

## SUSCEPTIBILIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO DO MILHO, *Spodoptera frugiperda*, A DIFERENTES ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis*

FERNANDO HERCOS VALICENTE<sup>1</sup>, MARTA MARTINS FONSECA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151, CEP.35701-970 Sete Lagoas, MG. E-mail: valicent@cnpmc.embrapa.br (autor para correspondência).

<sup>2</sup>Estagiária, Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151, CEP.35701-970 Sete Lagoas, MG.

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.3, n.1, p.21-29, 2004

**RESUMO** - Este trabalho foi dividido em três bioensaios. No primeiro, usaram-se 17 subespécies do *Bacillus thuringiensis*, que foram testadas em larvas de *Spodoptera frugiperda*. As cepas foram crescidas em meio de cultura líquido enriquecido com sais. Folhas de milho foram imersas na suspensão e oferecidas a lagartas sadias de dois dias de idade. Os resultados mostraram que a maior mortalidade de larvas foi causada pelo *B. thuringiensis tolworthi* (T09) (95,8%) e a menor, causada pelo *B. thuringiensis kurstaki* (2,7%). No segundo bioensaio, o *B. thuringiensis tolworthi*, numa mistura liofilizada de esporo e cristal em pó, foi incorporado na dieta artificial numa concentração única de 0,8 µg da toxina por grama de dieta artificial e testado em larvas de *S. frugiperda* de diferentes idades. Os resultados mostraram que a mortalidade das larvas decresceu à medida em que a idade das larvas aumentou. A maior mortalidade ocorreu com larvas entre três e seis dias de idade (100%). No terceiro bioensaio, uma mistura de esporo e cristal do *B. thuringiensis tolworthi*, que foi diluído em suspensão aquosa em diferentes tempos de exposição (24, 48 e 72 horas), foi testado em larvas de dois dias de idade, submetidas a diferentes concentrações da toxina. A maior mortalidade de larvas ocorreu com a concentração de 500 µg da mistura de esporo e cristal diluídos em 1 ml de água, para o tempo de exposição de 72 horas. A análise de probit mostrou que a concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>) da cepa *B. thuringiensis tolworthi* foi de 271,1 µg ml<sup>-1</sup>, para larvas de dois dias de idade, por um período de exposição à toxina de 72 horas. Já a cepa SA11 (*B. thuringiensis kurstaki*) foi avaliada separadamente e a análise de probit mostrou que a LC<sub>50</sub> para larvas de dois dias de idade foi de apenas 57,5 µg ml<sup>-1</sup>, por um período de exposição de 72 horas.

**Palavras Chaves:** Insecta, controle microbiano, patógenos, bactéria.

### SUSCEPTIBILITY OF FALL ARMYWORM, *Spodoptera frugiperda*, TO DIFFERENT STRAINS OF *Bacillus thuringiensis*

**ABSTRACT** - This research was divided into three bioassays. In the first one, 17 *B. thuringiensis* strains were tested against fall armyworm larvae (*Spodoptera frugiperda*). Strains were grown in liquid medium enriched with salts. Clean corn leaves were immersed into this suspension and used to feed 2-day-old healthy larvae. The results showed that the highest mortality was caused by *B. thuringiensis tolworthi* (95,8%) and the lowest by *B. thuringiensis kurstaki* (2,7%). In the second bioassay, *B. thuringiensis tolworthi*, in a lyophilized powder mixture of crystal and spore, was incorporated into the artificial diet using the concentration of 0,8 µg of the toxin/gram of artificial diet, and tested in fall armyworm larvae of different ages. The results showed that mortality decreased as the age of larvae increased. Highest mortality

(100%) occurred with larvae ranging from 3 to 6 days old. In the third bioassay, different powder (spore + crystal) mixture concentrations of *B. thuringiensis tolworthi* were diluted with water and tested against 2-day-old larvae, submitted to different periods of exposure to the toxin (24, 48 and 72 hours). Highest mortality was observed when 500 µg of the toxin was diluted in 1 ml of water and offered to the larvae for 72 hours. Probit analysis showed that lethal concentration 50 (LC<sub>50</sub>) of this strain for 2 days old larvae was 271,1 µg ml<sup>-1</sup>, for the period of exposure of 72 hours. Strain SA11 (*B. thuringiensis kurstaki*) was evaluated separately and probit analysis showed that the LC<sub>50</sub> for 2-day-old larvae was 57,5 µg ml<sup>-1</sup>, for the period of exposure of 72 hours.

**Key words:** Insecta, microbial control, pathogen, bacteria.

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria gram positiva que ocorre naturalmente no solo, água, insetos mortos e ambientes onde grãos são armazenados (Lambert & Peferoen, 1992). Durante a fase de esporulação, o *B. thuringiensis* produz um esporângio que contém um endosporo e uma inclusão proteica cristalina (σ endotoxina), que é tóxica para um grande número de insetos. Essa proteína pode perfazer até 1/3 do total da proteína da célula (Herrnstadt *et al.* 1986). A delta endotoxina é sintetizada na forma de protoxinas, que, quando ingerida pelo inseto, é solubilizada e convertida proteoliticamente em fragmentos tóxicos de aproximadamente 650 aminoácidos. Esses fragmentos ligam-se especificamente e com alta afinidade a receptores protéicos na membrana das células epiteliais do intestino médio, criando poros na membrana celular. Essas lesões levam ao dilatamento e lise do epitélio intestinal e morte do inseto (Visser *et al.*, 1990; Li *et al.*, 1991; Gill *et al.*, 1992; Lambert & Peferoen, 1992).

As proteínas tóxicas (σ endotoxinas) aos insetos produzidas pelo *B. thuringiensis* são codificadas pelos genes *cry1*, *cry2*, *cry3*, sendo descritos até o gene *cry40*. A atualização dessas sequências gênicas e de proteínas é feita periodicamente através do website [http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.biols.susx.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/). A classificação desses genes está relacionada com a atividade biológica dos seus produtos. Desse modo,

as proteínas Cry1 e Cry9 são tóxicas para lepidópteros, cry2 para dípteros e lepidópteros, Cry3, Cry7 e Cry8 para coleópteros (Bravo 1997, Bravo *et al.* 1998).

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith), é uma das principais pragas da cultura do milho e pode causar danos de até 34% na produção de grãos (Carvalho, 1970; Cruz *et al.*, 1996). Atualmente, o controle dessa praga é feito basicamente com inseticidas químicos, sendo que o controle através do uso de patógenos pode se tornar uma alternativa viável. Krieg & Langenbruch (1981) relatam que a lagarta do cartucho pode ser controlada por *B. thuringiensis* (subespécies *thuringiensis* e *kurstaki*), mas não informam a percentagem de mortalidade das larvas. Do mesmo modo, Hernandez (1988) relata que cepas de *B. thuringiensis* var. *kenyae* e *B. thuringiensis* sv. *tolworthi* causaram mortalidade de 100% em larvas neonatas de *S. frugiperda*, em duas doses testadas. Entretanto, Beegle & Yamamoto (1992) afirmam que *Spodoptera* spp. não é afetada pelo *B. thuringiensis* do mesmo modo que outras pragas, tais como: *Trichoplusia ni* e *Heliothis virescens*. Esta mesma afirmativa é compartilhada por Baum *et al.* (1999). Bohorova *et al.* (1996), testaram várias cepas de *B. thuringiensis*, em forma de toxina pura, contra a lagarta-do-cartucho, com a mortalidade máxima de 65%.

Até o presente momento, o controle da *S. frugiperda* em campo é feito com inseticidas químicos. O objetivo deste trabalho foi testar 17 subespécies de *B. thuringiensis* em larvas sadias de *S. frugiperda*, em três bioensaios, sendo que, no primeiro, utilizaram-se culturas de *B. thuringiensis* crescidas em meio de cultura líquido; no segundo bioensaio, utilizou-se uma mistura de esporo e cristal em pó incorporado na dieta, em uma única concentração e, no terceiro bioensaio, usou-se uma mistura de esporo e cristal em pó, diluídos em diferentes suspensões aquosas, testadas em lagartas submetidas a diferentes tempos de exposição à toxina.

### Material e Métodos

**Bioensaio 1:** Nesse bioensaio, avaliaram-se oito cepas de *B. thuringiensis* em larvas de *S. frugiperda* enviadas pelo USDA (United States Department of Agriculture), oito cepas enviadas pelo Instituto Pasteur e a cepa SA11 (*B. thuringiensis kurstaki*), gentilmente fornecida pelo CINVESTAV (Centro de Investigación y de Estudios Avanzados – Unidade de Irapuato, México). As cepas foram crescidas em meio líquido a 30 °C, por quatro dias, sob agitação constante. O meio utilizado foi composto de caldo nutriente (mistura de peptona de gelatina e extrato de carne), extrato de levedura, além de sais ( $MgSO_4$ ,  $FeSO_4$ ,  $ZnSO_4$  e  $MnSO_4$ ) e o pH final foi de 7,5. A concentração final foi de  $10^8$  células/ml. Discos de folhas tenras de milho foram lavados com hipoclorito de sódio a 0,5% e depois em água destilada, por duas vezes. Depois de secas, essas folhas foram imersas no material crescido em meio de cultura e fornecidas às larvas sadias de *S. frugiperda* de dois dias de idade, provenientes da criação artificial. Após 48 horas, as folhas foram substituídas por dieta artificial. Os recipientes plásticos com capacidade para 50 ml foram vedados com tampas de acrílico previamente lavadas com hipoclorito de sódio. As avaliações de mortalidade foram feitas

diariamente e as lagartas foram consideradas mortas quando tornaram-se imóveis, de cor preta e de aparência ressecada (sintoma típico de lagartas mortas por *B. thuringiensis*). Nesse bioensaio, foi incluído um tratamento com Dipel (dose recomendada pelo fabricante – 500 gramas  $ha^{-1}$ ), que é um bioinseticida comercial à base de *B. thuringiensis kurstaki*, e uma testemunha em que as folhas foram imersas somente em água. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com seis repetições e 72 lagartas por repetição. A temperatura do laboratório era de  $25 \pm 2^\circ C$  e fotofase de 12 horas. As cepas enviadas pelo USDA foram HD-2 *B.t. thuringiensis*, HD-3 *B.t. finitimus*, HD-4 *B.t. alesti*, HD-7 *B.t. dendrolimus*, HD-11 *B.t. aizawai*, HD-12 *B.t. morrisoni*, HD-29 *B.t. galleriae*, HD-73 *B.t. kurstaki*. As cepas enviadas pelo Instituto Pasteur foram: T-07 *B.t. aizawai*, T-09 *B.t. tolworthi*, T-06 *B.t. entomocidus*, T-24 *B.t. neoleonensis*, T-27 *B.t. mexicanensis*, T-23 *B.t. japonensis*, T- 10 *B.t. darmstadiensis*, T-16 *B.t. indiana*. As cepas que foram enviadas pelo USDA e pelo Instituto Pasteur foram analisadas em dois blocos distintos. A cepa enviada pelo CINVESTAV-México SA11, *B.t kurstaki*, foi avaliada separadamente.

**Bioensaio 2:** Nesse bioensaio, objetivou-se testar o *B. thuringiensis tolworthi* incorporado em dieta artificial em larvas sadias de *S. frugiperda*. Essa cepa foi crescida em meio líquido, enriquecido com sais, durante quatro dias, a 30 °C, sob agitação constante (200rpm). Depois de crescida, a cultura foi centrifugada diferencialmente, retirando-se as impurezas do meio, da seguinte maneira: uma centrifugação por 15 minutos a 10.000rpm e quatro vezes por cinco minutos, a 10.000rpm. Em todos os estágios, descartou-se o sobrenadante e o pellet foi ressuspendido em água destilada. O pellet final foi congelado e liofilizado até o momento da utilização. A toxina foi incorporada na dieta artificial da *S.*

*frugiperda* numa concentração única de 0,8 µg por grama de dieta. Quando da incorporação da toxina, a dieta estava com a temperatura de 55°C, em fase semi-sólida. Larvas de diferentes idades (2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 dias) permaneceram em contato com a dieta até que se transformassem em pupas, apresentassem sintomas de infecção e/ou morressem. Nesse bioensaio, foram utilizados os mesmos recipientes plásticos com capacidade de 50ml, para acondicionar as lagartas. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com seis repetições e 16 lagartas por repetição. A temperatura do laboratório foi de 25 ± 2°C e fotofase de 12 horas.

**Bioensaio 3:** O objetivo foi testar várias doses da toxina liofilizada da cepa T09 *B. thuringiensis tolworthi*, contra a *S. frugiperda*, em vários tempos de exposição. A toxina em pó, mistura de esporo e cristal liofilizado, foi utilizada nas doses de: 25, 50, 100, 250 e 500 µg da toxina/ml de água. Essas doses foram estabelecidas de acordo com Salama *et al.* (1981). Na testemunha, foi utilizada apenas água bidestilada. A metodologia utilizada foi a mesma descrita no bioensaio 1. Foram utilizadas 50 lagartas para cada dose da toxina, sendo que estas foram deixadas em contato com a folha contaminada por 24, 48 e 72 horas. A mortalidade foi observada a partir de 24 horas após a inoculação, sendo que, depois desse período, as larvas que sobreviveram foram transferidas para copos de plástico contendo dieta artificial, sem toxina, e determinado o período larval, duração de fase de pupa, peso de pupa, número de pupas mortas, pupas defeituosas e adultos defeituosos.

### Resultados e Discussão

**Bioensaio 1:** A cepa que causou maior mortalidade de larvas de *S. frugiperda* foi o *B. thuringiensis tolworthi* (T09), proveniente do Instituto Pasteur, com 95,8% de mortalidade, seguido do *B. thuringiensis aizawai* (HD11), do USDA,

com 80,8%, e do *B. thuringiensis darmstadiensis*, (T10) do Instituto Pasteur, com 77,9% de mortalidade. A menor mortalidade foi causada pelo *B. thuringiensis kurstaki* (HD73), do USDA, com 2,7% de mortalidade (Tabela 1). A alta mortalidade de 95,8% apresentada pela cepa *B. thuringiensis tolworthi* é semelhante aos resultados obtidos por Hernandez (1988), que relata uma mortalidade de 100% para larvas de *S. frugiperda*. Como pode ser observado na Tabela 1, as menores mortalidades foram causadas pelas cepas de *B. thuringiensis finitimus* e *B. thuringiensis kurstaki*, respectivamente. O bioinseticida Dipel, produto microbiano à base de *B. thuringiensis kurstaki*, não apresentou mortalidade satisfatória, causando um controle aquém do esperado, entre 20 e 30%.

**Bioensaio 2:** Esse bioensaio foi realizado com o objetivo de se aprofundar na caracterização da cepa T09 (*B. thuringiensis tolworthi*), que apresentou melhor resultado contra a lagarta-do-cartucho. Os resultados mostraram que houve uma tendência no aumento da mortalidade causada pelo *B. thuringiensis tolworthi* sobre as lagartas de três e seis dias de idade (Tabela 2). A maior mortalidade (100%) ocorreu com larvas de três a seis dias de idade, mostrando o grande potencial dessa cepa no controle da lagarta-do-cartucho. Uma menor mortalidade das lagartas mais desenvolvidas foi também observada por Bai & Degheele (1992). Os autores relatam que larvas de *S. exempta*, do 1º instar, são mais susceptíveis a algumas toxinas de *B. thuringiensis* que as larvas do sexto instar. Os autores mostraram que a CL<sub>50</sub> em larvas do sexto instar é o dobro do que a CL<sub>50</sub> em larvas do 1º instar.

**Bioensaio 3:** Os resultados mostraram que a mortalidade da *S. frugiperda* cresceu em função da dose utilizada e do tempo de exposição das larvas às toxinas (Tabela 3). Utilizando-se a dose máxima de 500µg ml<sup>-1</sup> por 24, 48 e 72 horas, as mortalidades foram de 38,0; 54,0 e 84,0%, respectivamente.

**TABELA 1.** Mortalidade de larvas de *Spodoptera frugiperda* de dois dias de idade, infectadas com *Bacillus thuringiensis* usado em suspensão. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

| Cepas provenientes do USDA | % de mortalidade | Cepas provenientes do Instituto Pasteur | % de mortalidade |
|----------------------------|------------------|---|------------------|
| HD 2                       | 37,8 a           | T 09                                    | 95,8 a           |
| HD 12                      | 28,0 b           | T 07                                    | 80,8 b           |
| Dipel                      | 20,2 bc          | T 10                                    | 77,9 b           |
| HD 29                      | 12,8 cd          | T 23                                    | 33,5 c           |
| HD 11                      | 7,8 de           | dipel                                   | 30,6 cd          |
| HD 4                       | 6,8 de           | T 24                                    | 17,9 de          |
| HD 7                       | 5,4 de           | T 27                                    | 17,0 e           |
| HD 3                       | 5,2 de           | T 16                                    | 12,2 e           |
| Testemunha                 | 4,0 e            | T 06                                    | 9,8 e            |
| HD 73                      | 2,7 e            | testemunha                              | 8,9 e            |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Tukey. Coeficiente de variação: 22,45%.

**TABELA 2.** Mortalidade da *Spodoptera frugiperda* com *Bacillus thuringiensis tolworthi* Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

| Idade das larvas (dias) | Mortalidade (%) |
|-------------------------|-----------------|
| 10                      | 90,74 b         |
| 9                       | 80,36 c         |
| 8                       | 83,78 c         |
| 7                       | 100,00 a        |
| 6                       | 100,00 a        |
| 5                       | 100,00 a        |
| 3                       | 100,00 a        |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5%, pelo teste de Tukey. Coeficiente de variação: 5,95%.

Pelos resultados obtidos, o tempo de exposição de 24 horas à toxina não é suficiente para causar mortalidade na *S. frugiperda* acima de 50% (Tabela 3). Tomando-se os dados da Tabela 3, a análise de probit mostrou que a concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>), considerando-se o tempo de exposição de 72 horas, foi de 271,1 µg ml<sup>-1</sup>. Esses dados são confirmados por Salama et al. (1981), para quais relatam que *Heliothis armigera* tratada com *B. thuringiensis kurstaki* HD-1 não causou mortalidade de 100%, mesmo na dose mais alta e quando exposto apenas por 24 horas. A mortalidade chegou a

100% quando a exposição do inseto à toxina foi de 21 dias. A cepa SA11 (*B. thuringiensis kurstaki*), que foi avaliada separadamente, causou 83,15% de mortalidade, mostrando, junto com as outras cepas mencionadas, um potencial no controle microbiano da lagarta-do-cartucho. A análise de probit mostrou que a CL<sub>50</sub> (concentração letal 50) foi de 58,95 µg de toxina/ml.

O período da fase de pupa (dias) e o peso das pupas (gramas) não foram alterados, independente da dose utilizada e/ou do tempo de exposição à toxina. Esses fatores permaneceram constantes

**TABELA 3.** Mortalidade da *Spodoptera frugiperda* com o *Bacillus thuringiensis tolworthi*, em diferentes concentrações e diferentes tempos de exposição. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

| Dose da toxina (em $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) | Tempo de exposição (em horas) | % de mortalidade |
|--|-------------------------------|------------------|
| água - testemunha                          | 24                            | 10,4             |
| água - testemunha                          | 48                            | 8,0              |
| água - testemunha                          | 72                            | 10,2             |
| 25   | 24                            | 8,0              |
| 25   | 48                            | 14,3             |
| 25   | 72                            | 10,2             |
| 50   | 24                            | 20,0             |
| 50   | 48                            | 4,0              |
| 50   | 72                            | 16,0             |
| 100  | 24                            | 20,4             |
| 100  | 48                            | 20,0             |
| 100  | 72                            | 32,0             |
| 250  | 24                            | 36,0             |
| 250  | 48                            | 26,0             |
| 250  | 72                            | 36,0             |
| 500  | 24                            | 38,0             |
| 500  | 48                            | 54,0             |
| 500  | 72                            | 84,0             |

quando as larvas foram expostas a toxinas de *B. thuringiensis*. O período máximo da fase de pupa foi de 12,5 dias e o mínimo, de 11,4 dias (Tabela 4). O valor máximo do peso médio de pupas foi de 0,254 (+0,01) gramas e o mínimo, de 0,223 (+0,01) gramas (Tabela 4). Esses dados da biologia da *S. frugiperda* são confirmados por Siloto (2002), que estudou a biologia da lagarta-do-cartucho em diversos genótipos de milho. Em relação ao período larval, houve um pequeno aumento em média apenas quando as larvas foram submetidas à concentração de  $500\mu\text{g ml}^{-1}$  por 48 ou 72 horas, chegando a 24,2 e 25,3 dias, respectivamente. Para todas as outras concentrações, o período máximo foi, em média, de 21,7 e o mínimo, de 19,78 dias (Tabela 4). O número de pupas e adultos defeituosos e o número de pupas mortas não variou, em média, nas diferentes concentrações usadas e nem nos diferentes tempos de exposição (Tabela 5).

Os resultados mostraram que o *B. thuringiensis tolworthi* foi eficiente em matar larvas de *S. frugiperda* quando expostas a concentrações maiores ( $500\mu\text{g ml}^{-1}$ ) da toxina em pó (esporo e cristal liofilizados), por um maior período de tempo (72 horas). Em geral, não houve alteração na biologia da *S. frugiperda* quando exposta ao *B. thuringiensis*, para nenhum dos fatores estudados. Os resultados obtidos diferem dos dados obtidos por Salama *et al.* (1981), que detectaram diferenças significativas em todos os parâmetros biológicos analisados, tais como: período larval, peso de pupas, duração da fase de pupa e adultos defeituosos. Nesse bioensaio, o que se observou foi que ou a toxina de *B. thuringiensis tolworthi* apresenta alta toxicidade ao inseto ou este sobreviveu sem externar danos aparentes à sua fisiologia de desenvolvimento.

**TABELA 4.** Período larval, período da fase de pupa e peso de pupa de larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas com *Bacillus thuringiensis tolworthi*. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

| Dose da toxina<br>(em $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) | Tempo de exposição<br>(em horas) | Período larval<br>(em dias) | Período da fase de pupa<br>(em dias) | Peso de pupa<br>(em gramas) |
|---|----------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| água  | 24                               | 19,88 $\pm$ 1,75            | 11,67 $\pm$ 0,57                     | 0,239 $\pm$ 0,01            |
| água  | 48                               | 19,00 $\pm$ 0,96            | 11,97 $\pm$ 0,58                     | 0,243 $\pm$ 0,01            |
| água  | 72                               | 21,70 $\pm$ 1,78            | 12,47 $\pm$ 0,98                     | 0,223 $\pm$ 0,01            |
| 25  | 24                               | 19,25 $\pm$ 0,99            | 11,41 $\pm$ 0,83                     | 0,254 $\pm$ 0,01            |
| 25  | 48                               | 19,78 $\pm$ 1,20            | 12,52 $\pm$ 0,52                     | 0,247 $\pm$ 0,01            |
| 25  | 72                               | 20,28 $\pm$ 1,14            | 11,89 $\pm$ 0,70                     | 0,245 $\pm$ 0,02            |
| 50  | 24                               | 19,97 $\pm$ 1,36            | 11,72 $\pm$ 0,53                     | 0,232 $\pm$ 0,01            |
| 50  | 48                               | 20,71 $\pm$ 1,16            | 11,48 $\pm$ 0,77                     | 0,243 $\pm$ 0,01            |
| 50  | 72                               | 20,32 $\pm$ 1,13            | 12,27 $\pm$ 0,65                     | 0,243 $\pm$ 0,01            |
| 100   | 24                               | 20,53 $\pm$ 2,42            | 12,40 $\pm$ 0,65                     | 0,246 $\pm$ 0,01            |
| 100   | 48                               | 20,66 $\pm$ 1,12            | 12,18 $\pm$ 0,72                     | 0,246 $\pm$ 0,01            |
| 100   | 72                               | 21,78 $\pm$ 1,53            | 11,90 $\pm$ 1,30                     | 0,246 $\pm$ 0,01            |
| 250   | 24                               | 21,09 $\pm$ 1,35            | 11,39 $\pm$ 0,74                     | 0,240 $\pm$ 0,01            |
| 250   | 48                               | 20,54 $\pm$ 1,10            | 12,23 $\pm$ 0,56                     | 0,243 $\pm$ 0,01            |
| 250   | 72                               | 21,77 $\pm$ 1,26            | 12,29 $\pm$ 1,49                     | 0,243 $\pm$ 0,01            |
| 500   | 24                               | 20,86 $\pm$ 1,52            | 12,56 $\pm$ 0,61                     | 0,237 $\pm$ 0,01            |
| 500   | 48                               | 24,19 $\pm$ 2,48            | 11,55 $\pm$ 1,48                     | 0,240 $\pm$ 0,01            |
| 500   | 72                               | 25,37 $\pm$ 1,99            | 11,62 $\pm$ 1,89                     | 0,226 $\pm$ 0,02            |

**TABELA 5.** Percentagem de pupas mortas, pupas defeituosas e adultos defeituosos de *Spodoptera frugiperda*, quando infectados com *Bacillus thuringiensis tolworthi*, em diferentes concentrações e em diferentes tempos de exposição. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

| Dose da toxina<br>(em $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) | Tempo de exposição<br>(em horas) | Pupas mortas | Pupas defeituosas | Adultos defeituosos |
|---|----------------------------------|--------------|-------------------|---------------------|
| água  | 24                               | 14,6         | 4,1               | 2,1                 |
| água  | 48                               | 12,0         | 2,0               | 6,0                 |
| água  | 72                               | 12,3         | 6,1               | 4,1                 |
| 25  | 24                               | 10,0         | 4,0               | 4,0                 |
| 25  | 48                               | 4,1          | 2,0               | 0,0                 |
| 25  | 72                               | 10,2         | 0,0               | 2,0                 |
| 50  | 24                               | 6,0          | 2,0               | 2,0                 |
| 50  | 48                               | 6,0          | 4,0               | 0,0                 |
| 50  | 72                               | 10,0         | 2,0               | 4,0                 |
| 100   | 24                               | 0,0          | 0,0               | 2,0                 |
| 100   | 48                               | 0,0          | 0,0               | 4,0                 |
| 100   | 72                               | 8,0          | 4,0               | 4,0                 |
| 250   | 24                               | 6,0          | 4,0               | 4,0                 |
| 250   | 48                               | 4,0          | 2,0               | 4,0                 |
| 250   | 72                               | 2,0          | 2,0               | 2,0                 |
| 500   | 24                               | 2,0          | 0,0               | 2,0                 |
| 500   | 48                               | 6,0          | 4,0               | 4,0                 |
| 500   | 72                               | 0,0          | 0,0               | 2,0                 |

### Literatura Citada

- BAI, C.; Yi, S. X.; DEGHEELE, D. The comparative potency of commercial *Bacillus thuringiensis* formulations to larvae of *Spodoptera exempta* (walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Parasitica**, Gembloux, v. 48, n. 2, p. 35-42, 1992.
- BAUM, J. A.; JOHNSON, T. B.; CARLTON, B. C. 1999. *Bacillus thuringiensis*: natural and recombinant bioinsecticide products. In: HALL, F. R.; MENN, J. J. (Ed.) **Biopesticides**: use and delivery. Totowa: Humana Press, 1999. p.
- BEEGLE, C. C.; YAMAMOTO, T. Invitation paper (C. P. Alexander Fund): History of *Bacillus thuringiensis* Berliner Research and development. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 124, p. 587-616, 1992
- BOHOROVA, N.; M. CABRERA; C. ABARCA; R. QUINTERO; A. M. MACIEL; R. M. BRITO; D. HOISINGTON; A. BRAVO. Susceptibility of four tropical maize pests to *Bacillus thuringiensis* cryI-type insecticidal toxins. **Journal of Economia Entomology**, College Park, v. 90, n. 2, p. 412-415, 1996.
- BRAVO, A. Phylogenetic relationships of *Bacillus thuringiensis* d endotoxin family proteins and their functional domains. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 17, p. 2793-2801, 1997.
- BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLALOBOS, F. J.; PEÑA, G; NUÑES-VALDEZ, M. E.; SOBERÓN, M.; QUINTERO, R. Characterization of *cry* Genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* Strain Collection. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 12, p. 4965-4972, 1998.
- CARVALHO, R. P. L. **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho em condições de campo**. 1970. 170 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- CRUZ, I.; OLIVEIRA L. J.; OLIVEIRA A. C.; VASCONCELOS C. A. Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomologia do Brasil**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 293-297, 1996.
- GILL, S. S.; COWLES E. A.; PIETRANTONIO P. V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Polo Alto, v. 37, p. 615-636, 1992.
- HERNANDEZ, J. L. L. Évaluation de la toxicité de *Bacillus thuringiensis* sur *Spodoptera frugiperda*. **Entomophaga**, Paris, v. 33, p. 163-171, 1988.
- HERRNSTADT, C.; SOARES G. G.; WILCOX E. R.; EDWARDS D. L. A. New Strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against Coleopteran Insects. **Biotechnology**, New York, v. 4, p. 305-308, 1986.
- KOZIEL, M. G.; CAROZZI N. B.; CURRIER T. C.; WARREN G. W.; EVOLAS. V. The insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*: Past, present and future uses. **Biotechnology & Genetic Engineering Reviews**, Pontland, v. 11, p. 171-228, 1993.
- KRIEG, A.; LANGENBRUCH G. A. Susceptibility of Arthropod Species to *Bacillus thuringiensis*. In: BURGESS, H. D. (Ed.). **Microbial control of insects and mites**. London: Academia Press, 1981. p. 837 - 896.



- LAMBERT, B.; PEFFEROEN, M. Insecticidal Promise of *Bacillus thuringiensis*. **Bioscience**, v. 42, n. 2, p. 112-122, 1992.
- LI, J.; CARRELL J.; ELLARD J. Crystal Structure of Insecticide delta - endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2,5 Å Resolution. **Nature**, London, v. 353, p.815 - 821, 1991.
- SALAMA, H. S.; FODA M. S.; EL-SHARABY A.; MATTER M.; KHALAFALLAH M. Development of some lepidopterous cotton pests as affected by exposure to sublethal levels of endotoxins of *Bacillus thuringiensis* for different periods. **Journal Invertebrate Pathology**, v. 38, p. 220-229, 1981.
- SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho**. 2002. 105f. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- VISSER. B.; MUNSTERMAN E.; STOKER A.; DIRKSE W. G. A Novel *Bacillus thuringiensis* Gene Encoding a *Spodoptera exigua* - Specific Crystal Protein. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 172, p. 6783 - 6788, 1990.