes fungos devido aos problemas ambientais, de saúde pública e desenvolvimento de resistência aos pesticidas, bem como pela melhoria da tecnologia de produção de biopesticidas e procura do mercado.

Com o trabalho experimental pretendeu-se:

- isolar FEP em vinhas submetidas a diferentes práticas culturais e localizações geográficas, na RDD
- determinar o efeito de condições ambientais e estruturas ecológicas na abundância e diversidade de FEP, recorrendo a um Sistema de Informação Geográfica – protecção biológica de conservação
- caracterizar diversidade genética das populações naturais de FEP – técnicas moleculares (PCR-RFLP e sequenciação)
- seleccionar isolamentos de elevada infecciosidade
- produzir inóculo e realizar ensaios experimentais para selecção de potenciais agentes de controlo biológico adaptados às condições ambientais da RDD.

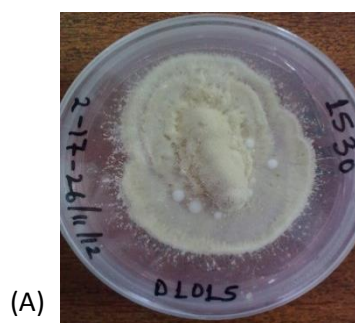
Estabeleceram-se 150 pontos de amostragem para a colheita de amostras de solo nas seis quintas em estudo, nas vinhas e nas áreas de matos envolventes, abrangendo áreas com diferentes valores de precipitação anual, declive, exposição, cobertura do solo, etc.

Para o isolamento dos fungos recorreu-se à técnica do insecto-armadilha, utilizando *Tenebrio molitor* L. (Tenebrionidae: Coleoptera) e *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). As amostras de solo foram mantidas em recipientes plásticos nos quais são colocadas as lagartas sob o solo e mantidas à temperatura de 25 °C e humidade de 85%.

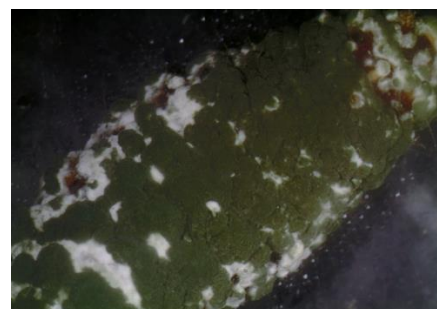


**Fig. 2.** Recipientes plásticos com solo e insecto-armadilha em estufa com temperatura e humidade controlada

Após o desenvolvimento dos fungos nos insectos, obtiveram-se as culturas puras pelo uso de diferentes meios de cultura. A avaliação da capacidade infectiva dos isolamentos fez-se aplicando os postulados de Kock, nos mesmos insectos-armadilha (Fig. 3).



(A)



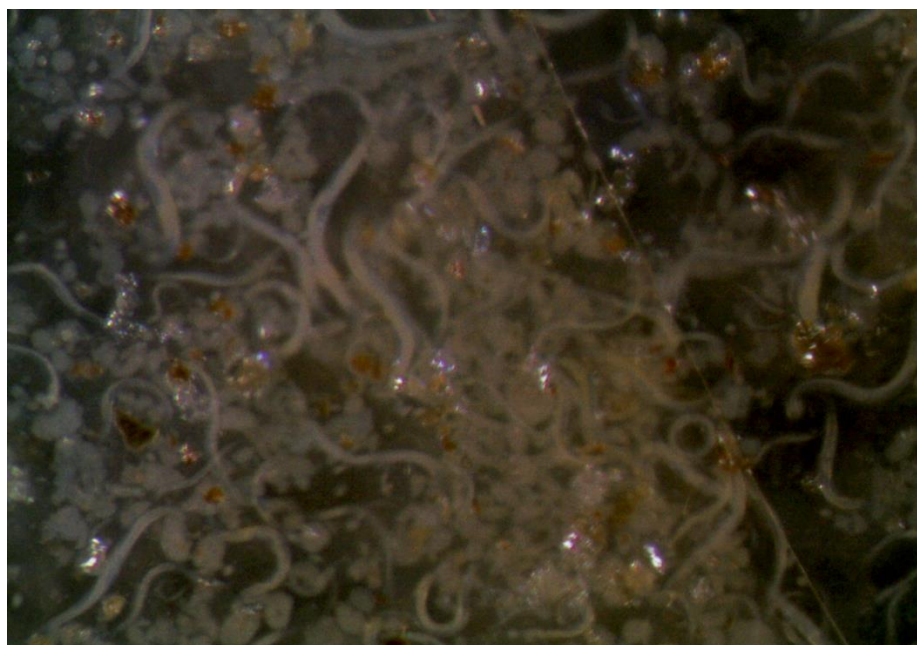
(B)

**Fig 3.** (A) lagartas de *Tenebrio molitor* infectadas com *Beauveria bassiana* e (B) *Metarhizium anisopliae*.

Para a identificação dos fungos utilizara-se técnicas moleculares, nomeadamente PCR-RFLP e sequenciação.

### ***Isolamento e caracterização de nemátodes entomopatogénicos***

Para o isolamento dos nemátodes entomopatogénicos, utilizou-se um processo semelhante com os mesmos insectos-armadilha. Os nemátodes emergentes foram capturados em placas de Petri pelo método das armadilhas de White. A capacidade entomopatogénica dos nemátodes isolados foi igualmente confirmada pelos postulados de Kock (Fig. 4).



**Fig. 4.** Nemátodes entomopatogénicos que emergem de uma larva de *G. mellonella*

## **RESULTADOS**

Até ao presente têm sido identificados vários fungos entomopatogénicos, com particular destaque os pertencentes aos géneros *Beauveria* e *Metharhizium*, bem como outros géneros de reconhecida capacidade entomopatogénica. Os nemátodos entomopatogénicos isolados encontram-se na fase de identificação molecular. Mais detalhes sobre o trabalho pode consultar-se na ligação <http://www.advid.pt/imagens/comunicacoes/13856772371351.pdf>.