

Bacillus thuringiensis
var. *kurstaki* (Bacillaceae): potencial no controle, no desenvolvimento e reprodução de *Oxydia vesulia* (Geometridae), em laboratório ¹

Bacillus thuringiensis var. *kurstaki*
(Bacillaceae): potential for the control, influence on development and reproduction of *Oxydia vesulia* (Geometridae), in laboratory ¹

L. GONÇALVES ²
C. B. ESPINDOLA ³
F. S. ALMEIDA ⁴

A procura de alternativas aos inseticidas tóxicos e poluentes, comumente utilizados, levou alguns pesquisadores a buscar novas formas de controle de populações de insetos praga. O uso de microorganismos é uma das principais estratégias para manter estas populações abaixo do nível de dano econômico no campo (ALVES, 1986; GONÇALVES, 1996). Embora sejam conhecidas centenas de bactérias associadas a insetos, são poucas as espécies com alta capacidade de invadir a parede intestinal ou de se multiplicarem na luz do intestino, características que permitem o seu uso no controle de pragas. Vários estudos têm demonstrado que o controle biológico através da utilização de bactérias é uma excelente alternativa ao uso dos inseticidas tradicionalmente aplicados em florestas, por ser mais seguro para o homem e menos prejudicial ao meio ambiente

¹ Área de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ); ² Professor Associado I da Área de Biologia/ Departamento de Biologia Animal e dos Cursos de Mestrado CPGCAF e PPGEA. 23850-230, Seropédica-RJ, Brasil. lencygon@globo.com; ³ Professor Doutor em Ciências Biológicas, Zoologia. cbespindola@hotmail.com; ⁴ Mestre em Ciências Ambientais e Florestais. fbio_almeida@yahoo.com.br.

(MILLER, 1990; LUCIANO *et al.*, 1992; SUNDARAM *et al.*, 1994; WANG & CHEUNG, 1994; JOHNSON *et al.*, 1995; KAYA *et al.*, 1995; PAYNE & VAN-FRANKENHUYZEN, 1995; TSAI *et al.*, 1995; GONÇALVES, 1997; GIUSTOLIN *et al.*, 2001). O primeiro passo no reconhecimento de microorganismos como alternativa a estes inseticidas químicos é a determinação de sua virulência e da susceptibilidade do inseto em condições de laboratório (PINGEL & LEWIS, 1999).

Entre as bactérias entomopatogênicas, as espécies de maior importância pertencem às famílias Enterobacteriaceae e Bacillaceae, além de alguns gêneros da ordem Pseudomonadales. Na família Bacillaceae, os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* são de grande importância, pois se caracterizam por apresentarem alta virulência, alta capacidade invasora e produção de toxinas, causando facilmente toxemias em insetos. MÜLLER-COHN *et al.* (1996) afirmam que o aumento dos custos e dos riscos dos inseticidas químicos, os avanços biotecnológicos da produção de bioinseticidas à base do bacilo e a possibilidade da criação de plantas transgênicas produtoras de toxina desta bactéria, têm tornado o uso do bacilo importante para o controle de pragas.

Potencialmente, muitas variedades de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) podem ser utilizadas como estratégias alternativas para o controle de insetos. Estudos demonstram que o *B. thuringiensis* var. *kurstaki* pode ser considerado um bioinseticida eficaz para lepidópteros (HABIB & ANDRADE, 1986; ATTANTHON *et al.*, 1995; BEHLE *et al.*, 1997). SIMS (1995) afirma que a proteína CryIA (c) do *B. thuringiensis*, presente em algodão transgênico, tem atividade biológica específica para lepidópteros, não afetando outros insetos. Algumas espécies de mariposas são importantes pragas de *Eucalyptus* spp. (Myrtaceae), pois as lagartas comem as folhas, podendo deixar as árvores totalmente desfolhadas e paralisar o crescimento das plantas se ocorrer desfolhas consecutivas (GALLO *et al.*, 1988). Espécies de lepidópteros nativos do Brasil têm passado a também se alimentar de plantas de eucalipto (HOLTZ *et al.*, 2003). A mariposa *Oxidia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae) (Fig. 1a, b) consta entre as espécies de lepidópteros que freqüentemente são observadas em reflorestamentos com eucalipto no Brasil, podendo causar dano a esta cultura (ALVES *et al.*, 1994; CAMPOS & CURE, 1993; SANTOS *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Este trabalho tem como objetivo estudar em laboratório os efeitos do *B. thuringiensis* var. *kurstaki* sobre *O. vesulia*, uma importante praga de *Eucalyptus* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do estudo, foram coletados indivíduos adultos de *O. vesulia* em plantios de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden (Myrtaceae), localizado na cidade de Jacareí - SP (Latitude 23° 17' 49" e Longitude 45° 58' 09"). O experimento foi realizado segundo metodologia de GONÇALVES (1997) e ESPINDOLA & GONÇALVES (2000). No Laboratório de Ecologia de Insetos – LEI/Área de Biologia/IB/UFRRJ os exemplares coletados foram mantidos em câmaras climáticas reguladas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, 70-80% de UR e 14 h de fotofase.

Lagartas da geração F₂ (Fig. 1c) de laboratório, foram criadas individualizadas em potes de polietileno transparente, medindo 6,5 cm de altura e 10 cm de diâmetro e contendo tampas com furos, para aeração, protegidos com tecido de filó. Para a população testemunha foram mantidas 65 lagartas nestas condições. Os testes com bacilo foram realizados por estágio, sendo utilizadas 50 lagartas com dois dias de vida no 1º, 2º, 3º, 4º e 5º estágios, 49 no 6º estágio e 24 no 7º estágio.

Os insetos eram observados diariamente, ocasião em que se procedia a higienização dos potes e a oferta de folhas de *E. grandis* como alimento. As folhas eram previamente lavadas em água corrente e enxaguadas com água destilada, e enxugadas com auxílio de uma toalha de algodão esterilizada, a 80° C, em estufa de esterilização e secagem. Nos tratamentos com bacilo, as lagartas foram alimentadas com folhas de *E. grandis* que receberam o mesmo tratamento de higienização acima descrito, sendo depois contaminadas com solução de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, concentração de 5 mg de bacilo/g de lagarta/1000 ml de H₂O, pulverizadas até o ponto de gotejamento e deixadas por tempo médio de 10 minutos em meio ambiente para secagem, sendo posteriormente oferecidas aos insetos.

Para o estabelecimento da concentração de bacilo, a ser utilizada, lagartas foram pesadas com o auxílio de uma balança analítica METTELER H20T (Máx. 160g; d = 0,01mg). Para a aplicação do bioinseticida foi utilizado um pulverizador manual de uso doméstico. Visando garantir a melhor contaminação das lagartas, as folhas pulverizadas com bacilo foram deixadas por 48 horas nos potes de criação. Esgotado este prazo, todos os insetos contaminados voltaram a receber, diariamente, até a sua morte ou a conclusão do seu período larval, folhas de *E. grandis* não contaminadas.

Os adultos emergidos foram acondicionados em gaiolas de papelão, medindo 20 cm de altura, 20 cm de largura e 25 cm de comprimento, com duas aberturas opostas (janelas) de 15 cm de altura por 22 cm de

comprimento, protegidas por plástico transparente fixado com cola plástica. Foi oferecida como alimento uma solução aquosa de mel a 10%, a qual era trocada a cada dois dias, colocada em pote de polietileno transparente, medindo 4 cm de altura, 3 cm de diâmetro e com a tampa possuindo uma abertura de 0,5 cm de diâmetro. Nesta abertura foi introduzido um pavio de algodão através do qual os insetos se alimentaram.

Determinou-se: taxa de mortalidade, número de estágios larvais, número médio de dias de vida em cada estágio, período de pré-pupa e de pupa, período larval, ciclo de vida, longevidade média, fecundidade média, fertilidade média, taxa de fertilidade e número médio de ovos inviáveis e de ovos inférteis. Considerou-se nesta pesquisa como número de dias de vida, os dias vividos por uma lagarta em determinado estágio, até a sua morte naquele estágio. Porém quando uma lagarta atingiu a fase de pré-pupa, o que significa que ela passou pelos diferentes estágios larvais, todo esse período foi determinado como período larval. A mudança de estágio foi considerada sempre que houve liberação da cápsula cefálica. Ovos foram considerados inviáveis quando se observou ter ocorrido desenvolvimento embrionário, indicado pela mudança de coloração, mas não houve eclosão e foram considerados inférteis, ou seja, não fecundados, aqueles que mantiveram a mesma coloração de quando foram ovipositados.

Também foram registrados aspectos do comportamento de *O. vesulia*.

Na análise estatística, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney a 5% de probabilidade. Também calculou-se a capacidade inata de crescimento populacional (r_m), crescimento máximo de uma população, mantida em condições ótimas e a razão finita de crescimento (λ), número de indivíduos que se juntam à população por unidade de tempo (ver LAROCA, 1995).

$$r_m = \frac{\log_e(R_g)}{G}$$

r_m : capacidade inata de crescimento populacional; \log_e : logaritmo natural; R_g : taxa líquida de reprodução; G: duração média de uma geração.

$$\lambda = e^{r_m}$$

λ : razão finita de crescimento; e: base do logaritmo natural (constante = 2,7182818); r_m : capacidade inata de crescimento.

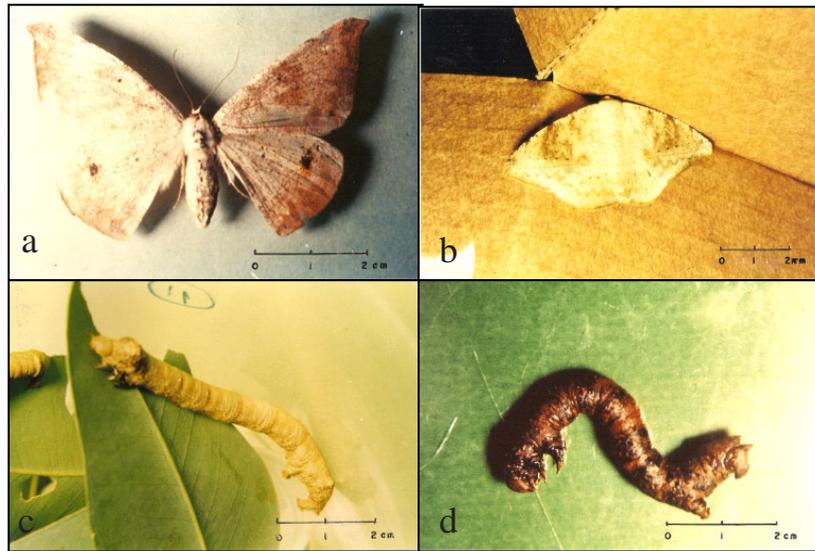


Fig. 1. *Oxydia vesulia*: a, fêmea; b, fêmea em posição de repouso; c, lagarta sadia do 5º estágio; d, lagarta do 5º estágio morta pela ação do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Notar manchas escuras causadas pelo bacilo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 50 lagartas de 1º estágio contaminadas pelo bacilo morreram antes de realizarem a primeira ecdise. Já a população testemunha apresentou apenas uma morte nesse estágio, não ocorrendo mais mortalidade até que os insetos alcançassem a fase adulta. A análise estatística dos dados revelou que o número de dias de vida das lagartas contaminadas no 1º estágio foi significativamente menor do que da testemunha (Tabela 1).

Das 50 lagartas contaminadas no 2º estágio, 41 morreram neste estágio e nove no seguinte. O número médio de dias de vida das lagartas do 2º estágio foi significativamente maior do que no tratamento testemunha. As nove lagartas que sobreviveram e que chegaram a mudar para o 3º estágio, também apresentaram número de dias de vida significativamente maior do que as suas equivalentes testemunhas (Tabela 1).

Das lagartas contaminadas no 3º estágio, 26 morreram antes de atingirem o estágio seguinte, sendo o número médio de dias de vida dos

insetos contaminados significativamente maior do que da população testemunha. Das 24 lagartas que atingiram o 4º estágio, 19 morreram antes de completá-lo. Das cinco lagartas restantes, duas morreram no 6º estágio e três atingiram o 7º estágio, completando a fase larval (Tabela 1). Destas, uma morreu como pré-pupa e as outras duas atingiram a fase adulta (um macho e uma fêmea). O número médio de dias de vida do 5º e do 7º estágio, assim como do período larval, de pré-pupa, de pupa e o ciclo de vida das lagartas contaminadas foram significativamente maiores em relação à testemunha (Tabelas 1- 2). A taxa total de mortalidade, até a fase de pupa, foi de 96% (Fig. 2). A fecundidade da única fêmea oriunda das lagartas contaminadas no 3º estágio foi de 584 ovos, a fertilidade de 365 ovos, a taxa de fertilidade de 62,5%, o número de ovos inviáveis de 177 ovos e de ovos inférteis de 42 ovos. A capacidade inata de crescimento populacional (r_m) foi de 0,021 e a razão finita de crescimento (l) de 1,021. Já as 28 fêmeas emergidas na população testemunha apresentaram fecundidade média de 1971 ovos, fertilidade média de 961 ovos, taxa de fertilidade de 49%, número médio de ovos inviáveis de 919 ovos e de ovos inférteis de 91 ovos. Na população testemunha a capacidade inata de crescimento populacional (r_m) foi de 0,234 e a razão finita de crescimento (\bar{l}) de 1,264. Como somente uma fêmea emergiu dentre as 50 lagartas contaminadas pelo bacilo no 3º estágio, não foram realizados testes estatísticos para contrastar tais dados com os de 28 fêmeas do tratamento testemunha.

Dentre as 50 lagartas contaminadas no 4º estágio, 43 morreram antes de passarem para o 5º estágio. O número médio de dias de vida nas lagartas contaminadas foi significativamente maior do que na população testemunha. Das sete lagartas sobreviventes três morreram antes de completarem o 5º estágio, uma antes do 6º e outra antes do 7º estágio. O número médio de dias de vida do 5º e do 6º estágio e as durações do período larval, de pupa e do o ciclo de vida dos insetos contaminados foram significativamente maiores quando se comparou com a população testemunha. A taxa total de mortalidade, até a fase de pupa, foi de 96% e só emergiram fêmeas.

Dos 50 insetos contaminados no 5º estágio, 41 morreram ainda neste estágio. O número médio de dias de vida das lagartas contaminadas foi significativamente maior do que da testemunha. Das nove lagartas restantes, quatro morreram no 6º estágio e uma no 7º estágio e as durações dos seus números médios de dias de vida não diferiram dos respectivos estágios do tratamento testemunha. Mas as durações do período larval e de pré-pupa e o ciclo de vida foram estatisticamente maiores para os

Tabela 1. Número médio de dias de vida em cada estágio de *O. vesulia* (Cramer) (Lepidoptera:Geometridae) contaminado com *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e da população testemunha, a 25 ± 1 °C de temperatura, $70 \pm 3\%$ de UR e 14 h de fotofase.

Tratamentos	ESTÁGIOS						
	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	7 ^o
Contaminado 1 ^o estágio n =50	3,4± 0,57b						
Contaminado 2 ^o estágio n =50		5,7± 2,6b	5,7± 1,25b				
Contaminado 3 ^o estágio n = 50			4,8± 2,7b	5,5 ± 4,7a	8,0± 3,5b	7,2± 3,9a	15,0± 5,3b
Contaminado 4 ^o estágio n =50				5,8± 3,0b	9,6± 5,12b	11,3± 2,08b	8,5± 6,36a
Contaminado 5 ^o estágio n =50					7,5± 4,63b	7,6± 4,2a	12,0± 4,3a
Contaminado 6 ^o estágio n =49						8,8± 4,91a	10,0± 8,54a
Contaminado 7 ^o estágio n =24							11,0± 6,4a
Testemunha n =65	4,2± 0,75a	4,0± 1,01a	3,7± 1,39a	4,3± 1,01a	5,2± 2,23a	7,5± 1,92a	9,2± 1,92a

Nota: média ± erro padrão. Letras diferentes, diferença significativa entre tratamento com bacilo e tratamento testemunha, pelo teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade.

insetos contaminados (Tabelas 1-2). A mortalidade total, até a fase de pupa, foi de 92% (Fig. 2). Somente quatro exemplares da população contaminada atingiram fase adulta, dois machos e duas fêmeas, e não houve oviposição.

No 6º estágio, das 49 lagartas contaminadas, 29 morreram antes de mudarem de estágio, não havendo diferença significativa entre o número de dias de vida na comparação com a testemunha. Das 20 lagartas que atingiram o 7º estágio, 14 morreram neste estágio e a duração do seu número médio de dias de vida também não diferiu significativamente da população testemunha. Das seis lagartas restantes, uma morreu como pré-pupa e cinco se transformaram em pupa e posteriormente em adulto (três machos e duas fêmeas), também não havendo oviposição. Os indivíduos contaminados, que seguiram se desenvolvendo, apresentaram período larval e de pupa e o ciclo de vida significativamente maiores do que a população testemunha. A mortalidade total, até a fase de pupa, dos insetos contaminados no 6º estágio foi de 90% (Fig. 2). Das 24 lagartas contaminadas no 7º estágio, 11 morreram antes de ingressar no período de pré-pupa e não houve diferença significativa no número médio de dias de vida destas lagartas e da população testemunha (Tabela 1). Somente uma lagarta, dentre as 13 sobreviventes, morreu antes de completar o período de pré-pupa. No período de pupa, morreram dois insetos. Do total de 24 lagartas contaminadas inicialmente, dez atingiram a fase adulta (cinco machos e cinco fêmeas) e não ocorreu oviposição. Houve diferença significativa entre o período larval, de pupa e o ciclo de vida das lagartas contaminadas, sendo maior neste experimento, quando comparados com a população testemunha (Tabela 2). A mortalidade total, até a fase de pupa, foi de 58% (Fig. 2).

Lagartas de *O. vesulia* contaminadas pelo *B. thuringiensis* var. *kurstaki* apresentaram paralisia alimentar, regurgitação, diarreia, manchas escuras pelo corpo, paralisia total e morte (Fig. 1d). Alguns adultos oriundos de lagartas contaminadas apresentaram má formação das asas. NAVON *et al.* (1992), estudando *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae), também constataram a ocorrência de paralisia alimentar em lagartas contaminadas com *B. thuringiensis* var. *kurstaki*. Já PINGEL & LEWIS (1997) afirmam que *Heliverpa zea* (Bodie) (Lepidoptera: Noctuidae), quando contaminada com o bacilo, apresenta paralisia intestinal no período de cinco a dez minutos, paralisia total de uma a sete horas e morte de um a três dias após a contaminação.

A duração média do período larval de *O. vesulia* foi influenciada pelo bacilo. A taxa de mortalidade também foi influenciada, sendo maior nos insetos contaminados (Figura 1). BARKER (1998) afirma que lagartas de *Cochylis hospes* Walsingham (Lepidoptera: Cochylidae), contaminadas

Tabela 2. Desenvolvimento de *O. vesulia* (Cramer) (Lepidoptera: Geometridae) contaminada com *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e da população testemunha., a 25 ± 1 °C de temperatura, $70 \pm 3\%$ de UR e 14 h de fotofase.

Tratamentos	FASES DO DESENVOLVIMENTO				
	Período Larval	Pré-pupa	Pupa	Fase Adulta (longevidade)	Ciclo de Vida
Contaminado 1 ^o estágio	-	-	-	-	-
Contaminado 2 ^o estágio	-	-	-	-	-
Contaminado 3 ^o estágio	58,0 ± 7,55b n = 3	2,7 ± 0,57b n = 3	16,5 ± 2,12b n = 2	18,5 ± 4,94a n = 2	99,0 ± 0,00b n = 2
Contaminado 4 ^o estágio	50,0 ± 2,82b n = 2	2,0 ± 0,00a n = 2	18,0 ± 4,20b n = 2	15,5 ± 0,70a n = 2	135,5 ± 0,70b n = 2
Contaminado 5 ^o estágio	49,5 ± 1,87b n = 4	2,5 ± 0,55b n = 4	13,4 ± 5,32a n = 4	18,5 ± 4,04a n = 4	134,8 ± 5,45b n = 4
Contaminado 6 ^o estágio	50,8 ± 10,69b n = 6	2,2 ± 0,77a n = 6	16,2 ± 0,84b n = 5	15,4 ± 7,77a n = 5	144,0 ± 16,74b n = 5
Contaminado 7 ^o estágio	46,8 ± 5,6b n = 13	1,9 ± 0,38a n = 13	16,3 ± 1,14b n = 12	14,5 ± 7,17a n = 10	79,6 ± 8,66b n = 10
Testemunha	29,0 ± 3,05a n = 64	2,05 ± 0,42a n = 64	13,7 ± 1,02a n = 64	14,9 ± 5,76a n = 64	59,6 ± 6,56a n = 64

Nota: média ± erro padrão. Letras diferentes, diferença significativa entre tratamento com bacilo e tratamento testemunha, pelo teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade

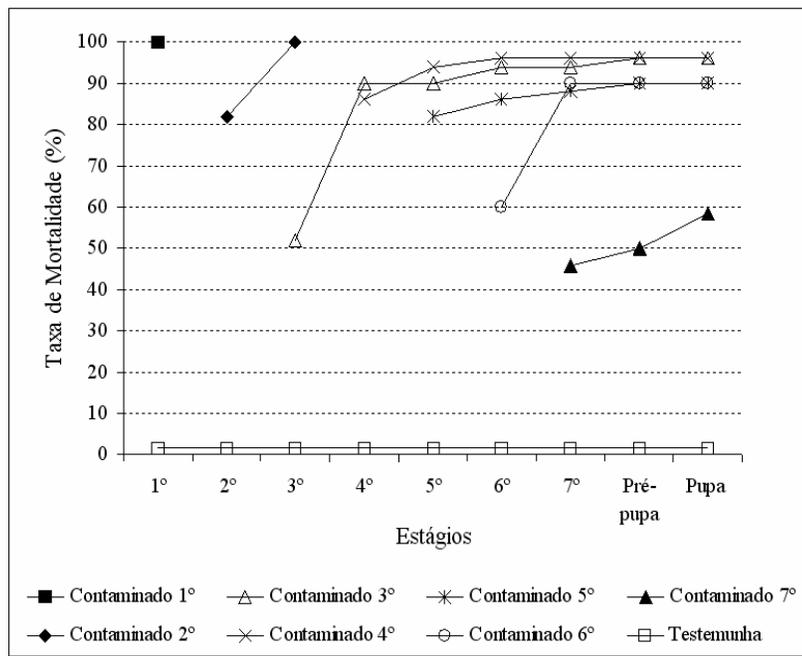


Fig. 2. Mortalidade acumulada nos estágios de *Oxydia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae) contaminados com *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) (Bacillaceae) e da população testemunha, a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, $70 \pm 3\%$ de UR e 14 h de fotofase

por *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, apresentaram maior mortalidade e duração do período de desenvolvimento. Em *Spodoptera littoralis* Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae), também foi maior o período de desenvolvimento das lagartas contaminadas pelo bacilo, sendo a diferença de cinco a seis dias (MÜLLER-COHN *et al.*, 1996). SANTOS *et al.* (1979) estudando lagartas do 3º estágio de *Oxydia apidania* (Cramer) (Lepidoptera: Geometridae), criadas a 24°C de temperatura, 12 h de fotoperíodo e alimentadas com folhas de *Eucalyptus* spp. contaminadas com *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, nas concentrações 1g de bacilo / 600 ml H_2O , 1g de bacilo/1800ml H_2O e 1g de bacilo/3000ml H_2O , encontraram diferença significativa somente para o primeiro tratamento. A comparação com dados destes autores demonstrou que *O. vesulia* apesar de receber menor concentração de bacilo do que *O. apidania*, foi altamente afetada pelo *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, sendo os dois primeiros estágios de vida os mais susceptíveis, com mortalidade de 100%. Demonstrou ainda,

que o 7º estágio foi o menos afetado, sendo a mortalidade expressivamente menor (58,33%) (Fig. 2). Já GONÇALVES (1997), estudando *Thyriniteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae), constatou que o 3º estágio foi o mais susceptível à ação do bacilo, havendo 100% de mortalidade das lagartas contaminadas. Para HABIB & ANDRADE (1986), a quantidade de patógeno por unidade de peso de lagarta, além de representar uma verdadeira relação biológica, aumenta a confiabilidade nas comparações, sejam entre diferentes idades larvais da espécie, entre diferentes espécies ou entre populações de insetos. Ainda segundo estes autores, os primeiros estágios parecem demonstrar maior nível de susceptibilidade ao patógeno do que os últimos. Porém, quando a dose é relacionada com o peso da lagarta, sempre ocorre o inverso. LI *et al.* (1995) afirmam que em algumas espécies de lepidópteros, como *Tyria jacobaeae* (L.) (Lepidoptera: Arctiidae), lagartas mais velhas são mais susceptíveis do que as mais novas e que em outras espécies, como *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae), ocorre o contrário. VAN-FRANKENHUYZEN *et al.* (1997) também afirmam que a susceptibilidade ao *B. thuringiensis* var. *kurstaki* pode ser diferente para cada estágio de *C. fumiferana* e que os últimos estágio são mais susceptíveis do que os primeiros. Segundo estes pesquisadores o 6º estágio foi quase cinco vezes mais susceptível do que o 5º. Já HUANG *et al.* (1999) afirmam que lagartas do 1º estágio de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) foram muito mais sensíveis ao *B. thuringiensis* do que as mais velhas, não havendo diferenças significativas entre o 3º, 4º e 5º estágios nas diferentes concentrações testadas.

VAN-FRANKENHUYZEN (1994) constatou que o aumento da temperatura aumenta a velocidade de mortalidade das lagartas contaminadas de *C. fumiferana* e que o efeito da temperatura foi na proliferação das células vegetativas. Já HWANG *et al.* (1995) afirmam que substâncias, como taninos condensados e glicosídeos fenólicos, encontradas nas folhas afetam a patogenicidade do *B. thuringiensis* var. *kurstaki*. Segundo MÜLLER-COHN *et al.* (1996), BOLIN *et al.* (1999) e MARÇON *et al.* (1999), a pressão seletiva causada pela exposição de insetos, por algumas gerações, ao *B. thuringiensis*, pode gerar resistência ao bioinseticida.

B. thuringiensis var. *kurstaki* influenciou a reprodução de *O. vesulia*, primeiramente matando grande quantidade de lagartas (Tabela 1 e Fig. 2), o que levou a uma significativa redução do número de adultos emergidos, somente 23 (Tabela 2) do total de 323 lagartas contaminadas, dos quais 11 eram machos e 12 eram fêmeas, o que resultou na taxa de 7,1% de emergência de adultos, contra a taxa de 98,5% da população testemunha. Além disso, por prejudicar o desenvolvimento das lagartas sobreviventes,

o que foi constatado através das análises das fases do desenvolvimento e das durações dos ciclos de vida (Tabela 2), que geralmente sofreram aumentos em suas durações, pode ter gerado adultos incapazes de se reproduzir ou de reprodução ineficiente, visto que somente uma fêmea ovipositou. Os parâmetros reprodutivos desta fêmea comparados aos das fêmeas do tratamento testemunha, sinalizaram esta tendência. Porém, RIGGIN-BUCCI & GOULD (1996), estudando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e HELLMICH *et al.* (1999), estudando *O. nubilalis*, não constataram a influência do *B. thuringiensis* var. *kurstaki* na fecundidade.

Portanto, matar lagartas, reduzir significativamente o número de adultos emergidos e reduzir ainda mais o número de adultos com capacidade reprodutiva, somando-se ainda à redução da capacidade inata de crescimento populacional (r_m) e da razão finita de crescimento (\ddot{e}) tudo isto, poderá contribuir para a diminuição da população de *O. vesulia* no campo. GONÇALVES (1997), estudando o controle de *T. arnobia* no campo, verificou que no período do segundo ao oitavo dia após a aplicação, o inseticida biológico apresentou maior eficiência, com o pico de ação controladora no oitavo dia. Entretanto, cabe ressaltar que mais pesquisas de laboratório serão necessárias para comprovar a ação direta do bacilo na reprodução de *O. vesulia*, pelo fato de somente uma fêmea oriunda das lagartas contaminadas ter ovipositado em laboratório.

A susceptibilidade à ação do bacilo, que foi maior nas lagartas do 1º e do 2º estágio e menor nas do 7º, nos leva a inferir que, no campo, o melhor momento para se adotar medidas utilizando-se este agente de controle biológico, será quando a população de *O. vesulia* apresentar a maioria de seus indivíduos no 1º e/ou no 2º estágio de vida. Entretanto, serão necessários estudos de campo para a comprovação da influência e da eficácia do bacilo *B. thuringiensis* var. *kurstaki* no controle da população deste inseto comedor de folhas de eucalipto.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o *B. thuringiensis* var. *kurstaki* afeta as taxas de mortalidade, a velocidade de desenvolvimento, a taxa de emergência de adultos, a reprodução e o comportamento de *O. vesulia*.

RESUMO

No Brasil vem ocorrendo a substituição de ecossistemas equilibrados e altamente diversificados por maciços florestais de *Eucalyptus* que são, cada vez mais, utilizados como fonte de madeira, carvão e celulose. Um

grande número de insetos vem rapidamente se adaptando a esta realidade e dentre eles *Oxydia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae), que se tornou uma importante praga. Este trabalho objetivou, através de experimentos de laboratório, avaliar o potencial de controle do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) sobre *O. vesulia*, bem como a sua ação nas diferentes fases do desenvolvimento e na reprodução deste lepidóptero. Os resultados demonstraram que o bacilo afeta a mortalidade, a velocidade de desenvolvimento, a taxa de emergência de adultos, a reprodução e o comportamento de *O. vesulia*.

PALAVRAS CHAVE: controle biológico; bacilo; mariposa; floresta.

SUMMARY

In Brazil is occurring a substitution of balanced and different ecosystems by massive areas of *Eucalyptus* spp., which are increasingly used in order to provide sources of wood, coal and cellulose. A great number of insects are quickly being adapted to this reality, and *Oxydia vesulia* (Cramer) (Lepidoptera: Geometridae) became an important pest. This work aimed to evaluate, by laboratory experiments, the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner) on the *O. vesulia*, through its action analysis on different development phases, and in this Lepidoptera reproduction. The developmental time, the reproduction and the behavior of the *O. vesulia* were affected by the bacillus.

KEY WORDS: biological-control; bacillus; moth; forest.

RÉSUMÉ

Au Brésil une substitution d'écosystèmes équilibrés et diversifié par régions massives de l'Eucalyptus, lesquels sont utilisés de plus en plus pour fournir des sources de bois, charbon et cellulose. Un grand nombre d'insectes s'est ajusté rapidement à cette réalité, et *Oxydia vesulia* (Cramer) (Lepidoptera: Geometridae) est devenu un casse-pieds important. Ce travail a visé évaluer, par les expériences de laboratoire, les effets de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sur l'*O. vesulia*, son analyse aussi l'action sur développement, et dans cette reproduction. Les résultats ont démontré que le bacille affecte la mortalité, la vitesse du développement, l'impôt de l'émergence d'adultes, la reproduction et le comportement de *O. vesulia*.

Mots clés: contrôle-biologique; bacille; papillon de nuit; forêt.

BIBLIOGRAFIA

- ALVES, J.B.; ZANUNCIO, J.C.; FLORIN, A. & PIFFER, A.A. 1994. Análise faunística e flutuação populacional de lepdópteros associados ao eucalipto em Niquelândia, Goiás. *Rev. Árvore*, v.18, n.2. p.159-168.
- ALVES, S.B. (coord.). 1986. *Bactérias Entomopatogênicas*. In: Controle microbiano de insetos. São Paulo, Manole, 407p.
- ATTANTHON, T.; G. CHONGRATTANAMETEEKUL; J. CHAMPAISANG & R. SIRIYAN. 1995. Morphological diversity and toxicity of delta - endotoxin produced by various strains of *Bacillus thuringiensis*. *Bull. Entomol. Research* 85: 167-173.
- BARKER, J.F. 1998. Effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* toxin on mortality and development of the larval stages of banded sunflower moth (Lepidoptera: Cochylidae). *J. Econ. Entomol.* 91: 1084-1088.
- BEHLE, R.W.; M.R. MCGUIRE & B.S. SHASHA. 1997. Effects of sunlight and simulated rain on residual activity of *Bacillus thuringiensis* formulations. *J. Econ. Entomol.* 90: 1560-1566.
- BOLIN, P.C.; W.D. HUTCHINSON & D.A. ANDOW. 1999. Long-term selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac endotoxin in Minnesota population of european corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 1021-1030.
- CAMPOS, W.G. & CURE, J.R. Lagartas, seus danos e parasitóides associados em reflorestamentos de *Eucalyptus cloënsiana* no Vale do Rio Doce (MG). *Rev. Bras. Entomol.*, v.37, n.1, p.1-13, 1993.
- ESPINDOLA, C.B. & L. GONÇALVES. 2000. Biologia de *Oxydia vesulia* (Cramer, 1779) (Lepidoptera: Geometridae). *Floresta e Ambiente* 7: 80-87.
- GALLO, D.; O. NAKANO; S. SILVEIRA NETO; R.P.L. CARVALHO; G.C. BATISTA; E.B. BERTI FILHO; J.R.P. PARRA; R.A. ZUCCHI, & S.B. ALVES. 1988. *Manual de Entomologia Agrícola*. Editora Agronômica Ceres, São Paulo. 531p.
- GIUSTOLIN, A.T.; J.D. VENDRAMIM; S.B. ALVES & S.A. VIEIRA. 2001. Efeitos associados de genótipo de tomateiro resistente e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* Meyrick (Lep., Gelechiidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 461-465.
- GONÇALVES, L. 1996. Fatos históricos do controle biológico. *Floresta e Ambiente* 3: 96-101.
- GONÇALVES, L. 1997. Bionomia, aspectos comportamentais e controle de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae),

- “praga” de *Eucalyptus* (Myrtaceae), pelo *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) (Bacillaceae). *Tese de Doutorado*. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 345p.
- HABIB, M.E. & C.F.S. ANDRADE. 1986. *Bactérias Entomopatogênicas*, p. 127-170. In: S.B. ALVES. (coord.), Controle microbiano de insetos. São Paulo, Manole, 407p.
- HELLMICH, R.L.; L.S. HIGGINS; J.F. WITKOWSKI; J.E. CAMPBELL & L.C. LEWIS. 1999. Oviposition by European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in response to various transgenic corn events. *J. Econ. Entomol.* 92: 1014-1020.
- HOLTZ, A.M.; J.C. ZANUNCIO; H.G. OLIVEIRA; A. PALLINI; J.S. MARINHO; C.L. OLIVEIRA & T.B.M. PINON. 2003. Aspectos biológicos de *Thyriniteina arnobia* (Lep.: Geometridae) provenientes de lagartas criadas em folhas de *Eucalyptus cloeziana* ou de *Psidium guajava* sob condições de campo. *Rev. Árvore* 6: 897-901.
- HUANG, F.; L. BUSCHMAN & R.A. HIGGINS. 1999. Susceptibility of different instars of european corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to diet containing *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 92: 547-550.
- HWANG, S.Y.; R.L. LINDROTH; M.E. MONTGOMERY & K.S. SHEILDS. 1995. Aspen leaf quality affects gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) susceptibility to *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 88: 278-282.
- JOHNSON, K.S.; J.M. SCRIBER; J.K. NITAO & D.R. SMITLEY. 1995. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* to three nontarget Lepidoptera in field studies. *Environ. Entomol.* 24: 288-297.
- KAYA, H.K.; T.M. BURLANO; H.Y. CHOO & G.S. THURSTON. 1995. Integration of entomopathogenic nematodes with *Bacillus thuringiensis* or soap for control of insect pests. *Biol. Control* 5: 432-441.
- LAROCA, S. 1995. *Ecologia – princípios e métodos*. Editora Vozes, Rio de Janeiro. 197p.
- LI, S.Y.; S.M. FITZPATRICK & M.B. ISMAN. 1995. Susceptibility of different instar of the obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *J. Econ. Entomol.* 88: 610-614.
- LUCIANO, P.; I. FLORIS; A. LENTINI; R. PROTA; P. DELANA & G. LANGIU. 1992. Utilization of *Bacillus thuringiensis* Berl. to control the gypsy moth in Sardinian cork oak forest: Results of the tests carried out in 1991. *Redia* 75: 549-563.
- MARÇON, P.C.R.G.; L.J. YOUNG; K.L. STEFFEY & B.D. SIEGFRIED. 1999. Baseline susceptibility of european corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J. Econ. Entomol.* 92: 279-285.

- MILLER, J.C. 1990. Effects of microbial insecticide, *Bacillus thuringiensis kurstaki*, on nontarget Lepidoptera in a spruce budworm infested forest. *J. Research on the Lepidoptera* 29: 267-279.
- MÜLLER-COHN, J.; J. CHAUFAX; C. BUISSON; N. GILOIS; V. SANCHIS & D. LERECLUS. 1996. *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to CryIC and cross-resistance to other *Bacillus thuringiensis* crystal toxins. *J. Econ. Entomol.* 89: 791-797.
- NAVON, A.; B.A. FEDERICI; T.S. WALSH & U.M. PEIPER. 1992. Mandibular adduction force of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae fed the insecticidal crystal of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 85: 2138-2143.
- OLIVEIRA, H.N.; D. PRATISSOLI; J.C. ZANUNCIO & S.E. SERRÃO. 2003. Influência da idade dos ovos de *Oxydia vesulia* no parasitismo de *Trichogramma maxacalii*. *Pesq. Agropec. Bras.* 38: 551-554.
- PAYNE, N.J. & K. VAN-FRANKENHUSEN. 1995. Effects of spray droplet size and density on efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner against the budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.* 127: 15-23.
- PINGEL, R.L. & L.C. LEWIS. 1997. Field application of *Bacillus thuringiensis* and *Anagrapha falcifera* multiple nucleopolyhedrovirus against the corn earworm, (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 1195-1199.
- PINGEL, R.L. & L.C. LEWIS. 1999. Effect of *Bacillus thuringiensis*, *Anagrapha falcifera* multiple nucleopolyhedrovirus, and their mixture on three lepidopteran corn ear pests. *J. Econ. Entomol.* 92: 91-96.
- RIGGIN-BUCCI, T.M. & F. GOULD. 1996. Effect of surfactants, *Bacillus thuringiensis* formulations and plant damage on oviposition by diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 89: 891-897.
- SANTOS, G.P.; E.V. VILELA & S.B. NOGUEIRA. 1979. Estudos da bionomia e controle biológico de *Oxydia apidania* (Cramer) (Lepidoptera: Geometridae), desfolhador de eucalipto. *Rev. Arvore* 3: 57-74.
- SANTOS, G.P.; T.V. ZANUNCIO; E. VINHA & J.C. ZANUNCIO. 2002. Influência de faixas de vegetação nativa em povoamentos de *Eucalyptus cloeziana* sobre população de *Oxydia vesulia* (Lepidoptera: Geometridae). *Rev. Arvore* 26: 499-504.
- SIMS, S.R. 1995. *Bacillus thuringiensis* (CryIA(c)) protein expressed in transgenic cotton: Effects on beneficial and other non-target insects. *Southwestern Entomologist* 20: 493-500.
- SUNDARAM, K.M.S.; A. SUNDARAM & B.D. HAMMOCK. 1994. Persistence of *Bacillus thuringiensis* deposits in a hardwood forest, after aerial application of a commercial formulation at two dosage rates. *J. Environ. Science and Health* 29: 999-1052.

- TSAI, S.F.; J.W. LIAO & S.C. WANG. 1995. Clearance and distribution of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* by oral administration. *Plant Protection Bulletin* 37: 265-270.
- VAN-FRANKENHUYZEN, K. 1994. Effects of temperature on the pathogenesis of *Bacillus thuringiensis* Berliner in larvae of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* Clem. (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.* 126: 1061-1065.
- VAN-FRANKENHUYZEN, K.; L. GRINGORTEN; J. DEDES & D. GAUTHIER. 1997. Susceptibility of different instars of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* estimated a droplet-feeding method. *J. Econ. Entomol.* 90: 560-565.
- WANG, J.B. & W.W.K. CHEUNG. 1994. Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin on the Malpighian tubules of *Pieris canidia* larva. *Zoological Studies* 33: 192-199.