

# Suscetibilidade de lagartas *Helicoverpa armigera* a uma formulação comercial de *Bacillus thuringiensis*

OLIVEIRA, C.A.G.<sup>1</sup>; SOSA-GÓMEZ, D<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Norte do Paraná. Bolsista FUNARBE, Brasil, <sup>2</sup>Embrapa Soja. cibeli.oliveira@colaborador.embrapa.br

## Introdução

No Brasil, cepas comerciais de *Bacillus thuringiensis* são frequentemente utilizadas como alternativas aos inseticidas químicos no controle de populações de *Helicoverpa armigera* nas culturas do algodão, soja e milho. Entretanto, a resposta dessas populações a esse patógeno deve ser quantificada com a finalidade de verificar a existência de diferenças de suscetibilidade entre populações, assim como determinar a suscetibilidade entre os diferentes instares para inferir o melhor momento de controle.

A determinação do nível de suscetibilidade de um inseto a um determinado agente patogênico ou da virulência de um patógeno é feita, na maioria das vezes, através de bioensaios de laboratório, no qual uma população é infectada pelo patógeno e o efeito é avaliado,

normalmente, através da morte, ou, às vezes, através do surgimento de um determinado sintoma (Alves, 1998).

A caracterização da resposta de *H. armigera* a cepas de *Bacillus thuringiensis* pode indicar do potencial de controle que apresenta esta bactéria assim como determinar se ocorrem diferenças de suscetibilidade entre populações, dependendo do histórico de exposição a esses produtos. Este trabalho teve por objetivos caracterizar a dose resposta de lagartas neonatas e de terceiro instar a uma formulação comercial de *B. thuringiensis* (Dipel®) constituído pela linhagem HD-1, que expressa as endotoxinas Cry1A(a), Cry1A(b), e Cry1A(c) (Masson et al. 1990).

## Material e métodos

Dois bioensaios foram conduzidos simultaneamente para avaliar comparativamente a atividade biológica de *B. thuringiensis* em lagartas neonatas e de 3º instar de *H. armigera*. As lagartas neonatas foram inoculadas com suspensões da cepa HD-1 de *B. thuringiensis* [Dipel®, 17.600 Unidades Internacionais(UI) de Potência por mg, com mínimo de 27,5 bilhões de esporos viáveis por g, 33,6 g.L<sup>-1</sup> e 966,4 de inertes.g<sup>-1</sup>, Abbot Laboratories, registro Sumitomo Chemical do Brasil]. As diluições foram incorporadas individualmente a dieta artificial para *H. armigera* (Greene et al., 1976), sem formaldeído e sem antibiótico. O produto comercial foi incorporado na dieta quando a temperatura alcançou 50°C. Utilizaram-se as seguintes concentrações por mL de dieta: 0 UI.mL<sup>-1</sup> considerado como testemunha, 78 UI.mL<sup>-1</sup>, 140 UI.mL<sup>-1</sup>, 251 UI.mL<sup>-1</sup>, 453 UI.mL<sup>-1</sup>, 815 UI.mL<sup>-1</sup>, 1470 UI.mL<sup>-1</sup> e 2640 UI.mL<sup>-1</sup>. A dieta foi vertida com pipeta de repetição, colocando 1 mL em cada célula da bandeja Bio-Assay Tray Bio-Ba-128, Pitman, NJ,. USA de 128 células (Figura 1).

Em cada concentração, utilizaram-se 16 lagartas, replicando três vezes, o que totalizou 48 lagartas em cada concentração, perfazendo 384 lagartas por bioensaio. As bandejas foram mantidas em câmaras tipo BOD a 27 ° C ± 2 ° C, 14:12 de fotofase e escotofase, respectivamente e umidade relativa de 70 ± 20%.

Nos estudos realizados com lagartas de terceiro instar, foram utilizadas as seguintes concentrações: 78 UI.mL<sup>-1</sup>, 97 UI.mL<sup>-1</sup>, 140 UI.mL<sup>-1</sup>, 251 UI.mL<sup>-1</sup>, 293 UI.mL<sup>-1</sup>, 453 UI.mL<sup>-1</sup>, 815 UI.mL<sup>-1</sup>, 880 UI.mL<sup>-1</sup>, 1470 UI.mL<sup>-1</sup>, 2640 UI.mL<sup>-1</sup>, 4750 UI.mL<sup>-1</sup>, 4752 UI.mL<sup>-1</sup> e 8550 UI.mL<sup>-1</sup>. Em cada concentração utilizaram-se 64 lagartas (16 lagartas por repetição), totalizando 832 lagartas inoculadas e 128 lagartas como testemunha, alimentadas com dieta isenta da bactéria.

Devido ao tamanho das lagartas utilizaram-se bandejas com células de volumes maior (32 células por bandeja) (Figura 2). Neste caso foram vertidos 10 mL da dieta com as respectivas diluições. As bandejas foram mantidas nas mesmas condições que as bandejas com neonatas.

As avaliações dos experimentos com ambos instares foram realizadas após sete dias, registrando número de lagartas mortas e o peso (mg) das lagartas sobreviventes. Os dados de mortalidade foram analisados pelo programa Polo Plus (LeOra Software) e os pesos de lagartas por ANOVA, uma vez que os dados apresentaram normalidade dos resíduos (Shapiro & Wilk 1965) e homogeneidade de variância dos tratamentos (Levene, 1960). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey,  $P < 0,001$  (Sigmaplot, 2001, Systat Software, San Jose, CA, [www.sigmaplot.com](http://www.sigmaplot.com)).

## Resultados e discussão

Os valores de CL<sub>50</sub> em unidades internacionais de potência indicam uma redução da suscetibilidade de 1,55 vezes entre as lagartas do primeiro e terceiro instar (Tabela 1). Quando comparados os valores de CL<sub>99</sub> esta diferença foi de 1,7 vezes, o que representa uma diferença pouco acentuada entre estes instares. Portanto, apesar do aumento de tamanho das lagartas de *H. armigera* ser entre 3 a 3,7 vezes entre primeiro (3,0 -3,03 mm) e terceiro instar (9,35 -11,09 mm) (FERRAL-PIÑA et al. não pub.) a redução de sua suscetibilidade ao *B. thuringiensis* não foi proporcional em relação ao tamanho.

Todas as concentrações de *B. thuringiensis* afetaram significativamente (Tukey,  $P < 0,01$ ) o peso das lagartas neonatas e de terceiro instar, quando comparadas com o peso médio das lagartas não inoculadas.

Comparações com resultados obtidos por Morales et al. (1995) em bioensaios com *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens*, utilizando a mesma metodologia, indicariam que *H. armigera* ( $CL_{50} = 0,0655 \text{ mg.mL}^{-1}$  de dieta) apresenta suscetibilidade menor que a lagarta-da-soja e maior que a lagarta-falsa-medideira. Entretanto, devem ser realizados bioensaios com um maior número de populações de diferentes origens geográficas para ter melhor estimativa das variações da  $CL_{50}$  que ocorrem no país.

## Conclusão

Os valores de  $CL_{50}$  e  $CL_{99}$  indicam uma redução da suscetibilidade pouco acentuada da suscetibilidade entre as lagartas de *H. armigera* de primeiro e terceiro instar, que pode indicar diferenças pequenas na dose quando se realiza o controle de suas populações. Todas as concentrações de *B. thuringiensis* afetaram o desenvolvimento de *H. armigera*.

## Referências

ALVES, S.B. ALVES, S. B. (Org.). **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba-SP: Fealq, 1998. v. 1. 1163p.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economy Entomology**, v.69, n.4, p. 487-488, 1976.

LEORA SOFTWARE. **POLO-Plus 1.0 Probit and Logit analysis**. LeOra Software, Petaluma, California. 2003.

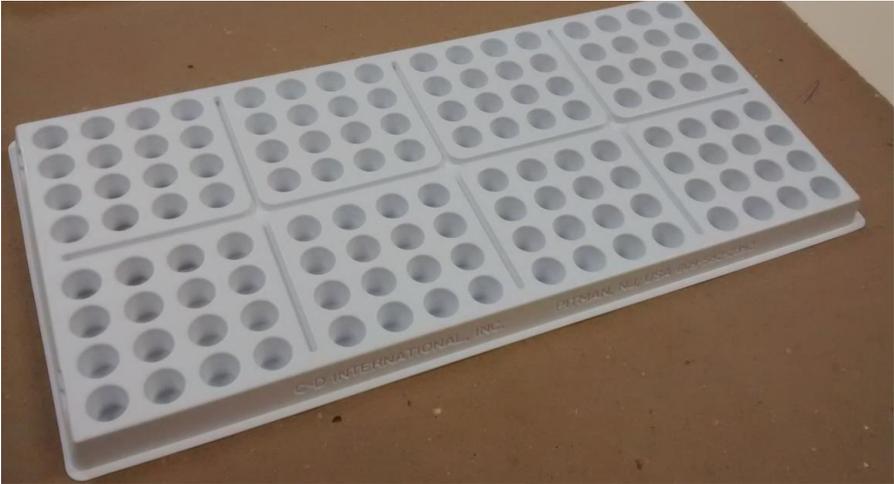
LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: OKIN, I. ; GHURYE, S. G.; Hoeffding, W.; MADOW, W. G.; MANN, H. B. (Eds.) **Contributions to probability and statistics: essays in honor of Harold**

Hotelling. Stanford: Stanford University Press, 1960. p.278–292.

MASSON, L.; G. PRÉFONTAINE; L. PÉLOQUIN; P. C. K. LAU; R. BROUSSEAU. Comparative analysis of the individual protoxin components in P1 crystals of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* isolates NRD-12 and HD-1. **Biochemical Journal**, v.269, n 3.p.507–512, 1990.

MORALES. L.; MOSCARDI, F.; KASTELIC, J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PARO, F.E.; SOLDORIO, I.L. *Sucetibilidade de Anticarsia gemmatalis Hubner e Chrysodeixis includens (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a Bacillus thuringiensis (Berliner)*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, n.3, p. 593-598, 1995.

SHAPIRO, S.S; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v.52, p. 591-611, 1965.



**Figura 1:** Bandeja Bio-AssayTray Bio-Ba-128 –USA, composta de 128 células

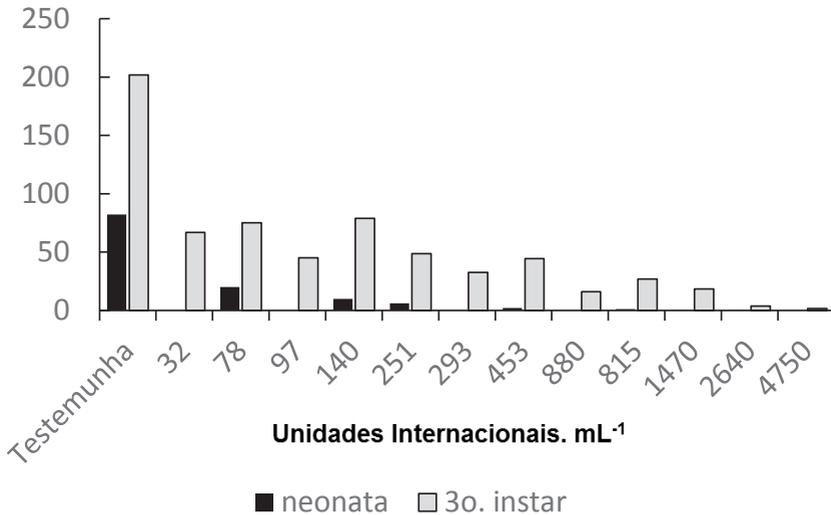


**Figura 2:** Bandeja de bioensaio com 32 células.

**Tabela 1.** Concentração letal cinquenta e noventa e nove (CL50 e CL99) em Unidades Internacionais.mL<sup>-1</sup> de *Bacillus thuringiensis* incorporada na dieta de lagartas neonatas e terceiro instar de *H. armigera*, avaliados 7 dias após inoculação.

Amostra	N <sup>1</sup>	CL <sub>50</sub>	IC (95%)	CL <sub>99</sub>	IC (95%)	Coefficiente angular ± EPM <sup>2</sup>	χ <sup>2</sup>	g.l. <sup>(4)</sup>
Neonatas	336	739,62	257,38 – 205,32	2249Ag1,00	8006,90 – 601140,00	1,57 ± 0,43	1,99	5
Terceiro Instar	832	1153,52	597,02 – 804,64	38967,00	15749,00 – 275790,00	1,52 ± 0,16	32,40	11

n<sup>1</sup> = número de insetos submetidos ao teste; EPM<sup>2</sup> = erro padrão da média



**Figura 3:** Peso médio de lagartas de *H. armigera* após sete dias da inoculação com *Bacillus thuringiensis* em Unidades Internacionais por mL de dieta.