

Toxicidade de Cepas *Bacillus thuringiensis* Berliner Sobre a Lagarta-do-cartucho do Milho *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae)

[Previous](#) [Top](#)
[Next](#)



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato G

BOREGAS, K.G.B., GUIMARÃES, C. T., VALICENTE, F. H., LOGUÉRCIO, L.L.,
PAIVA, E.

Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151,
Sete Lagoas, MG 35 701– 970
kgboregas@hotmail.com

Palavras-chave: Patógeno, Caracterização Molecular, Produção de Milho, Distribuição Geográfica.

INTRODUÇÃO

O *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria gram-positiva que ocorre naturalmente no solo, água, insetos mortos e ambientes onde se armazenam grãos (Lambert & Peferoen, 1992). Se destaca por produzir durante o processo de esporulação uma inclusão protéica cristalina, denominada delta-endotoxina (δ -endotoxina), composta por subunidades com poder tóxico e amplo espectro de ação, sendo ativa contra cerca de 130 espécies de insetos da ordem Lepidoptera (como exemplo, a lagarta-do-cartucho).

As δ -endotoxinas são sintetizadas na forma de pró-toxinas que quando ingeridas pelo inseto são solubilizadas e convertidas proteoliticamente em fragmentos tóxicos de aproximadamente 650 aminoácidos. Esses fragmentos ligam-se especificamente, e com alta afinidade, a receptores protéicos na membrana celular. Essas lesões levam ao dilatamento e lise do epitélio intestinal, causando a morte do inseto (Li *et al.*, 1991, Gill *et al.*, 1992).

A Embrapa Milho e Sorgo possui um Banco de Microrganismo contendo 4459 cepas de *B. thuringiensis* isoladas principalmente de amostras de solo provenientes de diferentes regiões do território nacional. O objetivo deste trabalho foi testar, através de bioensaios, a porcentagem de mortalidade causada por essas cepas de *B. thuringiensis* amostradas em diferentes regiões do país no controle de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, e fazer uma correlação entre produção de milho/região e cepas eficientes contra a lagarta do cartucho.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de amostras de solo:

Um total 1448 amostras de solo foram coletadas em quatro regiões distintas, abrangendo 10 Estados e aproximadamente 80 Municípios. As regiões amostradas foram o Nordeste do Brasil (clima úmido próximo ao litoral, agreste e sertão), o Sudeste do Brasil (área de cerrado e em alguns solos férteis), a região Sul (solos férteis) e o Centro-Oeste (área de cerrado) (Figura 1). Destas 1448 amostras, foram selecionadas aleatoriamente 83 cepas de *B. thuringiensis* amostradas em diferentes regiões.

Isolamento e conservação de *Bacillus thuringiensis*:

As amostras foram coletas na superfície do solo, preferencialmente em regiões onde havia plantio de milho, colocadas em sacos plásticos, etiquetadas e trazidas para o laboratório de Controle Biológico da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas, MG. De cada amostra foram usadas 1,0 grama de solo diluído em 5 ml de solução salina. Após 15 horas sob agitação constante, 1,0 ml desta suspensão foi colocada em microtubo e dado o choque térmico: Banho maria a 65 °C por 30 minutos e, imediatamente após, a amostra foi colocada no gelo por 5 minutos, ou até que a amostra esfriasse. Novamente o material do microtubo foi homogeneizado e, trinta segundos após, 50 ml da suspensão foi colocada numa placa de Petri contendo meio para bactéria (q.s.p. 1000 ml: 1,0 g de glicose, 8,0 g de caldo nutritivo, 0,02 g de FeSO₄, 0,02 g de ZnSO₄, 2,0 g de extrato de levedura, 0,02 g de MnSO₄, 0,3 g de MgSO₄, 12,0 g de ágar, 40 mg/l de penicilina e água destilada) com pH de 7,5. As placas foram incubadas a 30 °C de 24 a 48 horas.

Decorrido o tempo necessário para desenvolvimento das colônias, as mesmas foram observadas no microscópio de contraste de fase e as colônias que apresentaram características de *B. thuringiensis* foram selecionadas, plaqueadas individualmente, vedadas e incubadas a 30 °C por mais 48 horas em estufa. As bactérias que apresentaram cristais foram selecionadas para futuros bioensaios com a lagarta *S. frugiperda*. As 4459 cepas foram fermentadas em meio líquido, conservadas em forma de pellet e congeladas em freezer (-80 °C).

Bioensaios utilizando lagartas de *Spodoptera frugiperda*:

A partir de lagartas de *S. frugiperda* com 2 dias de idade, criadas em laboratório com dieta artificial (q.s.p. 600 lagartas: 333,0 g de feijão, 101,4 g de levedura de cerveja, 158,4 g de germe de trigo, 10,2 g de ácido ascórbico, 6,3 g de metil parahidroxibenzoato, 3,3 g de ácido sórbico, 41,0 g de ágar, 25 ml de formol e 2400,0 ml água) procederam-se os bioensaios onde cada lagarta foi transferida para copos plásticos (50 ml) contendo dieta imersas na suspensão com *B. thuringiensis*. As lagartas foram armazenadas sob condições controladas de temperatura (25 °C), umidade (70 %) e fotoperíodo (14h/10h) e diariamente foram feitas avaliações para constatação da mortalidade das mesmas. Consideraram-se cepas eficientes aquelas que apresentaram índice de mortalidade superior a 75 % ao final do oitavo dia de avaliação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 83 cepas de Bt, isoladas de diferentes regiões do Brasil, apresentaram índice de mortalidade variando de 0 a 100%, indicando a existência de uma elevada variabilidade para a patogenicidade contra *S. frugiperda*. Cepas eficientes foram aquelas que apresentaram o índice de mortalidade contra a lagarta-do-cartucho superior a 75%, e todas as regiões brasileiras amostradas (NE, SE, S e CO) apresentaram cepas eficientes no controle da praga de milho (Tabela 1).

Tabela 1. Cepas com índice de mortalidade acima de 75% para controle biológico de *Spodoptera frugiperda*.

Cepa	Mortalidade	Estados	Cepa	Mortalidade	Estados
358	75,0	BA	520B	95,6	MG
1092B	75,0	MG	1089EK	95,8	MG
1039C	75,0	GO	1091H	95,8	MG
939F	78,2	MG	1089EL	95,8	MG
1109O	77,2	GO	426	96,0	CE
1091A	78,2	MG	702K	97,6	MS
1124A	78,2	GO	8462A	100	PR
1091C	79,0	MG	460L	100	PR
1074D	79,1	MG	474L	100	PR
1091B	79,2	MG	701	100	SP
1092A	81,8	MG	701A	100	SP
1121D	82,6	GO	1119C	100	GO
1119B	85,7	GO	566BLR	100	sem local
1090F	85,7	MG	702L	100	MG
1121C	86,3	GO	T09	100	França
1090B	94,7	MG	HD125	100	EUA
461A	95,5	PR			

Como o número de amostras por municípios foi variável, foi realizada uma média da taxa de mortalidade para todas as cepas de Bt de um mesmo município. Os municípios amostrados foram classificados de acordo com a produção de milho no período de 1998 a 1999, segundo os dados do IBGE, 2000. Os pontos de coleta e a produção de milho de cada região estão apresentados na Figura 1. A região Sudeste foi representada por 20 amostras oriundas dos estados de São Paulo e de Minas Gerais, onde a produção de milho variou de 25 a 50.000 ton e a média de mortalidade das cepas foi de 67,06%, a maior média por região geográfica. Destaque deve ser dado para as duas cepas coletadas na região de Assis que apresentaram o índice de mortalidade de 100%. A região Sul foi representada por sete amostras do Paraná, incluindo municípios com grande amplitude de produção entre 25 e 250.000 ton de milho, cuja média de produção foi superior à região Sudeste. Da mesma forma, mortalidade das cepas de Bt coletadas nessa região foi bastante variável, mas apresentando uma redução para 55,17%. Na região Centro-Oeste foram coletadas amostras nos Estados de Goiás (20) e Mato Grosso do Sul (3), incluindo municípios com as médias de produção mais elevadas (acima de 100.000 ton), dentre aquelas avaliadas no presente estudo. À semelhança da região Sul, as cepas de Bt também apresentaram menor eficiência no controle da lagarta-do-cartucho, com uma média de mortalidade de 47,82%. Na região Nordeste, foram coletadas amostras nos Estados de AL, BA, CE, PE e SE, onde a produção média foi a menor do país ficando abaixo de 5.000 ton de milho. Nessa região, dentre as 28 cepas de Bt avaliadas apenas duas apresentaram mortalidade acima de 75% contra a lagarta-do-cartucho, atingindo uma média de 11,24%, a menor dentre as regiões.

Apesar de não terem sido observadas correlações significativas entre níveis de produção de milho, distribuição geográfica e índice de mortalidade das lagartas pelas cepas de Bt, algumas inferências podem ser feitas. Nos municípios da região Nordeste, onde o milho é cultivado de forma extensiva, mas com baixa tecnologia e em pequenas propriedades, as cepas de Bt coletadas foram pouco eficientes no controle de larvas da *S. frugiperda*. Por outro lado, as cepas que apresentaram índices de mortalidade mais elevados foram localizadas em municípios cuja produção média de milho variou de 25 a 100.000 toneladas na região de GO, MG e PR (Figura 2).

CONCLUSÃO

Das 83 cepas selecionadas do Banco de Microrganismo obteve-se 33 cepas eficientes no controle de lagartas de *S. frugiperda* com mortalidade acima de 75%.

A região Sudeste apresentou a maior média de mortalidade das cepas de *Bt.*

A região Nordeste foi a que obteve menor produção média e a menor média de mortalidade de mortalidade da lagarta do cartucho.

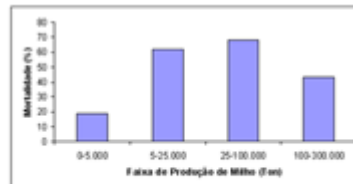


Figura 2. Índice de mortalidade (%) causadas pelas cepas de *Bt* sobre a lagarta do cartucho, em função da faixa de produção de milho (toneladas) no ano agrícola de 1998-1999, dos municípios amostrados.

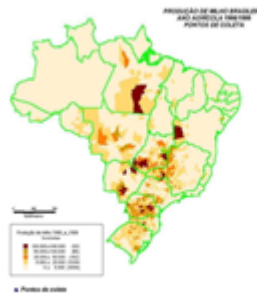


Figura 1. Mapa político do Brasil representando os pontos de coleta de amostras de solo em azul e produção anual (1998-1999) nas diferentes regiões, conforme a coloração da legenda. Fonte: IBGE, 2000. Edição: Gisela Avellar.

LITERATURA CITADA

Dulmage, H.T & Rhodes, R.A. 1971. Production of pathogens in artificial media. In: Burges, H.D. and Hussey, N.W.(eds). Microbial Control of Insects and Mites. Academic Press, pp.507-540.

Gill,S.S.; Cowles,E.A. & Pietrantonio, P.V. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis*. Ann. Ver. Entomol. 37: 615-636.

IBGE 2000

Lambert, B. & Peferoen, M. 1992. Insecticidal Promise of *Bacillus thuringiensis*. Bioscience 42:112-122.

Li, J.J. Carrell & Ellar, D.J. 1991. Crystal Structure of Insecticide delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2,5. A Resolution. Nature 353: 815-821.



XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo - 29/08 a 02/09 de 2004 - Cuiabá - Mato C
