

## SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* ISOLADOS NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO PARA CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda*

João Vitor Andrade BERNARDES <sup>(1)</sup>; Ana Maria Guidelli THULER <sup>(2)</sup>; Robson Thomaz THULER <sup>(3)</sup>

- (1) Estudante, Instituto Federal do Triângulo Mineiro, IFTM, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.  
(2) Professora, Universidade de Uberaba, UNIUBE, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.  
(3) Professor, Instituto Federal do Triângulo Mineiro, IFTM, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

**RESUMO:** Atualmente o controle de pragas nas lavouras se faz muito necessário, no entanto, o uso intensivo de inseticidas químicos tem provocado danos consideráveis ao ambiente. Nesse contexto o uso de inseticidas biológicos tem crescido no mercado mundial e os produtos à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) são responsáveis por 90 a 95% do mercado de bioinseticidas. Objetivou-se avaliar o efeito de 20 isolados de *Bt* no controle da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*). Os isolados 150.1, 99.1, 6.1 e 63.3 apresentaram as melhores respostas para o controle da lagarta, diferenciando-se dos demais pois apresentaram mortalidade larval igual ou acima de 90%. Esse efeito nos remete à possibilidade de incluir esse isolado nos próximos testes, juntamente com outros isolados que ocasionaram mortalidade superior, quando confrontados com o grupo de isolados teste, incluindo-os em experimentos de dose-resposta, para adequação das concentrações de esporo-cristal capazes de ocasionar altas mortalidades nas populações de insetos-praga.

**Palavras-Chave:** Controle biológico; Inseticida biológico; Entomopatógenos.

### INTRODUÇÃO

O controle de insetos, sejam eles nocivos à agricultura ou vetores de doenças humanas, é realizado, quase que exclusivamente, utilizando-se produtos químicos. O uso desses inseticidas vem causando danos ao homem e ao ambiente, atingindo inimigos naturais, contaminando alimentos, solo, água e favorecendo uma rápida seleção de insetos resistentes, pois são aplicados, a cada dia, em maiores quantidades e frequência.

Nos últimos anos, tem sido alto o investimento na otimização de agentes de controle biológico, mas apesar disso, somente alguns bioinseticidas têm sido empregados. Neste cenário a bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é responsável por 90 a 95% do mercado de bioinseticidas. São utilizados especialmente em países como Estados Unidos, onde sua comercialização chega a superar a dos inseticidas químicos. (VALADARES- INGLIS et al., 1998).

O sucesso da bactéria *B. thuringiensis* na diversidade de produtos para controle biológico deve-se, em grande parte, ao fato de sua característica tóxica ser referente a proteínas produzidas durante a esporulação. Estas proteínas têm ação sobre pragas de diversas culturas  
Anais do II Seminário de Pesquisa e Inovação Tecnológica, Uberaba, MG, v.2, n.1, set., 2018.

como a soja, algodão, gramíneas (pastagens, milho, cana, arroz), crucíferas (couve, couve-flor, repolho, brócolis), tomate, fumo, mandioca, café, eucalipto, alfafa, citros, maracujá, seringueira, abacaxi, amendoim, coqueiros e cucurbitáceas (abóbora, pepino, melão, melancia) (SANTOS; GUIDELLI-THULER, 2017)

Uma das vantagens da utilização de *B. thuringiensis* é sua especificidade aos insetos sensíveis à ação de suas toxinas. Além disso, essa bactéria não possui efeito poluente, é inócua aos mamíferos, a outros invertebrados e plantas. Outra vantagem proporcionada por essa bactéria é o desenvolvimento de plantas transgênicas expressando genes de proteínas Cry. Essas culturas modificadas geneticamente são capazes de produzir toxinas específicas de *B. thuringiensis*, que são tóxicas aos insetos. Desse modo, as plantas transgênicas constituem-se em mais uma alternativa com grande potencial de proteção contra a ação de insetos-praga (WHITELEY; SCHNEPF, 1986).

As proteínas Cry são codificadas pelos genes *cry*, que se encontram preferencialmente localizados nos plasmídeos, geralmente conjugativos, e juntamente com uma frequente associação a elementos genéticos móveis determinam a grande diversidade desses genes e a consequente ocorrência de linhagens contendo diferentes combinações dos mesmos e, portanto, com perfis de toxicidades distintos (LERECLUS et al., 1993).

No contexto, ressaltam-se a importância e a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de novos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis*, pois as diferentes formulações e a identificação de novos isolados com diferentes toxinas podem promover maior atividade tóxica e melhor resultado do produto em diferentes condições ambientais (MEDEIROS, 2004).

Entre as espécies que podem ser controladas por esse microrganismo, está a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), uma das principais pragas da cultura do milho no Brasil (CRUZ, 1995), que ocorre em todo o ciclo da cultura, causando consideráveis perdas na produção e na ausência da planta preferencial, pode atacar culturas como a soja (GÓMEZ et al. 1999). O ataque pode ocorrer desde a fase de plântula até as fases de pendoamento e espigamento (CRUZ, 1995). Tais culturas representam grande parte do que é consumido pela população e também na alimentação animal, na agropecuária. Portanto, manter bons índices de produtividade nessas culturas é de extrema importância e, neste contexto, mantê-las livres de insetos-praga torna-se fundamental (CAMPANINI et al., 2012).

O trabalho teve por objetivo selecionar isolados de *Bacillus thuringiensis* da coleção do IFTM (isolados na região do Triângulo Mineiro), para o controle da lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução do experimento uma tira de papel filtro dos isolados 119, 30.1, 35.3, 59, 62.2, 70, 134, 137, 78, 14, 111, 109, 37, 41.1, 54.1, 62.2, 63.3, 6.1, 99.1 e 150.1 contendo os esporos da bactéria foi colocada em uma placa de petri com ágar nutriente para a multiplicação da bactéria. Após esse procedimento a placa foi colocada em estufa tipo B.O.D. a 30°C por cinco dias. Após esse período foi feita a repicagem das colônias de bactéria em duas novas placas e elas foram mantidas por mais 5 dias em estufa, quando o experimento foi montado. As placas contendo as colônias de *Bt* foram coletadas, sendo as colônias diluídas no interior de tubos estéreis com tampa, até chegarem a 10ml, ocorrendo em seguida 2 diluições ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ), utilizando-se a diluição  $10^{-2}$  para quantificação de esporos presentes na suspensão. Ocorrida a contagem dos esporos, foi feito um cálculo de diluição da suspensão mãe para que ela chegasse a concentração de  $3 \times 10^8$  esporos/mL. Para cada tratamento foram mergulhados 50 cubos de dieta artificial de  $1\text{cm}^3$  cada, na suspensão mãe já diluída por 3 minutos e levados para secagem em temperatura ambiente. Após a secagem, os cubos de dieta impregnados com os esporos da bactéria foram colocados em copos descartáveis com tampa e fornecidos para a alimentação das lagartas. Em cada copo foram colocadas duas lagartas. Ao final do período de uma semana foi avaliada a mortalidade dos insetos e os dados obtidos foram submetidos ao teste tukey de comparação de médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o desenvolvimento da pesquisa ao longo do ano de 2017, coleta de dados e análise estatística pode-se observar alguns isolados que apresentaram alto desempenho no controle de lagartas de *Spodoptera frugiperda*. Os isolados 150.1, 99.1, 6.1, 63.3, 62.2, 54.1, 41.1 provocaram uma mortalidade acima dos demais isolados, como pode ser verificado nas médias de mortalidade (tabela 1), em que, ao avaliar-se 20 lagartas em cada repetição por tratamento, todos apresentaram médias acima de 12 lagartas mortas, sendo que alguns dos isolados apresentaram 100% de mortalidade.

Esse trabalho mostra-se promissor, pois a identificação de isolados eficientes no controle de *S. frugiperda*, pode levar à produção de novos inseticidas biológicos, mais eficazes que os atuais. Uma vez que, de acordo com os resultados apresentados na tabela 1, pode-se observar que os isolados 150.1, 99.1, 6.1, 63.3 apresentaram mortalidade larval igual ou superior a 90% para lagartas de *S. frugiperda*, valores próximos aos encontrados em trabalhos publicados por Silva-Werneck et al. (2000) e Polanczyk (2004), os quais encontraram isolados

capazes de causar até 100% de mortalidade. Outros trabalhos como HALCOMB et al. (1996) relataram que o controle efetivo de *Heliothis virescens* e *Pectinophora gossypiella* por plantas-Bt de algodão foi de 95 e 99%, respectivamente, enquanto o controle de *Helicoverpa armigera* variou entre 70 a 90%, dependendo do ínstar das lagartas. Dessa maneira o trabalho mostra-se promissor para o controle de lagartas, abrindo caminhos para novas pesquisas, contribuindo assim para um eficiente manejo de pragas sem agredir e desequilibrar o meio ambiente.

## CONCLUSÃO

Os isolados eficientes no controle das lagartas são muito favoráveis para o futuro do controle biológico, pois possibilitam a produção de inseticidas feitos com a bactéria e também a criação de híbridos resistentes ao ataque dos insetos (Plantas *Bt*). Este trabalho também abre portas para novos estudos com *Bt* e com o banco de isolados do IFTM Campus Uberaba.

## REFERÊNCIAS

- CAMPANINI, E. B.; DAVOLOS, C. C.; ALVES, E. C. da C.; LEMOS, M. V. F. Caracterização de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* para o controle de importantes insetos-praga da agricultura. *Bragantia*, Campinas, v. 71, n. 3, p.362-369, 2012.
- CRUZ, I. Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico. In *Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas*. Campinas, 170p. 1995.
- GOMEZ, S. A.; MOSCARDI, F & SOSA- GÓMES, D. R. Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* a isolados geográficos de um vírus de poliedrose nuclear. *Pesq. Agropec. Bras.* n. 34: 1539-1544. 1999.
- HALCOMB, J.L. et al. Survival and growth of bollworm and tobacco budworm non-transgenic and transgenic cotton expressing CryI<sub>Ac</sub> insecticidal protein (Lepidoptera : Noctuidae). *Environmental Entomology*, Lanham, v.25, n.2, p.250-255, 1996.
- LERECUS D.; DELECLUSE, A.; LECADET, M. M. Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In: ENTWISTLE, P.F.; CORY, J.S.; BAILEY, M.J.; HIGGS, S. (Ed.). *Bacillus thuringiensis* an environmental biopesticide: theory and practice. Chichester: J. Wiley e Sons, p.37-70, 1993.
- MEDEIROS, P. T. Estirpes brasileiras de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle biológico da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. 2004. 82f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2004.
- POLANCZYK, R.A. Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). 144f. Thesis (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SANTOS, B.P.; GUIDELLI-THULER, A.M. Caracterização de isolados de *Bacillus thuringiensis* eficientes contra insetos da ordem lepidoptera.. 11º ENTEC – Encontro de Tecnologia: 16 de outubro a 30 de novembro de 2017.

SILVA-WERNECK, J.O.; NETO, J.R.M.V.A.; TOSTES, A.N.; FARIA, L.O.; DIAS, J.M.C.S. Novo isolado de *Bacillus thuringiensis* efetivo contra a lagarta-do-cartucho. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.35, n.1, p.221-227, jan. 2000.

VALADARES-INGLIS, M.C.C., SHILER, W., DeSOUZA, M.T. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: MELLO, I.S., AZEVEDO, J.L., Controle Biol., Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. v.1., p.201-30.

WHITELEY, H.R.; SCHNEPF, H.E. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. Annual Review of Microbiology, Palo Alto, v.40, p.549-576, 1986.

**Tabela 1.** Média de lagartas mortas por repetição em cada tratamento e mortalidade média (%) de lagartas de 2º ínstar de *Spodoptera frugiperda*, ocasionada por isolados de *Bacillus thuringiensis*.

Isolado	Número de insetos mortos	Mortalidade (%)
150.1	20.0 a*	100
99.1	19.3 a	96.5
6.1	18.6 a	93
63.3	18.3 a	91.5
62.2	13.3 b	66.6
54.1	13.0 b	65
41.1	12.6 b	63
37	10.0 c	50
109	9.0 c	45
111	8.0 d	40
14	7.6 d	38
78	7.6 d	38
137	6.6 d	33
134	6.3 d	31.5
70	6.0 e	30
62.2	5.6 e	28
59	5.0 e	25
35.3	4.6 e	23
30.1	4.0 f	20
119	3.3 f	16.5
Testemunha	2.3 f	11.5

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não se diferenciam pelo teste teste Tukey de comparação de médias.