

O USO DE *Bacillus thuringiensis* Berliner NO CONTROLE DA LAGARTA DAS PALMEIRAS *Brassolis astyra astyra* GODART, 1765 (Lepidoptera, Brassolidae)

E. BERTI FQ¹ D. GALLO¹

ABSTRACT

The use of *Bacillus thuringiensis* Berliner in the control of the pal leaf larvae *Brassolis astyra astyra* Godart, 1765 (Lepidoptera, Brassolidae)

Brassolis astyra astyra Godart, 1765 (Lepidoptera, Brassolidae) larvae are susceptible to *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales, Bacillaceae) on the concentration of 1 g/litre of distilled water.

The infection takes place following the ingestion and develops in the intestinal tract, where the bacterium crystal disrupts the membrane permeability.

INTRODUÇÃO

A descoberta de bactérias patogênicas a insetos ocorreu no fim do século XIX, pelos estudos de Pasteur, em 1870, com o bicho da seda e pela descrição de Cheshire e Cheyne, em 1885, de *Bacillus alvei* e seu papel na doença européia da podridão em progênes de abelhas.

Desde então, mais de 90 espécies e variedades de bactérias patogênicas a insetos têm sido descritas e destas, *Bacillus popilliae* e *B. lentimorbus*, agentes causais dos tipos A e B da doença leitosa do besouro japonês, *Popilia japonica* e certas variedades de bactérias formadoras de cristais, como *Bacillus thuringiensis*, que infectam um grande número de lepidópteros, foram desenvolvidos comercialmente para o controle de pragas.

Atualmente, o grande esforço da pesquisa no uso de bactérias para o controle microbiano de insetos está concentrado nestas bactérias.

Para as bactérias da doença do esporo leitoso, está dando-se ênfase ao desenvolvimento da técnica de produção massal e para *Bacillus thuringiensis* Berliner ao desenvolvimento do uso como inseticida bacteriológico de largo espectro.

Berliner (1915), citado por STEINHAUS (1967), foi quem primeiro isolou *Bacillus thuringiensis* a partir de lagartas doentes de *Ephestia kuehniella* e verificou que a infecção ocorria por ingestão e desenvol

¹Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Departamento de Entomologia - USP - 13.400 Piracicaba.

via-se no trato digestivo.

SHEPHERD (1924) empregou *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Echocerus cornutus*.

FIGUEIREDO et alii (1960), testaram *B. thuringiensis* contra várias pragas, com resultados animadores para o curuquerê do algodão (*Alabama argillacea*), broca da figueira (*Azochis gripusalis*), lagarta da couve (*Ascia monuste monuste*), lagarta do rami (*Sylepta silicalis*), curuquerê dos capinzais (*Mocis latipes*), e a traça dos cereais (*Sitotroga cerealella*). Entretanto, a lagarta militar, (*Spodoptera frugiperda*), mostrou-se resistente.

HALL (1963), fez uma revisão das primeiras tentativas de desenvolvimento comercial de *B. thuringiensis* e JAQUES (1964) referiu-se ao controle de insetos com bactérias patogênicas, e o uso de bactérias patogênicas a insetos foi revisto por ANGUS (1965). ROGOFF (1966) estudou bactérias formadoras de cristal, que funcionam como agentes patogênicos a insetos.

De acordo com STEINHAUS (1967), é a seguinte a classificação sistemática de *Bacillus thuringiensis*:

Classe - Schizomycetes
Ordem - Eubacteriales
Família - Bacillaceae
Gênero - *Bacillus*
Espécie - *B. thuringiensis* Berliner

HEIMPEL (1967), fez uma revisão crítica de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner e de outras bactérias formadoras de cristal.

GALLO et alii (1970), fizeram referência a *Bacillus popilliae* Dutky, para o controle de *Popillia japonica* Newman, nos Estados Unidos, entre 1939 e 1952 e mostraram que o agente patogênico mais usado era *Bacillus thuringiensis* Berliner, produzido em 1956, sendo praticamente específico para lagartas.

FALCON (1971), mostrou que as preparações comerciais de *B. thuringiensis* têm sido produzidas em pelo menos 12 indústrias em cinco países e que nos Estados Unidos são fabricados, anualmente, numa produção crescente, sendo que uma empresa americana aumentou a produção, em cerca de 200 vezes nos últimos 8 anos.

As preparações comerciais de *B. thuringiensis* são registradas nos Estados Unidos, para o uso em mais de 20 culturas agrícolas, árvores ornamentais e florestas, no controle de pelo menos 27 espécies de insetos (Quadro 1). É significativo que o registro de um produto nos Estados Unidos exija que a autoridade do Departamento de Agricultura seja satisfeita, não só quanto à segurança do produto, mas também quanto aos testes de campo onde tenha sido comprovado o controle efetivo das pragas registradas (FALCON, 1971).

HIDALGO-SALVATIERRA & PALM (1973), verificaram a suscetibilidade de lagartas da broca do cedro, *Hypsipyla grandella* (Zeller) a *Bacillus thuringiensis*.

QUADRO 1 - Alguns usos registrados para produtos à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner, nos Estados Unidos (FALCON, 1971).

Praga	Cultura
<i>Colias eurytheme</i>	alfafa
<i>Platyptilia carduidactyla</i>	alcachofra
<i>Heliothis zea</i>	algodão
<i>Trichoplusia ni</i>	feijão, brócoli, repolho, couve-flor, aipo, algodão, pepino, couve, alface, melão, batata, espinafre, fumo.
<i>Plutella maculipennis</i>	repolho
<i>Ostrinia nubilalis</i>	milho doce
<i>Pieris rapae</i>	brócoli, repolho, couve-flor, couve, fumo.
<i>Heliothis virescens</i>	fumo
<i>Manduca sexta</i>	fumo
<i>Manduca quinquemaculata</i>	tomate
FRUTÍFERAS	
<i>Archips argyrospilus</i>	laranjeira
<i>Papilio cresphontes</i>	laranjeira
<i>Desmia funeralis</i>	videira
ESSENCIAIS FLORESTAIS E ORNAMENTAIS	
<i>Phryganidia californica</i>	lagarta do carvalho
<i>Hyphantria cunea</i>	lagarta da teia
<i>Alsophila pomataria</i>	lagarta do cancro do outono
<i>Malacosoma fragile</i>	lagarta da tenda
<i>Porthetria dispar</i>	mariposa cigana
<i>Erannis tiliaria</i>	mede palmo da tília
<i>Estigmene acrea</i>	lagarta de Salt Marsh
<i>Paleacrita vernata</i>	lag. do cancro da primavera
<i>Operophtera brumata</i>	mariposa do inverno

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", onde foram usadas duas caixas com a base de isopor e paredes e tampa de plástico transparente, medindo 37 cm de comprimento, 32 cm de largura e 36 cm de altura e na manipulação das lagartas usou-se pinças e placas de petri de 14 cm de diâmetro.

O inseticida biológico usado foi Dipel (*Bacillus thuringiensis* Berliner), pó pré-pasta da Abbott Laboratórios do Brasil Ltda, cuja composição é de 96,8% de ingredientes inertes e de 3,2% de ingredientes ativos sendo cultura pura contendo no mínimo 25 bilhões de esporos via

veis de *Bacillus thuringiensis* Berliner por grama de produto. Cada miligrama do produto contém 16.000 U.I. de atividade.

Foram usadas folhas de palmeira nas quais se pulverizou o inseticida biológico por meio de um pulverizador manual de marca Skima, de 1000 ml de capacidade.

As lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart, 1765 (Lepidoptera, Brassolidae) foram coletadas no parque da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Figura 1), em folhas de palmeiras, trazidas para laboratório e medidas com auxílio de uma régua graduada em milímetros. O comprimento médio encontrado foi de 7,5 cm para 83 lagartas e de 4,5 cm para 41 lagartas.



FIGURA 1 - Lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart coletadas em palmeira, no parque da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

O tratamento A (testemunha) consistiu de 40 lagartas, de comprimento médio de 7,5 cm, colocadas na caixa de isopor com folhas de palmeira; o tratamento B composto de 40 lagartas, de comprimento médio de 7,5 cm, colocadas em caixa de isopor com folhas de palmeira recém cortadas e que foram previamente pulverizadas com uma solução de Dipel (1 g/litro de água destilada) e deixadas secar antes de se oferecer às lagartas, o tratamento C (testemunha) consistiu de 20 lagartas, de comprimento médio de 4,5 cm, colocadas em 4 placas de petri (5 lagartas/placa) com pedaços de folhas de palmeira e o tratamento D consistiu de 20 lagartas, de comprimento médio de 4,5 cm, colocadas em placas de petri com pedaços de folhas de palmeira previamente pulverizadas com Dipel (1 g/litro de água destilada) e deixadas secar antes de se oferecer às lagartas.

Efetuuou-se a dissecação de duas lagartas para verificar a ação

da bactéria no tubo digestivo (Figura 3).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade induzida pela presença de *Bacillus thuringiensis* Berliner, em folhas de palmeira, é mostrada no Quadro 2 e na Figura 2.

QUADRO 2 - Mortalidade de lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart, (Lepidoptera, Brassolidae), alimentadas com folhas de palmeira pulverizadas com *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Tratamento	Nº de lagartas	Lagartas mortas	Lagartas perdidas
A (Testemunha)	40	0	-
B	40	32	8
C (Testemunha)	20	0	-
D	20	17	3



FIGURA 2 - Lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart mortas pela ingestão de *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Foi verificado que as lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart (Lepidoptera, Brassolidae), são suscetíveis a *Bacillus thuringiensis* Berliner; por outro lado, a bactéria em questão não afetou crisálidas recém formadas.

Os resultados estão de acordo com as observações de Berliner (1915), citado por STEINHAUS (1967), de que a infecção ocorre por ingestão e se desenvolve no trato digestivo.

A dissecação de lagartas (Figura 3) que ingeriram *Bacillus thuringiensis* presente nas folhas de palmeira, mostrou que realmente a bactéria se desenvolve no tubo digestivo, onde agiu aumentando a permeabilidade da membrana, sendo esta a primeira lesão bioquímica atribuída à proteína tóxica da bactéria.

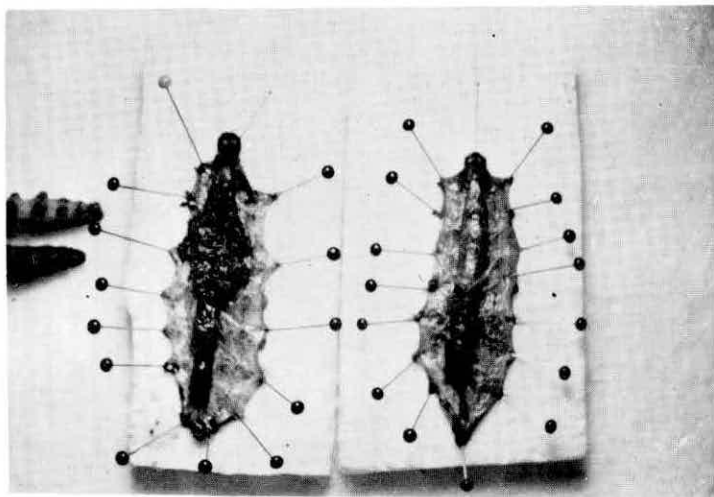


FIGURA 3 - Lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart, dissecadas, mostrando a ruptura da membrana do trato digestivo na lagarta à esquerda.

Segundo COOKSEY (1971), o cristal age prejudicando a permeabilidade da membrana, pelo rompimento do equilíbrio de íons K^+ e este rompimento na sinapse afetaria a transmissão dos impulsos. O cristal também age precipitando a proteína da hemolinfa, segundo Faust & Dougherty (1968), citados por COOKSEY (1971).

Observou-se que lagartas alimentadas com folhas de palmeiras pulverizadas com Dipel (1 g/litro de água destilada) permaneciam paradas, algum tempo após terem iniciado a alimentação. Segundo Heimpel & Angus (1959), citados por COOKSEY (1971), a paralisia de lagartas intoxicadas ocorre devido a um aumento no pH da hemolinfa. Ainda os autores afirmam que com tantos efeitos fisiológicos no inseto, é alentador o fato de o cristal não ser tóxico aos mamíferos e uma das razões para esta falta de toxicidade é que nos mamíferos, a digestão primária das protei

nas se processa num pH baixo; a pepsina enzimática do estômago, que tem seu ótimo de pH=2, degradando o cristal a um estado atóxico.

6

CONCLUSÕES

Lagartas de *Brassolis astyra astyra* Godart, 1765 (Lepidoptera, Brassolidæ) são suscetíveis a *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubactériaes, Bacillaceae), na concentração de 1 grama/litro de água destilada.

A infecção ocorre após a ingestão e desenvolve-se no tubo digestivo, onde o cristal da bactéria rompe a permeabilidade da membrana.

LITERATURA CITADA

- ANGUS, T.A. Bacterial pathogens of insects as microbial insecticides. *Bacterial Review*, 29(3):364-72, 1965.
- COOKSEY, K.E. The protein crystal toxin of *Bacillus thuringiensis*: Biochemistry and Mode of Action. In: BURGESS, H.D. & HUSSEY, N.W., ed. *Microbial control of insects and mites*. London, Academic Press, 1971. cap. 11, p. 247-74.
- FALCON, L.A. Use of bacteria for microbial control. In: BURGESS, H.D. & HUSSEY, N.W., ed. *Microbial control of insects and mites*. London, Academic Press, 1971. cap. 3, p. 67-95.
- FIGUEIREDO, M.B.; COUTINHO, J.M.; ORLANDO, A. Novas perspectivas para o controle biológico de algumas pragas com *Bacillus thuringiensis*. *Arquivos do Instituto Biológico*, 27:77-85, 1960.
- GALLO, D.; NAKANO, O. WIENDL, F.M.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L. *Manual de Entomologia: Pragas das plantas e seu controle*. São Paulo, Agronômica Ceres, 1970. 858 pp.
- HALL, I.M. In: STEINHAUS, E.A., ed. *Insect pathology: an advanced treatise*. New York, Academic Press, 1963. v.2. p. 477-518.
- HEIMPEL, A.M. A critical review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner and other crystalliferous bacteria. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, 12:287-329, 1967.
- HIDALGO-SALVATIERRA, O. & PALM, J.D. Susceptibility of first instar larvae to *Bacillus thuringiensis*. Turrialba, IICA, 1973. 88p. (Miscellaneous, 101).
- JAQUES, R.P. Insect control by bacterial pathogens. *Annals of the Entomological Society of Quebec*. 9:17-29, 1964.
- ROGOFF, M.N. Crystal forming bacteria as insect pathogens. *Advances in Applied Microbiology*, 8:291-313, 1966.
- SHEPHERD, D. Life history and biology of *Echocerus cornutus* (Fab.). *Journal of Economic Entomology*, 17:572-7, 1924.
- STEINHAUS, E.A. *Insect Microbiology: an account of the microbes associated with the insects and thicks with special reference to the biologic relationships involved*. New York, Hafner, 1967. 763p.