

EFICIÊNCIA DO *Bacillus thuringiensis kurstaki* HD-1 (Bacillales: Bacillaceae) NO CONTROLE DE LARVAS DA *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Crambidae)

Fabio de Deus Oliveira Junior (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bruno Vinicius Daquila (Coorientador), Helio Conte (Orientador)
e-mail: fabioinaja@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas
Maringá, PR.

Área: Ciências Biológicas: Subárea: Biologia Geral

Palavras-chave: bactéria, controle biológico, insetos-praga

Resumo:

A cultura da cana-de-açúcar sofre grandes perdas no Brasil, as principais delas ocorrem por ataques de pragas, entre as quais encontra-se a *Diatraea saccharalis*, popularmente conhecida como broca da cana-de-açúcar; suas fases larvais possuem hábito alimentar mastigador o que ocasiona perda de rendimento para o setor sucroalcooleiro. Atualmente alguns métodos são considerados eficazes para controlar infestações desta praga, como por exemplo, o controle biológico. Estudos tem demonstrado a eficácia de algumas variedades de *Bacillus thuringiensis* para controle de lepidópteros praga. Aqui, nosso objetivo foi observar a eficácia de *B. thuringiensis* variedade Kurstaki HD-1 para o controle de larvas neonatas da *D. saccharalis*, através de bioensaios onde foram preparadas soluções com três concentrações diferentes (0,125, 0,250 e 0,500%), aplicadas sobre dieta artificial.

Introdução

D. saccharalis, é considerada principal praga em culturas de cana-de-açúcar no Brasil; durante o estágio larval, esse inseto possui hábito alimentar mastigador e ocasiona prejuízos diretos nas lavouras, perfurando os colmos e construindo galerias internas, responsáveis pela quebra das plantas e perda de rendimento. Os prejuízos causados pela *D. saccharalis* também podem ser indiretos, onde fungos das espécies *Colletotrichum falcatum* e *Fusarium verticillioides* penetram nos colmos da planta pelos orifícios abertos e causam a inversão da sacarose armazenada pela planta, além disso, competem com os microrganismos utilizados pelas indústrias nos processos de fermentação do caldo (SATHYBHAMA et al., 2016). Buscando reduzir os prejuízos, a indústria utiliza meios para controle da *D. saccharalis*, entre eles o controle químico, biológico e alternativo. A aplicação de inseticidas sintéticos ocasiona fatores negativos como resíduos tóxicos na lavoura e no solo, fazendo com que seja necessário a utilização

de métodos sustentáveis, onde destaca-se o controle biológico, que utiliza agentes bióticos para o combate de insetos-praga. Dentre os agentes biológicos conhecidos que possuem ação para o controle de Lepidópteros, destacam-se os entomopatógenos bacterianos *Bacillus thuringiensis*, grupo utilizado para produção de bioinseticidas (HORTA et al., 2017). Existem diversos isolados de *B. thuringiensis*, que devido suas características genéticas, produzem variantes de proteínas Cry (biomolécula responsável pela toxicidade aos insetos-praga) resultando em diferentes níveis de toxicidade para os insetos-alvo. Daquila et al. (2019) observaram que o isolado *B. thuringiensis* variedade Aizawai GC-91 demonstrou eficiência para o controle de larvas neonatas da *D. saccharalis*, obtendo taxas de mortalidade de 100% em determinadas concentrações, após 144 h de aplicação. Este trabalho tem como objetivo analisar a eficiência de *B. thuringiensis* variedade Kurstaki HD-1 para controle de larvas neonatas da *D. saccharalis*, observando a taxa de mortalidade e possíveis alterações morfológicas.

Materiais e métodos

Insetos

Os insetos foram obtidos de criação própria do Laboratório de Controle Biológico, Morfologia e Citogenética de Insetos da Universidade Estadual de Maringá – UEM (23º 25' 30 "S e 51 ° 56' 20" W). Larvas neonatas foram obtidas de posturas da *D. saccharalis* feitas em câmara de acasalamento seguindo a metodologia de Araújo (1987).

Após postura, os ovos foram coletados, lavados em água destilada pH 7.0, acondicionados em placas de Petri 100 mm e acompanhados até sua eclosão, onde larvas (n= 10) com idade entre 0-24 h foram selecionadas aleatoriamente e reservadas para os bioensaios.

Bioensaios

Os bioensaios foram feitos utilizando o produto comercial Dipel® (Sumitomo Chemical do Brasil, São Paulo, SP, Brasil; número de registro da empresa IMA 701-00203), biopesticida comercial contendo *B. thuringiensis* variedade Kurstaki-HD-1. Manipulado pela FMC química do Brasil Ltda. (Uberaba, Minas Gerais Brasil registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sob número 00291). Produto contendo no mínimo 27,5 bilhões de esporos viáveis/ g (equivalente a 17.600 U. I de potência/ mg). A aplicação do produto foi feita baseada no manual do fabricante para controle de lepidópteros e também nas metodologias de Daquila et al (2019). Três concentrações do produto, 0.125, 0.250 e 0.5% foram diluídas em água destilada pH 7.0 e temperatura de 25 °C. Alíquotas contendo 300 µL das respectivas soluções foram adicionadas sobre 15 mL de dieta artificial (Hensley e Hammond, 1968), sem adição de anticontaminantes, em placas de Petri de vidro 90x15 mm. Para o grupo controle foi adicionada água destilada pH 7.0 em temperatura de 25 °C. Em cada placa foram adicionadas 10 larvas. Os tratamentos foram feitos em triplicatas (n= 30 por

grupo). As amostras foram acondicionadas em B.O.D Tecnal TE-402 com ciclo de 12:12 (D:N), temperatura de 25 ± 2 °C e umidade de $70 \pm 10\%$. A mortalidade foi observada a cada 24 horas pelo período total de 144 h. As análises e registros de alterações na morfologia externa foram realizadas a cada 24 h em microscópio estereoscópio Zeiss.

Análises estatísticas

Os dados coletados foram verificados quanto à normalidade e homogeneidade pelos testes de Kolmogorov–Smirnov e de Bartlett, respectivamente. As comparações estatísticas entre os tratamentos e o controle foram feitas pela ANOVA one-way por Kruskal–Wallis e pelo teste post-hoc de Dunn, para comparações pareadas entre os tratamentos com significância de $p=0,05$. Os dados foram analisados estatisticamente por meio do programa IBM SPSS 25.0..

Resultados e Discussão

O teste de Kruskal-Wallis indicou diferenças estatisticamente significativas em relação à mortalidade da *D. saccharalis* e as concentrações do entomopatógeno utilizadas ($X^2 = 84,000$ $p = 0,000$). Comparações entre o grupo controle e os tratamentos indicaram diferenças significativas (teste de Duncan $p < 0,05$) (Fig. 1)

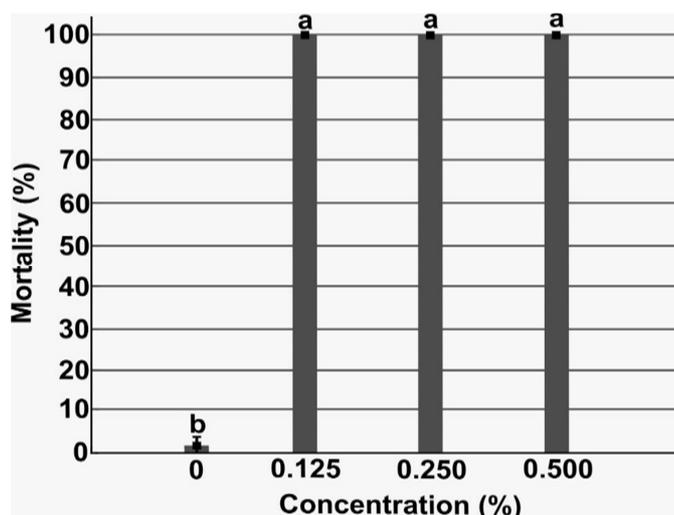


Figura 1. Mortalidade total de larvas neonatas da *Diatraea saccharalis* após 144 h de aplicação de diferentes concentrações (0,125, 0,250 e 0,500%) de *Bacillus thuringiensis* variedade Kurstaki HD-1 sobre dieta artificial. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas (Duncan $p = 0,05$).

Em análises de comparações múltiplas, o controle se diferiu de todos os tratamentos (*Duncan p* = 0,000 para todas concentrações). As concentrações 0,125, 0,250 e 0,500% não demonstraram diferenças significativas (*Duncan p* = 1,000 para todas concentrações). A única divergência notada entre as concentrações utilizadas foi o tempo de letalidade das larvas, onde para a concentração de 0,125% foi de 144 h, para a de 0,250% 120 h e para a de 0,500% 96 h.

Conclusões

Concluimos que *B. thuringiensis* variedade Kurstaki HD-1 foi eficiente para o controle de larvas neonatas da *D. saccharalis* em todas concentrações utilizadas, sendo uma excelente alternativa ao uso de controladores químicos.

Agradecimentos

Agradeço a CAPES por conceder bolsa para a realização deste trabalho.

Referências

- ARAÚJO, J. R. Guia prático para a criação da broca da cana-de-açúcar e de seus parasitóides em laboratório. **IAA/Planalsucar**. p. 1-36, 1987.
- DAQUILA, B. V.; SCUDELER, E. L.; DOSSI, F. C. A.; MOREIRA, D. R.; PAMPHILE, J. A.; CONTE, H. Action of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) in the midgut of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 184, 109642. Maringá, PR. 2019.
- HENSLEY, S. D.; HAMMOND, A.H. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**. v. 61, p. 1742-1743, 1968.
- HORTA, A.B., PANNUTI, L.E.R., BALDIN, E.L.L., FURTADO, E.L., 2017. **Toxinas inseticidas de *Bacillus thuringiensis***. In: Resende, R.R. (Ed.), *Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria – Fundamentos e Aplicações*. Blucher, São Paulo, pp. 737–774
- SATHYABHAMA, M.; VISWANATHAN, R.; MALATHI, P.; SUNDAR, A.R. Identification of differentially expressed genes in sugarcane during pathogenesis of *Colletotrichum falcatum* by suppression subtractive hybridization (SSH) **Sugar tech**, v.18, n.2, p.176-183, 2016.