



## AÇÃO DE FORMULAÇÕES COMERCIAIS DE *BACILLUS* SPP SOBRE LAGARTAS DE *GRAPHOLITA MOLESTA* (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)

Régis Sívoris Silva dos Santos

Engenheiro Agrônomo – Pesquisador - Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado. Vacaria, RS. Brasil. E-mail: regis@cnpuv.embrapa.br

Recebido em: 04/05/2012 – Aprovado em: 15/06/2012 – Publicado em: 30/06/2012

### RESUMO

*Grapholita molesta* é uma praga-chave em cultivos de macieira no sul do Brasil. Para controle de suas populações inúmeras intervenções com agrotóxicos são necessárias ao longo da safra. Neste estudo, objetivou-se avaliar a eficiência de formulações comerciais à base de *Bacillus* spp. no controle de lagartas de primeiro ínstar de *G. molesta*. O estudo foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições: *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel WG®); *B. thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki* (Agree®); *B. subtilis* (Serenade®); *B. pumilus* (Sonata®) e uma testemunha (água). Cada tratamento foi alocado em uma microplaca contendo 24 células preenchidas com 0,67ml de dieta artificial e 12µL da solução tratamento (em dose comercial) mais uma lagarta por célula. Os tratamentos foram mantidos em condições controladas e avaliada a mortalidade em 24, 48, 72 e 96 horas. As formulações de *B. thuringiensis* mostraram eficiência de controle superior aos demais tratamentos e não diferem entre si. *Bacillus subtilis* e *B. pumilus* evidenciaram controle da praga, porém, intermediário quando comparado à *B. thuringiensis*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Grapholita molesta*, controle, *Bacillus*, macieira.

## ACTION OF COMMERCIAL FORMULATIONS OF *BACILLUS* SPP ABOUT LARVAE OF *GRAPHOLITA MOLESTA* (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)

### ABSTRACT

*Grapholita molesta* is a key pest in apple orchards in southern Brazil. To control their populations with pesticides many interventions are needed throughout the season. The objective of the present study was to evaluate the efficiency of the commercial formulations based on *Bacillus* spp. to control of the pest. The study was conducted in a completely randomized design with five treatments and five replications: *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel ® WG); *B. thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki* (Agree ®), *B. subtilis* (Serenade ®), *B. pumilus* (Sonata ®) and a control (water). Each treatment was assigned a plate containing cells 24 filled with 0.67 ml of artificial diet and 12µL of solution treatment (commercial dose) more a larvae of the pest per

cell. The treatments were maintained under controlled conditions and the mortality assessed at 24, 48, 72 and 96 hours. Formulations of the *B. thuringiensis* showed superior efficiency of pest control and do not differ. *Bacillus subtilis* and *B. pumilus* control showed, however, intermediate relative to *B. thuringiensis*.

**KEY WORDS:** *Grapholita molesta*, control, *Bacillus*, apple

## INTRODUÇÃO

A mariposa-oriental *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) é uma das principais pragas da macieira e do pessegueiro no sul do Brasil (SALLES, 2001; BOTTON et al., 2003). Os danos são provocados pela alimentação das lagartas que, ao eclodirem, perfuram os ramos novos e os frutos, construindo galerias (SALLES, 2001). Segundo KOVALESKI & RIBEIRO (2002) as perdas ocasionadas pela mariposa oriental, em macieira, vêm aumentando nas últimas safras, superando 5% em algumas situações. O controle da praga tem sido realizado pela utilização de inseticidas, principalmente os fosforados, em pulverizações totais. Essa prática tem causado danos ao meio ambiente, problemas de resíduos em frutos e a seleção de populações resistentes.

Neste cenário, as bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP) assumem papel importante, por serem habitantes naturais de solos e apresentarem potencial de controle sobre vários organismos considerados pragas em sistemas agrícolas (MARIANO et al., 2004). Dentre as BPCP que podem ser utilizadas no manejo integrado de pragas destacam-se as bactérias do gênero *Bacillus* (LOPES, 2009). Como exemplos de sucesso temos o uso de *Bacillus thuringiensis* - importante agente de controle de insetos-praga, principalmente de lepidópteros e coleópteros (POLANCZYK et al., 2003); além de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilis* - eficientes biocontroladores de diversos patógenos de plantas, especialmente de fungos (D'AGOSTINO & MORANDI, 2009), e que podem ter ação sobre populações de insetos.

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria de solo, cuja principal característica é a síntese, durante a esporulação, de uma inclusão cristalina contendo proteínas com propriedades inseticidas (POLANCZYK et al., 2003). No campo, estudos revelam que aplicações de formulações à base de *B. thuringiensis* mostram-se tão eficientes quanto os inseticidas químicos tebufenozide e clorpirifós no controle da *G. molesta* em macieira (MONTEIRO & SOUZA, 2010) e de metoxifenozida em pessegueiro, quando misturado com leite (SIQUEIRA & GRÜTZMACHER, 2005).

*Bacillus subtilis* e *B. pumilus*, também habitantes naturais de solo, se destacam por formarem endósporo e apresentarem uma multiplicidade de mecanismos antagônicos a fitopatógenos: inibição da germinação de esporos; paralisação no crescimento do tubo germinativo e interferência na fixação do patógeno na planta (FILHO et al., 2010). Tais microrganismos são usados no biocontrole de enfermidades em várias espécies de plantas cultivadas, mostrando serem uma alternativa eficiente para o manejo integrado de doenças no mundo (D'AGOSTINO & MORANDI, 2009). Para insetos-praga não existem estudos sobre a ação de *B. subtilis* e *B. pumilus*, porém para doenças, SANHUEZA et al. (2008) relatam que aplicações a campo de *B. subtilis* e *B. pumilus* foram eficientes no controle da podridão "olho-de-boi", *Cryptosporiopsis perennans*, com índices de

controle variando de 89 a 94%. Já, em pós colheita, a utilização de *B. subtilis*, reduziu o número de lesões em frutos provocados por *Penicillium expansum* (SANHUEZA et al., 1992).

No Brasil, os produtos comerciais Dipel WG® (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*); Agree® (*B. thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki*); Serenade® (*B. subtilis*) e Sonata® (*B. pumilus*) possuem registro para a cultura da macieira (AGROFIT, 2012) e se constituem em importantes ferramentas para o manejo biológico de pragas e doenças da macieira.

Embora *B. subtilis* e *B. pumilus* não sejam utilizados para controle de insetos em pomares de macieira, a utilização destas bactérias no controle da podridão “olho-de-boi” (SANHUEZA et al., 2008) e da sarna da macieira (*Venturia inaequalis*) (KUCHERYAVA et al., 1999) no campo, pode refletir em decréscimos nas populações da praga, uma vez que a ação inseticida destas bactérias já foi relatada para algumas espécies de insetos (GERMIDA et al., 2000). Este aspecto é importante ser avaliado, uma vez que pode agregar vantagens na utilização destas bactérias na agricultura, ou seja, o controle de pragas e doenças com um mesmo ingrediente ativo. Neste estudo, foi avaliada a ação quatro formulações comerciais à base de *Bacillus* spp. sobre lagartas de primeiro ínstar de *G. molesta* em condições controladas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no laboratório de Entomologia da Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado da Embrapa Uva e Vinho, em Vacaria, RS. O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos: *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel WG®); *B. thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki* (Agree®); *B. subtilis* (Serenade®); *B. pumilus* (Sonata®) e uma testemunha (água) e cinco repetições. Cada tratamento foi composto de uma microplaca contendo 24 células preenchidas com 0,67ml de uma dieta artificial proposta para *G. molesta* por ARIOLI et al. (2007). A incorporação dos tratamentos foi realizada pipetando-se 12µL da formulação (na dose comercial) por célula, e inoculando-se uma lagarta de primeiro ínstar em cada célula. Os tratamentos foram mantidos em condições controladas (25°C, fotofase 16h e UR% 65) em estufa incubadora B.O.D, e avaliada a mortalidade em 24, 48, 72 e 96 horas após a inoculação das lagartas. A eficiência de controle foi mensurada através da fórmula de ABBOTT (1925): Eficiência de controle =  $(T - t) \times 100/T$ , onde "T" é a mortalidade na testemunha, e "t" a mortalidade no tratamento, e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os tratamentos ocasionaram mortalidade significativa a lagartas de primeiro ínstar de *G. molesta* (Tabela 1). Os tratamentos com formulações à base de *B. thuringiensis* mostraram eficiência de controle superior aos demais tratamentos, com índices finais de 92,70 e 90,75% para *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e *B. thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki*, respectivamente, sem haver diferenças significativas entre as formulações (Tabela 1). Com relação à *B. subtilis* e *B. pumilus* foi encontrada eficiência de controle intermediária, com valores de 40,92 e 28,13%, respectivamente, não diferindo entre si (Tabela 1). No campo, embora as formulações à base de *Bacillus* sofram a ação negativa da radiação ultravioleta, *B.*

*thuringiensis* (formulação Dipel PM) mostrou eficiência de controle de 84,8% no estudo de MONTEIRO & SOUZA (2010), resultado próximo ao registrado no presente estudo.

Embora intermediários, os índices de mortalidade de *G. molesta* por *B. subtilis* e *B. pumilus* mostram redução da praga, fato que indica potencial de controle da espécie quando exposta às aplicações de *B. subtilis* e *B. pumilus* em pomares de macieira para o controle de doenças de verão.

Tabela 1. Percentual de mortalidade ( $\pm$  erro padrão) de lagartas de primeiro ínstar de *Grapholita molesta* submetidas a tratamentos com *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*; *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus pumilus* e testemunha, sob condições controladas (25°C, fot ofase 16h e UR% 65).

Tratamento	Período de avaliação				Eficiência de controle (%)
	24h	48h	72h	96h	
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	42,5 $\pm$ 6,17a	87,2 $\pm$ 10,60a	91,8 $\pm$ 8,20a	93,6 $\pm$ 6,38a	92,70
<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> + <i>kurstaki</i>	40,6 $\pm$ 11,31a	81,3 $\pm$ 9,36a	90,2 $\pm$ 8,48a	91,9 $\pm$ 6,76a	90,75
<i>Bacillus subtilis</i>	23,7 $\pm$ 5,96ab	37,9 $\pm$ 6,62ab	43,1 $\pm$ 6,60b	48,4 $\pm$ 6,34b	40,92
<i>Bacillus pumilus</i>	25,9 $\pm$ 7,37ab	34,5 $\pm$ 6,98ab	35,4 $\pm$ 6,49bc	37,2 $\pm$ 5,92b	28,13
Testemunha	6,8 $\pm$ 0,95b	8,8 $\pm$ 1,98b	10,7 $\pm$ 2,63c	12,6 $\pm$ 1,51c	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*Bacillus subtilis*, na hemolinfa de insetos, apresenta efeito ativador de enzimas responsáveis pelo sistema imunológico de diferentes espécies (BREHELIN et al., 1989; DUNPHY & WEBSTER, 1991; SILVA, 2002), tornando-o pouco efetivo no controle. Todavia, novas cepas tem demonstrado atividade inseticida para algumas espécies como, por exemplo, larvas de *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), sendo inclusive alvo de patenteamento (GERMIDA et al., 2000).

Com relação à ação no tempo, constatou-se, em todos os tratamentos, incremento na mortalidade com o passar das horas, porém, somente no intervalo (entre 24 e 48h) e com as formulações de *B. thuringiensis* foram detectadas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) na mortalidade (Figura 1). Os índices de mortalidade das formulações de *B. thuringiensis* atingiram patamares na ordem de 90% em até 72h da exposição aos tratamentos (Figura 1). Como *B. thuringiensis* necessita ser ingerido pelas lagartas para desencadear o processo de ação inseticida é comum que seja observado certo retardo na mortalidade de indivíduos em teste. SANTOS et al. (2011) constataram que somente a partir de 48h da exposição a formulações comerciais de *B. thuringiensis* foram observadas diferenças significativas na mortalidade de lagartas do geometrídeo *Physocleora dimidiaria*.

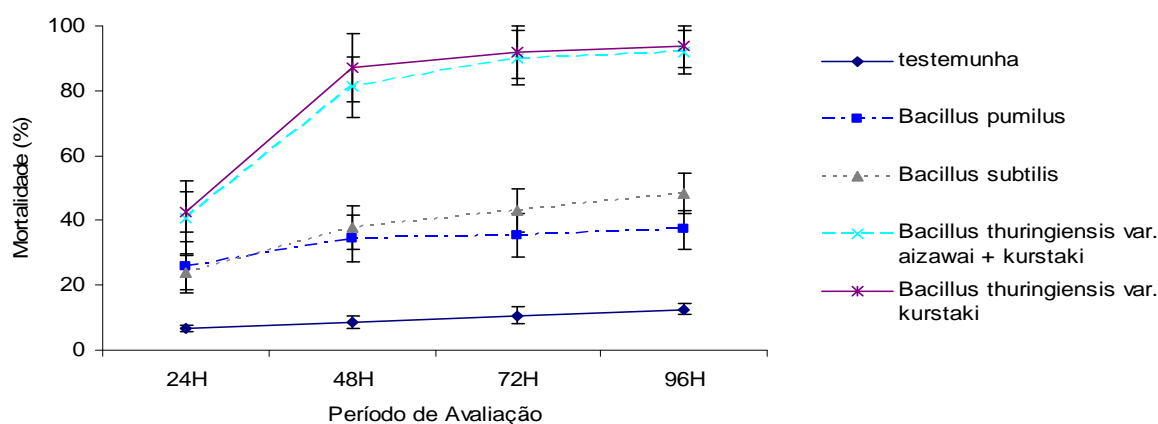


Figura 1. Mortalidade cumulativa de lagartas de primeiro ínstar de *Grapholita molesta* submetidas a tratamentos com *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*; *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* + *kurstaki*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus pumilus* e testemunha, sob condições controladas (25°C, fotofase 16h e UR% 65).

Os resultados mostraram o efetivo controle de lagartas de primeiro ínstar de *G. molesta* quando expostas as formulações de *B. thuringiensis* em estudo. Além disso, evidenciou-se potencial de controle do inseto com as formulações de *B. subtilis* e *B. pumilus*.

## CONCLUSÕES

Os produtos comerciais à base de *B. thuringiensis* (Dipel WG<sup>®</sup> e Agree<sup>®</sup>) foram eficientes, e não diferem entre si, no controle de lagartas de primeiro ínstar de *G. molesta*.

As formulações testadas de *B. subtilis* (Serenade<sup>®</sup>) e de *B. pumilus* (Sonata<sup>®</sup>) ocasionam mortalidade de 40,92 e 28,13% em lagartas de primeiro ínstar de *G. molesta*, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 18, p. 265-267, 1925.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 fev. 2012.

ARIOLI, C.J.; MOLINARI, F.; BOTTON, M.; GARCIA, M.S. **Técnica de criação de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em laboratório utilizando dieta artificial para a produção de insetos visando estudos de comportamento e controle**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007. 12p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 13).

BOTTON, M.; ARIOLI, C.J.; BAVARESCO, A.; SCOZ, P.L. Principais pragas do pessegueiro. In: GARRIDO, L.C.; BOTTON, M. (Org.). **Sistema de produção de pêssego de mesa na Região da Serra Gaúcha**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.1-16.

BREHELIN, M.; DRIF, L.; BOEMARE, H. Insect haemolymph: cooperation between humoral and cellular factors in *Locusta migratoria*. **insect biochemistry**, London, v. 19, p. 301-307, 1989.

D'AGOSTINO, F.; MORANDI, M.A.B. Análise da viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para controle de fitopatógenos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 299-316.

DUNPHY, G.B.; WEBSTER, J.M. Antihemocyte surface and the components of *Xenorhabdus nematophilus* var. *dutki* and their modification by serum of nonimmune larvae of *Galleria mellonella*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 58, p.40-51, 1991.

FILHO, R.L.; FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. Controle Biológico mediado por *Bacillus Subtilis*. **Revista Trópica**, Chapadinha, v. 4, n. 2, p.12-20, 2010.

GERMIDA, J. J.; HEINS, S. H.; MANKER, D. C. **Bacillus subtilis strain for controlling insect and nematode pests**. United States Patent, Number 6015553, jan. 18, 2000.

KOVALESKI, A.; RIBEIRO, L. G. **Manejo de pragas na produção integrada da maçã**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002. 8p. (Circular Técnica, 34).

KUCHERYAVA, N.; FISS, R.; AULING, G.; KROPPESTEDT, R. M. Isolation and characterization of epiphytic bacteria from the phyllosphere of apple, antagonistic in vitro to *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab. **Systematic and Applied Microbiology**, Houston, v. 22, p. 472-478, 1999.

LOPES, R. B. A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 15-28.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma**, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004.

MONTEIRO, L. B.; SOUZA, A. Controle de tortricídeos em macieira com duas formulações de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* em Fraiburgo, SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 423-428, 2010.

POLANCZYK, R. A.; MARTINELLI, S.; OMOTO, C.; ALVES, S.B. *Bacillus thuringiensis* no manejo integrado de pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 31, n.6, p.18-27, 2003.

SALLES, L. A. B. A mariposa-oriental, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Ed.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p.42-45.

SANHUEZA, R. M. V; KRETZSCHMAR, A. A.; BORSOI, M. Avaliação de organismos antagônicos a *Penicillium expansum* em maçãs cv. Fuji em pós colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 423-429, 1992.

SANHUEZA, R. M. V; PIT, B.; SPOLTI, P. Controle de podridões de maçãs e morangos com *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* no Rio Grande do Sul. In. CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., 2008, Vitória. **Anais...Vitória: SBF**, 2008. p. 5.

SANTOS, R. S. S; RIBEIRO, L. G; SANTOS, J. P; KOVALESKI, A. Caracterização e controle de pragas. In: NACHTIGALL, G.R. **Inovações Tecnológicas para o setor da Maçã – INOVAMAÇÃ**: Relatório técnico. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2011. p.137-166.

SILVA, C. C. A. Activation of prophenoloxidase and removal of *Bacillus subtilis* from the hemolymph of *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n.3, p. 487-491, 2002.

SIQUEIRA, P. R. E.; GRUTZMACHER, A. D. Avaliação de inseticidas para controle da *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em pomares de pessegueiro sob produção integrada na região da Campanha do RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n. 2, p.185-191, 2005.