

CLASSIFICAÇÃO PATOLÓGICA E SUSCEPTIBILIDADE
DE LARVAS DE *Brassolis sophorae* (L., 1758)
INFECTADAS POR *Bacillus thuringiensis*
var. *kurstaki* (H:3a-3b)

Mohamed E.M. Habib¹
Carlos F.S. Andrade¹
Ângelo Favaro Jr.¹

INTRODUÇÃO

As larvas de *Brassolis sophorae* causam grandes danos em palmáceas neotropicais, podendo desfolhar totalmente as plantas e deixar apenas as nervuras principais dos folíolos. HABIB & ANDRADE (1977), relatando a ocorrência de epizootias causadas pelo fungo *Beauveria bassiana* em populações desse brassolídeo, revelaram a sua importância econômica como praga na região nordeste do Brasil e nas palmáceas ornamentais urbanas na região sudeste do País.

Os presentes autores, em ensaios preliminares no campo (não publicados), constataram a alta susceptibilidade das larvas dessa espécie a preparados comerciais à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Ao mesmo tempo, BERTI Fº & GALLO (1977), sob condições de laboratório, revelaram a susceptibilidade de larvas de *B. astyra* Godart, 1821 ao mesmo bacilo.

HEIMPEL & ANGUS (1959) agruparam os lepidópteros susceptíveis a este bacilo em três categorias (ou tipos) de acordo com a ocorrência ou não de paralisia geral e/ou intestinal. BERTI Fº & GALLO (1977) mencionaram que os sintomas da infecção em larvas de *B. astyra* assemelham-se aos citados na literatura para *Bombyx mori*, sofrendo paralisia geral devido ao aumento do pH da hemolinfa (tipo I).

O presente trabalho foi desenvolvido com a finalidade de determinar a susceptibilidade de larvas de *B. so-*

¹ Universidade Estadual de Campinas, SP.

sophorae ao *B. t.* var. *kurstaki* além de categorizar este inseto quanto à classificação de HEIMPEL & ANGUS (1959), usando-se a sintomatologia como critério.

MATERIAL E MÉTODOS

Os sintomas da infecção foram descritos adotando-se os critérios de STEINHAUS (1963), HABIB (1978) e HABIB & ANDRADE (1977 e 1983). Para avaliar as alterações no pH do conteúdo intestinal e da hemolinfa das larvas infectadas de *B. sophorae*, foi usada a dose de 136,5 UI/larva do 5º estágio. O patógeno foi aplicado diretamente na cavidade bucal da lagarta, em suspensão aquosa, com o auxílio de microseringa e lupa binocular (figura 1).



FIGURA 1 - Aplicação do patógeno na cavidade bucal de larva de *B. sophorae* com auxílio de microseringa.

Um total de 120 larvas foi utilizado nesses estudos, das quais 50 como controle (testemunha). O pH nos dois sítios foi medido com o auxílio de papel indicador de precisão 0,2. As avaliações foram feitas em intervalos de 6 horas, sendo a primeira 60 minutos após a ingestão do patógeno. Para cada avaliação 10 larvas eram sacrificadas (5 para o tratamento e 5 para o controle). As mesmas larvas eram usadas para a avaliação do pH nos dois sítios (hemolinfa e intestino).

Larvas também do 5º estágio dessa espécie, foram usadas para os estudos de susceptibilidade. O produto usado foi o DIPEL de potencial equivalente a 16.000 unidades internacionais (UI) por milígrama. As respostas do inseto ao patógeno foram avaliadas através da utilização de 6 doses diferentes distanciadas por um fator geométrico de 1,5 (136,5; 91,12; 60,75; 40,5; 27 e 18 UI/larva). O volume ingerido de 5 µl de suspensão por larva era sempre constante em todos os tratamentos, variando apenas a concentração do patógeno. Cada dose foi administrada a 60 larvas. Um número igual de larvas foi usado como testemunha recebendo 5 µl de água destilada. As larvas de cada tratamento eram mantidas juntas em gaiolas de tela comum de 20 x 20 x 30 cm, levando-se em consideração o comportamento gregário da espécie.

Os critérios matemáticos de THOMPSON (1947) foram adaptados para os cálculos de dose letal mediana (DL50) e tempo letal mediano (TL50).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Classificação patológica

Os sintomas da infecção por *B. t.* var. *kurstaki* observados no presente trabalho, em larvas de *B. sophorae*, assemelham-se muito aos detectados por HABIB & ANDRADE (1983) para as larvas do curuquerê do algodão, *Alabama argillacea*, infectadas pelo mesmo patógeno. Parada alimentar, lentidão de movimentos, alterações na coloração e brilho do tegumento, leve disenteria e regurgitação, seguidas por morte, ficando as larvas com aspectos de carbonizadas, foram os sintomas externos mais evidentes (figura 2).

Também como no caso de *A. argillacea*, as larvas de *B. sophorae* reagiram com movimentos, embora lentamente, a estímulos externos como o toque, indicando assim a não ocorrência de paralisia geral.

As alterações no pH do intestino detectadas nas larvas durante a infecção (figura 3) revelam queda gradual de 9,7 para 6,8 após 48 horas da infecção; enquanto que na testemunha o pH intestinal permaneceu no nível médio de 9,7. Na hemolinfa, entretanto, seja no tratamen-

to como na testemunha, o pH permaneceu na faixa de 6,8 a 7,0.



FIGURA 2 - Sequência de sintomas externos pre- e pós-mortais em larvas de *B. sophorae* infectadas pelo bacilo.

Esses dados justificam claramente a razão da não ocorrência de paralisia geral nas larvas infectadas, fenômeno associado à elevação da alcalinidade na hemolinfa (HEIMPEL & ANGUS, 1960; HABIB, 1982).

Dentro dessa caracterização de efeitos patológicos, tanto as larvas de *B. sophorae* quanto as de *A. argillacea* se enquadrariam no tipo II da classificação de HEIMPEL & ANGUS (1959). De acordo com esses critérios, os insetos do tipo I são os que sofrem paralisia geral, enquanto que os do tipo III morrem sem sofrer nenhuma paralisia.

Ao nível do tubo digestivo, a alta alcalinidade encontrada nas larvas de *B. sophorae*, indicam alta susceptibilidade à bacteriose, pois a dissolução do cristal (pró-toxina) e consequente liberação da δ -endo-toxina dependem diretamente desse fator. Nos casos em que o pH intestinal de uma dada espécie é fracamente alcalina, as larvas são pouco susceptíveis ou até resistentes. Como exemplo, as larvas de *Spodoptera frugiperda*, cujo pH intestinal é na faixa de 8,2 a 8,5, revelam-se resistentes à bacteriose (HABIB & GARCIA, 1981).

Susceptibilidade

O hábito gregário das larvas de *B. sophorae*, com alta possibilidade de que as de cada ninho sejam irmãs, favorece a avaliação da susceptibilidade através dos cri-

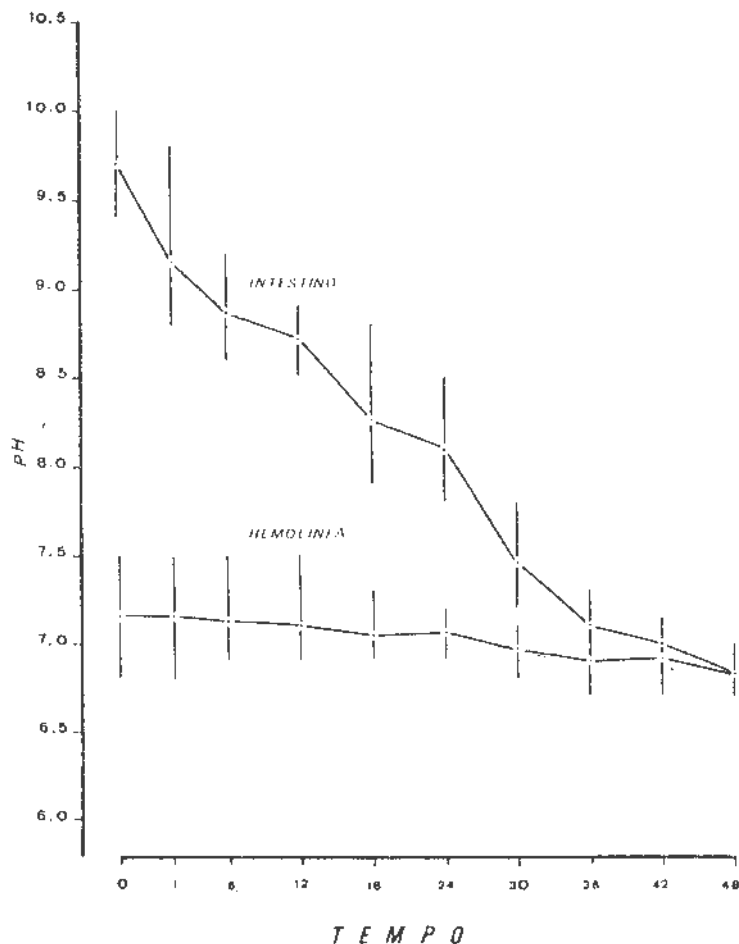


FIGURA 3 - Alterações no pH intestinal e da hemolinfa em larvas de *B. sophorae* durante 48 horas após infecção por *B.t.* var. *kurstaki*.

têrios de doses letais, pois teriam menor variabilidade genética. Ainda assim, para cada dose as avaliações foram feitas em intervalos de tempo com progressão geométrica, facilitando os cálculos de tempo letal para cada dose.

O quadro I mostra o tempo letal mediano para as 6

doses diferentes, em termos de UI/larva, além de UI/grama de peso de larva tratada.

QUADRO I - TL_{50} e intervalos de confiança, em horas, para larvas de *B. sophorae* infectadas por *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, utilizando 6 doses (UI/larva e equivalência por unidade de peso).

UI/larva	UI/g	TL_{50}	Intervalo de confiança		
136,50	30,29	19,91	19,13	-	20,69
91,10	20,21	23,95	23,75	-	24,12
60,75	13,48	26,71	24,83	-	28,84
40,50	8,99	27,91	25,59	-	30,44
27,00	5,99	31,17	28,94	-	33,55
18,00	3,99	45,58	45,12	-	46,03

O TL_{50} para a dose mais alta (136,5 UI/larva) foi de 19,91 horas, aumentando gradualmente com o decréscimo da dose, chegando a 31,17 horas para a penúltima dose (27 UI/larva) (detalhes no quadro I). O incremento no tempo letal mediano seguiu um fator de 1,12 com um mínimo de 1,04 e um máximo de 1,20 entre as primeiras 5 doses. Por outro lado, tal fator foi de 1,46 entre a 5ª e a 6ª dose. A diferença média do TL_{50} entre as primeiras 5 doses foi de 2,82 horas, com um mínimo de 1,20 e um máximo de 4,04 horas. Entretanto a diferença entre as duas últimas doses foi de 14,41 horas. Com isso, a última dose (18 UI/larva) pode ser considerada sub-letal para as larvas do 5º estágio de *B. sophorae*, pois teve um TL_{50} de 45,58 horas, bem distante dos TL_{50} das doses superiores.

Para fins de aplicações do bacilo no campo, embora a penúltima dose (27 UI/larva) tenha mostrado eficiência no laboratório, acreditamos que a dose imediatamente acima (40,5 UI/larva) pode ser considerada satisfatória para os cálculos de dosagens de controle no campo.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem comparações da susceptibilidade de larvas de *B. sophorae* com as de *A. argillacea* (HABIB & ANDRADE, 1983) tratadas com o mesmo produto (Dipel). A dose mais alta usada para larvas do curuquerê (134 UI/larva, ou seja, 1081 UI/g de larva) resultou em TL₅₀ de 33,52 horas. Por outro lado, para as larvas de *B. sophorae*, a dose mais alta (136,5 UI/larva), próxima à usada para *A. argillacea*, resultou em TL₅₀ de 19,91 horas. Essa dose quando transformada em UI/g de peso do inseto, resultaria em 30,29 UI/g; muito inferior à de 1081 UI/g para *A. argillacea*. Isto indica, portanto, um nível maior de susceptibilidade de larvas de *B. sophorae* ao bacilo do que as do curuquerê. Este fenômeno se torna evidente com o uso dos critérios de quantidade de patógeno por unidade de peso do inseto tratado (detalhes no quadro II).

QUADRO II - Comparação em três níveis entre a susceptibilidade de larvas de *B. sophorae* e de *A. argillacea* ao *B. thuringiensis* (Dipel).

<i>B. sophorae</i>			<i>A. argillacea</i>		
UI/larva	UI/g	TL ₅₀	UI/larva	UI/g	TL ₅₀
136,50	30,29	19,91	134,00	1081	33,52
60,75	13,48	26,71	67,00	540,5	39,29
40,50	8,99	27,91	40,00	322,6	43,84

Com a utilização das 6 doses do bacilo anteriormente mencionadas, as larvas de *B. sophorae* tiveram um DL₅₀ de 34,78 UI/larva após 27,5 horas da ingestão, com intervalo de confiança de 34,02 a 35,55. Tal dose é equivalente a apenas 7,72 UI/g de peso, confirmando a alta susceptibilidade dessa espécie ao patógeno. Esses dados endossam a recomendação para uso de dosagens calculadas à base de 40,5 UI/larva do 5º estágio no campo.

RESUMO

No presente trabalho, através de dados sintomatológicos, as larvas de *Brassolis sophorae* foram colocadas dentro do tipo II da classificação de HEIMPEL & ANGUS (1959). Tal colocação foi baseada no fato de que as larvas dessa espécie sofrem apenas paralisia intestinal e não geral durante a infecção por *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Enquanto que o pH intestinal sofreu uma queda gradual durante o curso da doença (de 9,7 a 6,8), o pH da hemolinfa se manteve próximo ao neutro (de 6,8 a 7,0).

As larvas de *B. sophorae* revelaram-se altamente susceptíveis ao bacilo; pois a DL₅₀ foi de 34,78 UI/larva (equivalente a 7,72 UI/g de peso do inseto tratado).

Para aplicações no campo, pode-se recomendar dosagens calculadas à base de 40,5 UI/larva do 5º estágio dessa praga.

SUMMARY

In the present work, *Brassolis sophorae* larvae were determined as belonging to type II according to HEIMPEL & ANGUS (1959) classification of insects susceptible to *Bacillus thuringiensis*. Such a determination was based on symptomatological criteria. Intestinal paralysis was observed accompanied by gradual decrease of midgut pH, among the infected larvae. General paralysis, however, did not occur and the pH of the hemolymph remained between 6.8 and 7.0 during the disease course.

B. sophorae larvae showed to be highly susceptible to *B.t.* var. *kurstaki*. The median lethal dose was calculated as 34.78 UI/larva, equivalent to 7.72 UI/g of the body weight.

For field applications, the dose equivalent to 40.5 UI/larva of the fifth instar, can be recommended.

LITERATURA CITADA

BERTI Fº, E. & D. GALLO, 1977. O uso de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle da lagarta das palmei-

- ras *Brassolis astyra astyra* Godart, 1765 (Lepidoptera, Brassolidae). An. Soc. Ent. Brasil 6: 85-91.
- HABIB, M.E.M., 1978. A bacterial disease of the American cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepid., Noctuidae) with notes on its histopathological effects. Z. ang. Entomol. 85: 76-81.
- HABIB, M.E.M., 1982. Patogenicidade de duas variedades de *Bacillus thuringiensis* Berliner para larvas de Lepidoptera e Diptera, tese de livre docência, UNICAMP, 163pp.
- HABIB, M.E.M. & C.F.S. ANDRADE, 1977. Epizotia em larvas de *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758) causada por *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., com estudos de identificação e sintomatologia. An. Soc. Ent. Brasil 6: 230-237.
- HABIB, M.E.M. & C.F.S. ANDRADE, 1984. Patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (H:3a-3b) para o curuquerê do algodão, *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Agric. 59: 263-282.
- HABIB, M.E.M. & M.A. GARCIA, 1981. Compatibility and synergism between *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and two chemical insecticides. Z. ang. Entomol. 91: 7-14.
- HEIMPEL, A.M. & T.A. ANGUS, 1959. The site of action of crystalliferous bacteria in Lepidoptera larvae. J. Insect Pathol. 1: 152-170.
- HEIMPEL, A.M. & T.A. ANGUS, 1960. On the taxonomy of certain entomogenous crystalliferous bacteria. J. Insect Pathol. 2: 311-319.
- STEINHAUS, E.A., 1963. Insect Pathology - An advanced treatise, Academic Press, New York, Vol. 1, 661pp.; vol. 2, 689pp.
- THOMPSON, W.R., 1947. Use of moving averages and interpolation to estimate median effective dose. Bact. Rev. 11: 115-145.