

11322 - Interação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* e *Cotesia flavipes* no controle de *Diatraea saccharalis*.

Interaction of Bt-based biopesticides and Cotesia flavipes to control Diatraea saccharalis.

VOLPE, Haroldo Xavier Linhares; DE BORTOLI, Sergio Antonio; MAGALHÃES, Gustavo Oliveira; GOBI, Alysson Luis; VARELLA, Andrea Correa; POLANCZYK, Ricardo Antonio.

¹Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV/Unesp. Jaboticabal-SP, Brasil. hxlvolpe@ig.com.br; bortoli@fcav.unesp.br; godemagalhaes@uol.com.br; andrea_varella@yahoo.com.br. rapolanc@yahoo.com.br; ²Departamento de Tecnologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias FCAV/Unesp. Jaboticabal-SP, Brasil.

Resumo: O objetivo do trabalho foi estudar a interação entre *Cotesia flavipes* e *Bacillus thuringiensis* no manejo de *Diatraea saccharalis*. Os Bt bioinseticidas Agree®, Baccontrol®, Dipel® e Btt090® foram pulverizados sobre dieta artificial para *D. saccharalis* e em seguida lagartas recém eclodidas foram colocadas sobre a dieta. Após 7 dias, os produtos Agree e Dipel causaram maior mortalidade e Btt090® e BacControl® não causaram efeito negativo em *D. saccharalis*. Após 14 dias, Dipel, Agree e Bac-Control causaram maior mortalidade larval em *D. saccharalis*. A longevidade dos parasitóides foi afetada por Btt090® e Bac-Control®. A mortalidade de larvas de *D. saccharalis* expostas aos bioinseticidas testados está relacionada com o tempo e momento de exposição aos produtos. Btt090® e Bac-Control® podem ter afetado a qualidade do hospedeiro causando efeitos indiretos na longevidade de *C. flavipes*.

Palavras -Chave: bioinseticidas, controle biológico, controle microbiano, parasitoide.

Abstract: The objective of this study was to evaluate the interaction between *Cotesia flavipes* and *Bacillus thuringiensis* in the management of *Diatraea saccharalis*. The Bt-based biopesticides Agree®, Baccontrol®, Dipel® and Btt090® were sprayed on a artificial diet developed for *D. saccharalis* and neonate larvae were placed on diet. In 7 days of exposure, the products Dipel and Agree caused higher mortality and Btt090® and BacControl® did not cause negative effect on *D. saccharalis*. After 14 days, Dipel®, Agree®, and Bac-Control® caused greater larval mortality. The longevity of parasitoids was affected by Btt090® and Bac-Control®. The mortality of *D. saccharalis* larvae exposed to the tested insecticides are related to the weather and time of exposure to products. Btt090® and Bac-Control® can have affected the quality of the host, causing indirect effects in the longevity of *C. flavipes*.

Key Words: bio-insecticides, biological control, microbial control, parasitoid.

Introdução

Os biopesticidas à base de *Bacillus thuringiensis* são utilizados há 60 anos como insumos alternativos aos químicos, para uma agricultura sustentável (ROMEIS et al., 2006). Embora atualmente representem menos de 1% do mercado mundial de inseticidas (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000), correspondem a 90% do mercado mundial de bioinseticidas (BRAVO et al., 2011).

Esses produtos têm grande potencial de, juntamente com outros métodos de controle, compor excelentes pacotes tecnológicos para o controle de pragas. Especialmente em áreas de produção orgânica ou de utilização de controle biológico aplicado.

No Brasil, 1,7 milhões de hectares de cana-de-açúcar recebem liberações inundativas do parasitóide larval *Cotesia flavipes* anualmente para o controle de *Diatraea saccharalis* (PARRA, 2010). Em vários países americanos, cepas como *B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 (CHARPENTIER et al., 1973), GM-34 (ROSAS-GARCIA, 2006) e S76 (GITAHY et al., 2007) já foram testadas e se mostraram eficientes no controle dessa praga.

As proteínas Cry podem causar efeitos indiretos nos inimigos naturais, através da relação mediada pelo hospedeiro contaminado com toxinas *Bt* (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Para a realização de testes que avaliem os efeitos indiretos de biopesticidas sobre parasitóides, primeiro é necessário avaliar o efeito desses produtos sobre o herbívoro-alvo. Assim, o presente trabalho utilizou produtos à base de *Bt* disponíveis no mercado, para avaliar a mortalidade de lagartas de *D. saccharalis* após a ingestão de dieta artificial contaminada. Posteriormente, foram avaliados os efeitos indiretos desses produtos na biologia de *C. flavipes* após a exposição a toxinas *Bt* mediada pelo hospedeiro.

Metodologia

Dieta para *D. saccharalis* preparadas segundo (HENSLEY & HAMMOND, 1968) foram vertidas em bandejas plásticas brancas até a altura de 1cm e mantidas dentro de fluxo laminar com lâmpada Ultra Violeta acesa para agilizar o processo de secagem e facilitar a penetração da calda inseticida na dieta. Os bioinseticidas Agree®, Baccontrol®, Dipel® e Btt090® foram utilizados na dosagem de 3×10^9 esporos/mL e a testemunha foi pulverizada com 10mL de água destilada usando pistola de pintura tipo aerógrafo acoplada a um compressor de ar com compressão operacional de 25lbf pol⁻² sob capela de exaustão, aplicando-se um inseticida por bandeja com dieta artificial.

Bioensaio 1 – Mortalidade larval de *Diatraea saccharalis* alimentada com diferentes produtos comerciais à base de *Bacillus thuringiensis*.

Larvas de *D. saccharalis* recém eclodidas foram transferidas para placas de Petri (6 x 2 cm) contendo dieta pulverizadas com diferentes produtos formulados à base de *Bt* e testemunha (apenas pulverização com água destilada), compondo 5 tratamentos e 50 repetições.

Após 7 e 14 dias do fornecimento da dieta às larvas, a mortalidade larval de *D. saccharalis* foi contabilizada. Os dados foram analisados utilizando o teste de significância do qui-quadrado (SAS INSTITUTE, 2002).

Bioensaio 2 – Efeito de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* na biologia de *Cotesia flavipes*.

Frente a mortalidade acima de 90% de larvas de primeiro ínstar alimentadas com os produtos testados, larvas de 10 dias de idade foram individualizadas da criação e alimentadas por cinco dias com dieta contendo os inseticidas. Porém, mesmo utilizando lagartas de 10 dias de idade para se alimentarem de *Bt*, os tratamentos com Dipel® e Agree® apresentaram mortalidade de quase 100%, não restando larvas sadias para serem submetidas ao parasitismo para estes tratamentos.

Desse modo, 30 larvas de 15 dias de idade por tratamento, alimentadas por cinco dias

com os produtos Baccontrol® e Btt090® e testemunha (apenas pulverização de água destilada sobre a dieta) foram submetidas ao parasitismo por *C. flavipes*. Posteriormente, as larvas foram individualizadas em placas de Petri (6 x 2 cm) contendo dieta de realimentação contaminada com o mesmo bioinseticida que foi utilizado na alimentação das larvas antes do parasitismo.

Avaliou-se o período ovo-pupa, período e viabilidade pupal, total de adultos emergidos, razão sexual, longevidade dos parasitóides e a mortalidade larval de *D. saccharalis* nesse período. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de LSD (Least significant difference), a 1,67% de probabilidade, quando significativas.

Resultados e discussão

Para exposição por 7 dias, os produtos Agree® e Dipel® causaram os maiores índices de mortalidade de *D. saccharalis*, 63,33% e 52,5%, respectivamente, diferindo estatisticamente de Bac-Control®, Btt090® e Testemunha (30,0; 4,17 e 5,83; respectivamente) (Figura 1). Pelo fato de Btt090® e BacControl® serem semelhantes a testemunha, acredita-se que esses produtos não causam efeito negativo em *D. saccharalis* nos sete primeiros dias (Figura 1).

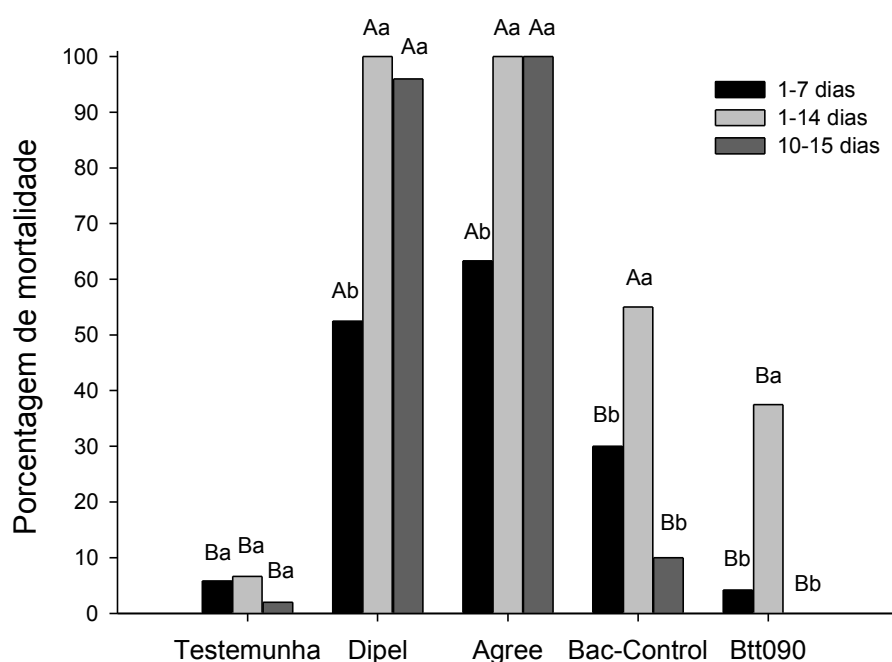


Figura 1. Mortalidade de larvas de *Diatraea saccharalis* alimentadas com dieta artificial contendo produtos comerciais a base de *Bacillus thuringiensis* (letras maiúsculas diferentes indicam significância entre os produtos; letras minúsculas diferentes indicam significância entre os períodos de avaliação).

Após 14 dias de pulverização, observou-se que Dipel®, Agree® e Bac-Control® causaram maior mortalidade larval (100; 100 e 55,0%) diferindo significativamente de Btt090® e

Testemunha (37,5 e 6,67%, respectivamente). (Figura 1). Devido a alta mortalidade causada por esses produtos e a constatação de que as larvas que não morreram cessaram seu desenvolvimento, utilizou-se larvas em estágio de desenvolvimento mais adiantado para avaliar os efeitos indiretos de *Bt* em *C. flavipes* via hospedeiro. As larvas expostas aos produtos Agree® e Dipel® durante o 10° e 15° dia de vida sofreram mortalidade de 100 e 96,0%, respectivamente, diferindo significativamente de Bac-control®, Testemunha e Btt090® que causaram baixa mortalidade (10, 2 e 0%, respectivamente) (Figura 1).

Nos períodos de exposição dentro de um mesmo tratamento, Dipel® e Agree® apresentaram respostas melhores após 14 dias de exposição e para larvas em contato com os produtos à partir do décimo dia de vida, diferindo significativamente do período de exposição de sete dias (Figura 1).

Bac-Control® e Btt090® causaram maior mortalidade aos 14 dias após exposição, sendo significativamente diferente dos períodos de exposição de 7 dias e à partir do décimo dia de vida até o décimo quinto (Figura 1).

A testemunha apresentou mortalidade larval abaixo de 10%, independentemente do tempo de exposição ao *Bt* ou estágio de desenvolvimento das larvas .

Gitahy et al. (2007), estudando suscetibilidade de *D. saccharalis* a alguns bioinseticidas a base de *Bt*, observaram após 3 dias da pulverização dos isolados em dieta oferecida para larvas recém eclodidas, mortalidade de 100% para o isolado S76 (var. *kurstaki*), 69% para HD1 (var. *kurstaki*) e mortalidade inferior a 3% para os isolados S90, S135 (var. *tolworth*), S48 e S105 (var. desconhecida). Isto condiz com os resultados apresentados nesse trabalho, onde o tratamento com Dipel® (HD1) apresentou respostas similares aos obtidos por Gitahy et al. (2007) e Btt090® para os isolados *Bt tolworth*, porém Baccontrol® apresentou menor eficiência em relação aos *Bt kurstaki* testados pelos autores.

A toxicidade de HD-1 à *D. saccharalis* foi primeiramente observado por Charpentier et al. (1973) e desde então, pesquisas colaboram para a seleção de linhagens mais eficientes para o controle da broca da cana-de-açúcar (GITAHY et al., 2007).

Devido à baixa mortalidade causada por esses produtos para larvas em adiantado estágio de desenvolvimento, o uso exclusivo de bioinseticidas não será capaz de proporcionar um eficiente controle da *D. saccharalis* em áreas produtoras de cana-de-açúcar. Assim, é recomendável a associação desses produtos com outro método de controle. Por isso, as larvas que sobreviveram à exposição de *Bt* durante o 10° e 15° dia de vida foram expostas ao parasitismo de *C. flavipes* para posterior avaliação das características biológicas do parasitóide.

Além disso, o hábito de *D. saccharalis* se alojar e se proteger no interior dos colmos da cana à partir do segundo ou terceiro ínstar inviabiliza o controle com pulverização de inseticidas após a entrada no colmo, tornando propício o uso de parasitoides (GALLO et al., 2002). Nesse sentido, os bioinseticidas devem agir antes do inseto se alojar no interior dos colmos e caso isso ocorra, é imprescindível a associação do controle microbiano com a liberação de parasitóides.

O período ovo-pupa, período pupal, razão sexual, total de adultos emergidos e viabilidade pupal para os inseticidas avaliados foram semelhantes aos da testemunha, porém a longevidade dos parasitóides foi menor para Btt090® e Bac-Control® em relação à testemunha.

Conclui-se que a mortalidade de larvas de *D. saccharalis* expostas aos bioinseticidas testados está relacionada com o tempo e momento de exposição aos produtos e que Btt090® e Bac-Control® poderiam afetar o hospedeiro por proporcionar baixa qualidade nutricional do hospedeiro. As proteínas Cry podem causar efeitos indiretos nos inimigos naturais, através da relação mediada pelo hospedeiro contaminado com toxinas *Bt* (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000), afetando a qualidade do hospedeiro e o que indiretamente causa efeitos negativos na biologia do hospedeiro, como menor longevidade.

Bibliografia Citada

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; SARJEET, S. G.; MARIO, S. *Bacillus thuringiensis*: A history of successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**. v.41, p.423-431, 2011.

CHARPENTIER, L.J.; JACKSON, R.D.; MCCORMICK, W.J. Sugarcane borer: Control by delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* HD-1, in field tests. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, p. 249-251, 1973.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GLARE, T.R., & O'CALLAGHAN, M. 2000. **Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety**. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, U.K.

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**, v. 38, p 531-537, 2007.

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.

PARRA, J. R. P., O controle biológico no Brasil: para onde vamos? **G.Bio**, edição especial, p. 33-36, 2010.

Romeis J.; Meissle, M.; Bigler, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, v. 24, p. 63–71, 2006.

ROSAS-GARCÍA, N. M. Laboratory and field tests of spray-dried and granular formulations of a *Bacillus thuringiensis* strain with insecticidal activity against the sugar cane borer. **Pest Management Science**, v. 62, p.855–861, 2006.

SAS Institute. SAS/STAT User's Guide, version 9.00 TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2002.