

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

PATOGENICIDADE DE *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER, 1909) EM LAGARTAS DE *URBANUS ACAWOIOS* (WILLIAMS, 1926) (LEPIDOPTERA, HESPERIIDAE)L.K.F. da Silva¹ & A.G. de Carvalho²

¹Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Laboratório de Irradiação de Alimentos e Radioentomologia, CP 96, CEP 13400-970, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: lkfsilva@cena.usp.br

RESUMO

Clitoria fairchildiana Howard (Leguminosae, Papilionidae) usada na arborização urbana e em estradas são desfolhadas periodicamente por lagartas de *Urbanus acawoios* (Lepidoptera: HesperIIDae) em surtos ocasionais. Testou-se a patogenicidade de *Bacillus thuringiensis*, var. Kurstaki, em formulação pó molhável, cujas dosagens foram 0, 250, 750 e 1.500 g / ha. O produto foi pulverizado sobre as folhas de sombreiro e oferecidas às lagartas. Utilizou-se 10 lagartas de terceiro e 10 lagartas de quinto ínstaes por dosagem em 4 repetições, mantidos em temperatura ambiente. Registraram-se alterações morfológicas e comportamentais do inseto e, a cada 12 horas, a mortalidade. Os sinais de susceptibilidade foram notados 10 horas após a ingestão do alimento contaminado. Observou-se perda do apetite, abandono do alimento, diminuição dos movimentos até paralisação, flacidez e perda de agilidade larval. A coloração do tegumento mudou e as consistências dos excrementos apresentaram-se aquosas (diarréia). As primeiras mortes foram registradas 12 horas após a ingestão do alimento. Para lagartas de terceiro e quinto ínstaes recomenda-se 750 e 250 g / ha, respectivamente, não diferindo da maior dosagem (1.500 g / ha). *B. thuringiensis* foi eficaz no controle de lagartas de *U. acawoios*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, *Clitoria fairchildiana*, Insecta, lagarta-do-sombreiro.

ABSTRACT

PATOGENICITY OF *BACILLUS THURINGIENSIS* (BERLINER, 1909) AGAINST CATERPILLARS OF *URBANUS ACAWOIOS* (WILLIAMS, 1926) (LEPIDOPTERA: HESPERIIDAE). *Clitoria fairchildiana* Howard (Leguminosae, Papilionidae) used in urban arborization and roads, is stripped by caterpillars of *Urbanus acawoios* (Lepidoptera: HesperIIDae) in occasional sudden appearances. This study tested the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki, in splash dust formulation, in dosages of 0, 250, 750 and 1,500 g / ha. The product was sprayed on the leaves of "sombreiro tree" and it was offered to the caterpillars. Ten caterpillars of third stage and 10 caterpillars of fifth stage were used per dosage in 4 repetitions, kept in ambient temperature. Morphological and behavioral alterations of the insects were observed and recorded, and every 12 hours mortality was also registered. Signs of susceptibility were noticed 10 hours after the ingestion of the contaminated food. There was observed loss of appetite, abandonment of food, reduction of movements until stoppage, flaccidity and loss of larval agility. The coloration of the epidermis changed and the consistency of the excrements turned watery (diarrhea). The first deaths were observed 12 hours after the ingestion of the food. The dosages of 250 and 750 g / ha were effective for the caterpillars of fifth and third stages, respectively, not differing in results from the highest dosage used (1,500 g / ha). *B. thuringiensis* was efficient in the control of caterpillars of *U. acawoios*.

KEY WORDS: Biological control, *Clitoria fairchildiana*, insecta, caterpillar-of-sombreiro-tree.

O controle biológico geralmente é exercido por organismos dos grupos de predadores, parasitóides e patógenos que são capazes de reduzir o crescimento populacional das pragas. As fases imaturas das pragas podem ser atacadas por microhimenópteros, dípteros ou infestadas por agentes patogênicos

como fungos, bactérias e vírus. A ação humana ao controle de pragas deve ocorrer somente quando esses inimigos naturais, eventualmente, falham em manter os índices populacionais dos insetos fitófagos abaixo dos limites de tolerância da planta (GRAVENA, 1983).

²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, DPF, IF, Seropédica, RJ, Brasil.

O investimento em produção de agentes microbianos para controle biológico no Brasil vem crescendo desde os anos 80, devido às exigências ecológicas e ambientais da sociedade (ALVES, 1998). Dentre os agentes microbianos utilizados, as bactérias têm se destacado, especialmente, na família Bacillaceae, a espécie *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1909; VALADARES-INGLIS *et al.*, 1998). O mercado tomou grande impulso quando se verificou que novas linhagens apresentavam um amplo e variado espectro de ação, controlando insetos das ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera e atualmente ácaros e nematóides, sendo responsável por 90 a 95% do mercado (MELO & AZEVEDO, 1998).

B. thuringiensis é uma bactéria de solo, Gram-positiva, esporulante e anaeróbia facultativa. Possui uma inclusão cristalina, composto por proteínas denominadas δ -endotoxinas, com ação extremamente tóxica e altamente específica. Contaminam os insetos por via oral, multiplicando-se no seu interior. Essas toxinas, sintetizadas como protoxinas, provocam lesões no epitélio intestinal dos insetos em seu estágio larval. Após a ingestão, os cristais são solubilizados dentro do tubo digestivo graças a um pH alcalino, o que explica a alta suscetibilidade dos insetos com pH intestinal acima de 8,0, e são ativados por proteases contidas no fluido intestinal. A toxina liga-se a receptores específicos presentes na superfície da membrana das células epiteliais, formando poros e causando o desequilíbrio osmótico entre o meio intra e extracelular, em seguida, causa a lise celular e a morte da larva (VALADARES-INGLIS *et al.*, 1998; AZEVEDO, 1998; HABIB & ANDRADE, 1998; ALVES, 1998).

Também conhecido como "lagarta palito-de-fósforo", devido à cabeça grande com um "pescoço" estreito, *Urbanus acawoios* (Williams, 1926) (Lepidoptera, Hesperiiidae) é uma praga que consome o sombreiro, *Clitoria fairchildiana* Howard (Leguminosae, Papilionidae) empregada na arborização de parques, jardins, estradas (SILVA, 1995), também em reconstituições vegetais de áreas degradadas e preservação permanente, pois possui crescimento rápido e rusticidade, é muito utilizada na região Sudeste e Norte do Brasil (LORENZI, 1992), mas é encontrada em praticamente todos os estados brasileiros. Este inseto é considerado "praga eruptiva", pois apresenta longos períodos de baixa densidade populacional intercalado com alta densidade populacional, geralmente em intervalos irregulares. Durante os surtos são capazes de desfolhar totalmente as árvores em poucos dias. Essa espécie possui grande potencial para se tornar praga de plantas cultivadas, tais como o feijão (*Phaseolous vulgaris*) e a soja (*Glycine max*), pois consegue completar seu ciclo evolutivo normalmente quando alimentadas com essas leguminosas (SILVA, 1995; TREVISAN *et al.*, 2000; MACHADO, 2000; PINTO & CARVALHO, 2001).

O objetivo deste trabalho foi estudar a patogenicidade de *B. thuringiensis* determinando as dosagens mais efetivas para o possível controle de lagartas de *U. acawoios*.

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Proteção Florestal do Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. As lagartas foram criadas em laboratório em dieta natural, (folhas de *C. fairchildiana*) colhida e lavada com água corrente diariamente.

Para os tratamentos utilizou-se o inseticida biológico *B. thuringiensis* var. Kurstaki, linhagem HD1, sorotipo H-3a:3b, em formulação pó molhável, contendo 16.000 U.I. (unidades internacionais de potência por mg) e 96,8% p/p de esporos inertes (marca comercial: Dipel), cujas dosagens foram 0 (testemunha), 250, 750 e 1.500 g/ha de *B. thuringiensis*, diluídas em 400 litros de água/ha. O produto foi aplicado em pulverização, em cada tratamento, sobre as folhas de *C. fairchildiana* em ambos os lados, procurando-se obter uma cobertura uniforme, com um pulverizador manual. Após a evaporação da água, as folhas foram oferecidas às lagartas, em placas de Petri, com 14,5 cm de diâmetro por 2 cm de altura, à temperatura ambiente. Foram utilizadas 10 lagartas de terceiro e 10 lagartas de quinto ínstares de *U. acawoios* para as 4 repetições por dosagem. O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso com arranjo fatorial de 2 x 3, com 4 repetições, sendo o primeiro fator, os ínstares das lagartas (terceiro e quinto) e o segundo, as dosagens de *B. thuringiensis* (250, 750 e 1.500 g/ha). As observações foram realizadas a cada 12 horas até completar-se 36 horas. Nestas observações registravam-se as alterações na movimentação, paralisação, mudança de cor e morte de lagartas *U. acawoios*. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os primeiros sinais de susceptibilidade de *U. acawoios* apareceram aproximadamente, 10 horas após a ingestão do alimento contaminado pelo *B. thuringiensis*. Os sintomas observados foram perda do apetite e abandono do alimento, diminuição dos movimentos até a paralisação, corpo flácido, perda de agilidade e movimentos vagarosos, não reagia bruscamente com o toque como a lagarta sadia. A coloração do tegumento mudou de verde brilhante para amarelo-escuro à marrom-escuro, fosca e sem brilho. Nesta fase, a consistência dos excrementos apresentou-se aquosa (diarréia). As primeiras mortes foram registradas 12 horas após a ingestão do alimento tratado, concordando com SANTOS *et al.* (1995), que verificaram a susceptibilidade de *Eustema sericea* a *B. thuringiensis*, dizendo que as lagartas perderam o apetite, abandonaram o alimento, regurgitaram e ocorreram diarréias, paralisação dos movimentos e morte em 18 a 72 horas, consideraram o produto bastante efetivo.

Tabela 1 - Mortalidade (%) acumulada de lagartas de terceiro e quinto ínstaes de *Urbanusacawios* e respectivas porcentagens, para as três dosagens de *Bacillusthuringiensis*, por período de 12 horas, Seropédica, RJ.

Ínstar	Tratamento (g /ha)	Horas			Tukey*
		12	24	36	
3º	0	0,0	0,0	0,0	a
	250	2,5	17,5	70,0	b
	750	5,0	37,5	95,0	c
	1.500	7,5	37,5	97,5	c
5º	0	0,0	0,0	0,0	a
	250	5,0	15,0	85,0	b
	750	10,0	67,5	97,5	b
	1.500	5,0	75,0	100,0	b

*Letras diferentes indicam diferença significativa entre as médias ao nível de significância de 5% de probabilidade.

Para HABIB & ANDRADE (1998) a perda do apetite e o abandono do alimento são os primeiros sinais da bacteriose, seguidos de regurgitações e diarreia, perda de brilho do tegumento e coloração fosca, perda da agilidade das lagartas, tegumento com tonalidades de cor marrom escura. Em estágios mais avançados, a larva torna-se flácida e para totalmente de se movimentar. Estes aspectos do quadro sintomatológico de susceptibilidade foram observados por diversos autores desde 1959, em lagartas de lepidópteros cujos resultados são concordantes com este trabalho (HEIMPEL & ANGUS, 1959; SHAIKH, 1966; BERTI FILHO & GALLO, 1977; HABIB, 1982).

De acordo com os sintomas e modo de ação, pode-se classificar *U. acawios* "susceptível do Tipo II", pois não ocorre paralisia geral após a ingestão do produto. As lagartas sofrem a septicemia sem alteração no pH da hemolinfa e a invasão do patógeno na cavidade do corpo ocorre devido à degeneração dos tecidos intestinais em algumas localidades permitindo a passagem do agente patogênico, conforme HABIB & ANDRADE (1998).

Todas as dosagens com o inseticida biológico à base de *B. thuringiensis* foram eficientes no controle de lagartas de *U. acawios*. A porcentagem de mortalidade de lagartas por tratamento, de 12 em 12 horas, após a aplicação do *B. thuringiensis* é apresentada na Tabela 1.

Não houve interação entre as idades das lagartas e as doses utilizadas no teste, ou seja, os efeitos da dose independe do período larval do inseto, visto que as lagartas de quinto ínstar foram mais susceptíveis ao *B. thuringiensis* que as lagartas de terceiro ínstar, pois apresentou maior porcentagem de mortalidade nas três doses utilizadas do inseticida biológico, enquanto que entre os tratamentos (doses) foi significativo ao nível de 5%.

A DL_{50} , provavelmente, é menor que 250 g / ha, pois esta dose provocou 70% e 85% de mortalidade das lagartas de terceiro e quinto ínstaes, respectivamente, em 36 horas após o tratamento.

As doses de 750 g / ha e 1.500 g / ha de *B. thuringiensis* foram as mais eficientes no controle de *U. acawios* para lagartas de terceiro ínstar, sugere-se a utilização de 750 g / ha contra esta praga neste estágio (Tabela 1).

As três dosagens de *B. thuringiensis* testadas (250, 750 e 1.500 g / ha), foram bastante efetivas contra lagartas de *U. acawios*, não diferindo entre si no quinto ínstar larval. Por isto, recomenda-se a utilização de *B. thuringiensis* com a dosagem de 250 g / ha no controle de lagartas de quinto ínstar.

O inseticida biológico à base de *B. thuringiensis* foi eficaz no controle de lagartas de *U. acawios* e, portanto, recomendam-se as dosagens de 750 g / ha e 250 g / ha para aplicação de *B. thuringiensis* contra lagartas de *U. acawios* de terceiro e quinto ínstaes, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B. *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- AZEVEDO, J. L. Controle microbiano de insetos-pragas e seu melhoramento genético. In: MELO, I. S. & AZEVEDO, J. L. (Eds.). *Controle biológico*. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p.69-93.
- BERTI FILHO, E. & GALLO, D. O uso de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de lagarta das palmeiras *Brassolis astyra astyra* Godart, 1765 (Lepidoptera, Brassolidae). *An. Soc. Entomol. Bras.*, v.6, p.85-91, 1977.
- GRAVENA, S. O controle biológico na cultura algodoeira. *Inf. Agropecu.*, Belo Horizonte, v.9, n.104, p.3-15, 1983.
- HABIB, M. E. M. *Patogenicidade de duas variedades de Bacillus thuringiensis* Berliner para larvas de Lepidoptera e Diptera. São Paulo: 1982. 163p. [Tese (Livro-Docência) – Instituto de Biologia / UNICAMP, Campinas].
- HABIB, M. E. M. & ANDRADE, C. F. S. Bactérias entomopatogênicas. In: Alves, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.383-446.
- HEIMPEL, A. M. & ANGUS, T. A. The site of action of crystalliferous bacteria, in Lepidoptera larvae. *J. Insect Pathol.*, v.1, p.152-170, 1959.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. p.197.
- MACHADO, M. C. *Biologia comparada de Urbanus acawios Williams (1926) (Lepidoptera: Hesperidae) em Clitoria fairchildiana, Centrosema pubescens, Galactia striata (Leguminosae) e alimentação alternada*. Seropédica: 2000. 88p. [Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro].
- MELO, I. S. & AZEVEDO, J. L. *Controle biológico*. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. 264p.

- SANTOS, G.P.; ZANÚNCIO, T.V.; NETO, H.F.; ZANÚNCIO, J.C. Suscetibilidade de *Eustema sericea* (Lepidoptera; Notodontidae) ao *B. thuringiensis* var. *Kurstaki*. *Rev. Ceres*, v.42, n.242, p.423-430, 1995.
- PINTO, J.M. & CARVALHO, A.G. Razão de crescimento, mortalidade e sobrevivência de *Urbanus acawoios* Williams (1926) (Lep., Hesperidae). *Floresta e Ambiente*, Rio de Janeiro, v.8, n.1, p. 153-160, 2001.
- SHAIKH, M.U. & MORRISON, F.O. Susceptibility of nine insect species to infection by *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, v. 8, p.347-350, 1966.
- SILVA, L.K.F. Aspectos biológicos de *Urbanus acawoios* (Williams, 1926) (Lepidoptera, Hesperidae) *Clitoria fairchildiana*, *Centrosema pubescens*, *Glycine max* e *Phaseolus vulgaris* (Leguminosae). Rio de Janeiro: 1995. 103p. [Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro].
- TREVISAN, H.; NADAI, J.; CARVALHO, A.G. Parâmetros biológicos de *Urbanus acawoios* (desfolhador do sombreiro, *Clitoria fairchildiana*) desenvolvendo-se em *Phaseolus vulgaris*. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, 10., 2000, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: 2000. v.10, p.151-152.
- VALADARES-INGLIS, M.C.; DE-SOUZA, M.; SHILER, W. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELO, I.S. & AZEVEDO, J.L. *Controle biológico*. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. p.201-225.

Recebido em 3/5/04

Aceito em 9/6/04