

INFECÇÃO EM OVOS E LARVAS DA *Diatraea saccharalis* FABRICIUS, 1794 (LEPIDOPTERA; CRAMBIDAE) COM *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (EUBACTERIALIES: BACILLACEAE)

Lucas Pietro Ferrari Gianini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), João Alencar Pamphile (Co-orientador), Hélio Conte (Orientador), e-mail: helconte@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área: 2.06.00.00-3 Morfologia Subárea: 2.06.01.00-0 Citologia e Biologia Celular

Palavras-chave: Inseto-praga; controle-biológico; entomopatígeno.

Resumo

A cana-de-açúcar é uma das commodities com a maior importância econômica no Brasil, pois é matéria prima para a produção de etanol e açúcar. Esta cultura é alvo de diversos organismos pragas, principalmente a *Diatraea saccharalis* que causa prejuízos de forma direta e indireta. No controle de insetos pragas vem sendo utilizada a bactéria *Bacillus thuringiensis* pois durante sua esporulação produz proteínas com potencial tóxico. Neste trabalho foram observados ovos da *D. saccharalis* mergulhados por um minuto em soluções contendo *B. thuringiensis* var. *kurstaki* nas concentrações de 10%, 5% e 1%, seguindo-se análises do percentual de redução da eclosão (RE) e da mortalidade larval (ML) pós eclosão. Os dados coletados a cada 24 horas mostram que as concentrações de 10% e 5% resultam em (RE) com valores superiores ao controle, com os percentuais 48,8% e 12,5% respectivamente. Na (ML) as concentrações de 1%, 5% e 10% diferiram do controle apresentando mortalidade de 61%, 65% e 70%. Estes resultados permitem concluir que o *B. thuringiensis* var. *kurstaki* controlou a *D. saccharalis* pois na concentração de 1% ocasionou a morte de 61% das larvas após eclosão.

Introdução

A *D. saccharalis* é considerada uma das principais pragas da cana-de-açúcar, atingindo praticamente todos os estados brasileiros. As larvas deste inseto perfuram o colmo e constroem galerias causando a perda da matéria prima e provocando a quebra ou tombamento dos colmos. Pelos orifícios abertos na planta adentram fungos que causam contaminações e inversão da sacarose comprometendo a produção do etanol e açúcar. Em seu estado adulto as mariposas fêmeas, fazem posturas de ovos nas folhas da cana-de-açúcar dois dias após o acasalamento, cada lote de postura

contém de 5 a 50 ovos e a eclosão varia de 4 a 9 dias. As larvas neonatas penetram no colmo da cana permanecendo no seu interior até se tornarem adultas (GALLO et al., 2002).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria comumente encontrada no solo, sua utilização no controle pragas relacionadas com o meio agrícola é crescente. Desde que foi descoberta sua capacidade inseticida passou a ser utilizada mundialmente no controle de pragas e contra insetos transmissores de doenças. (BISHOP et al., 1998). Estas bactérias apresentam genes em seus plasmídeos e em alguns casos em seu DNA para a expressão de proteínas com potencial tóxico em diversas ordens de insetos, alguns nematoides e ácaros. As proteínas Cry são as mais citadas na literatura, sua ação ocorre nas células epiteliais do intestino médio dos insetos quando estes são submetidos a tratamentos com o *B. thuringiensis*. Ao ingerir esporos e proteínas inativos, que se tornam ativos ao chegar no intestino médio, as proteínas sofrem a ação de enzimas e do pH alcalino tornando-se protoxinas ativas, as quais se ligam a receptores de membrana do intestino formando poros na membrana celular. Através dos poros ocorre entrada e saída de substâncias de forma não seletiva, gerando desequilíbrio osmótico, que leva a morte celular (FIUZA, 2010). Com isso um quadro de septicemia se instala levando o inseto a morte.

O objetivo deste trabalho foi observar o percentual de redução da eclosão de ovos (RE) e o percentual de mortalidade larval (ML) em larvas de primeiro instar de *D. saccharalis* eclodidas de ovos submetidos a tratamentos com *B. thuringiensis* var. *kurstaki*.

Materiais e métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Controle Biológico, Genética e Biologia Celular (DBC) na Universidade Estadual de Maringá. Os ovos utilizados foram obtidos de criação própria do laboratório. Como bioinseticida, foi usado o produto BAC – CONTROL – WP. Registrado no Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA nº 00458791. *Bacillus thuringiensis* (mínimo de 25×10^9) esporos viáveis por grama de produto equivalente a 16000 UI de potência por miligrama 32,0g/kg (3,2% m/m). Lote 051-16-4000, variedade *kurstaki*. As soluções preparadas apresentaram as concentrações de 1%, 5%, 10% e controle (água destilada), sendo usado como solvente água destilada com pH neutro e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Para os testes de (RE) foram utilizados no total 720 ovos da *D. saccharalis*, sendo 18 ovos por repetição e 10 repetições por tratamento. Cada lote de ovos foi mergulhado por um minuto em solução contendo *B. thuringiensis* e em água destilada no tratamento controle. Após a imersão os lotes foram colocados sobre papel absorvente para secagem de forma natural. Finalizada a secagem, as posturas foram acondicionadas em potes plásticos de 14x9x4cm contendo papel umedecido e permaneceram em B.O.D. na temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo 12:12 (D/N). Os dados foram coletados a cada 24h para posteriores cálculos de

percentuais. Nos testes de (ML) foram utilizadas 20 larvas escolhidas ao acaso por repetição, provenientes dos ovos anteriormente tratados com *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, sendo estas mantidas em placas de Petri com dieta artificial (HENSLEY; HAMMOND, 1968). Os acompanhamentos foram feitos em quintuplicata e os tratamentos mantidos nas mesmas condições anteriormente descritas sendo os dados de mortalidade coletados diariamente pós eclosão, pelo total de sete dias.

Resultados e discussão

Os valores de (RE) obtidos foram: 48,8%, 12,5% e 1,7%, para as concentrações 10%, 5% e 1% respectivamente, contra 1,1% do controle (tabela 1). As análises dos percentuais mostram que apenas o tratamento de 1% não diferiu de forma significativa do controle, já os tratamentos de 5% e 10% apresentaram percentuais superiores e significativos de não eclosão dos ovos quando comparados ao controle.

Tabela 1. Percentuais de redução da eclosão (RE) dos ovos da *D. saccharalis* pós aplicação de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*.

Tratamentos	Ovos tratados	Ovos com eclosão	Ovos não eclodidos	RE
Controle	180	178	02	1,1%
1%	180	177	03	1,7%
5%	180	160	20	12,5%
10%	180	121	59	48,8%

Os percentuais de mortalidade das larvas mostram que conforme a concentração utilizada aumenta, maior é o percentual de (ML) de *D. saccharalis* (tabela 2). Os percentuais de mortalidade são de 70%, 65% e 61%, referentes as concentrações 10%, 5% e 1% respectivamente.

Tabela 2. Percentuais de mortalidade de larvas (ML) de 1º instar de *D. saccharalis* resultantes da aplicação de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* sobre ovos.

Concentração	Larvas tratadas	Larvas Mortas	ML
Controle	100	03	3%
1%	100	61	61%
5%	100	65	65%
10%	100	70	70%

Dados similares foram encontrados por Githay e colaboradores (2007) em testes com o mesmo inseto praga e por Polanczyk e Alves (2005) em testes com o *Spodoptera frugiperda*, em ambos os casos houve interferência no desenvolvimento dos organismos tratados com *B. thuringiensis* e seu uso foi indicado pelos autores como agente controlador.

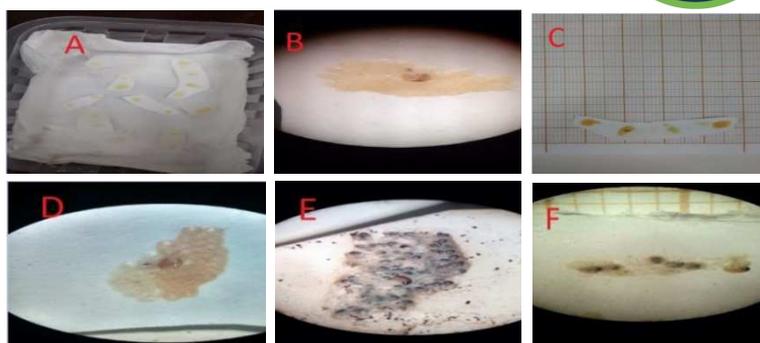


Figura 1: (A) Ovos tratados com solução contendo *B. thuringiensis* var. *kurstaki* na concentração de 1% armazenados em recipiente plástico para observação, (B, C, D) Lotes de ovos controle da *D. saccharalis* em desenvolvimento, (E) Lote tratamento 10% com ovos iniciando a eclosão, (F) Lote tratamento 1% contendo alguns ovos que não eclodiram.

Conclusões

Os dados obtidos permitiram concluir que as concentrações de 10% e 5% do produto BAC – CONTROL – WP interferiram na eclosão de ovos da *D. saccharalis* e todas as concentrações apresentaram percentuais de mortalidade superiores a 60% em larvas de 1º instar.

Agradecimentos

Para a Universidade Estadual de Maringá e para a Fundação Araucária pela oportunidade de desenvolvimento e concessão da bolsa.

Referências

BISHOP, A.H.; JOHNSON, C.; PERANI, M. The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals investigated by oral and subcutaneous dosage. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Amsterdam, 15; 375-380; 1999.

FIUZA, L. M. Mecanismo de ação de *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, 38; 32-35; 2010.

HENSLEY, S.D. ; A.H. HAMMOND. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Econ. Entomol.** 61;1742-1743; 1968.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 1-920; 2002.

GITAHY, P. M; SOUZA, M. T; MONNERAT, R. G; ARRIGONI, E. B; BALDANI, J. I. A Brazilian *Bacillus thuringiensis* strain highly active to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) - **Brazilian Journal of Microbiology**; 38(3); 531-537; 2007.

POLANCZYK, R. A; ALVES, S. B. Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* berliner - **Scientia Agricola**; 62(5); 464-468; 2005.