

## NOTA

### OCORRÊNCIA DE *SERRATIA MARCESCENS* BIZIO SOBRE LAGARTAS DE *HELIOTHIS VIRESCENS* (FABR.)<sup>(1)</sup>

MARGARIDA FUMIKO ITO<sup>(2,5)</sup>, OSVALDO PARADELA FILHO<sup>(2,5)</sup>,  
JÚLIO RODRIGUES NETO<sup>(3)</sup>, LUIS OTÁVIO SAGGION BERIAM<sup>(3)</sup>,  
RONALDO DE SOUZA LONGO<sup>(4)</sup> e JOÃO MIGUEL DOS SANTOS<sup>(4)</sup>

#### RESUMO

Observou-se, em laboratório, grande número de lagartas mortas em uma criação de *Heliothis virescens* (Fabr.). Dessas lagartas, isolou-se uma bactéria, posteriormente identificada como *Serratia marcescens* Bizio. O presente trabalho registra sua ocorrência e comprova-lhe a patogenicidade sobre aquelas lagartas.

**Termos de indexação:** entomopatôgeno, *Heliothis virescens*, *Serratia marcescens*.

#### ABSTRACT

#### OCCURRENCE OF *SERRATIA MARCESCENS* BIZIO ON *HELIOTHIS VIRESCENS* (FABR.)

A large quantity of dead worms was observed in rearing of *Heliothis virescens*. A bacteria, later identified as *Serratia marcescens* Bizio, was isolated from the dead worms. The present work registers the occurrence and confirms the pathogenicity of *S. marcescens* on *H. virescens*.

**Index terms:** entomopathogen, *Heliothis virescens*, *Serratia marcescens*.

A alternativa para o controle de insetos-praga tem sido o emprego, cada vez maior, de entomopatôgenos. Esses agentes microbianos de controle biológico, disponíveis na natureza, sempre devem ser analisados quanto à facilidade de produção, segurança ao homem, aos vertebrados, aos insetos úteis e às plantas,

e eficiência contra as pragas importantes (Capalbo & Moraes, 1988).

Insetos, nematóides, vírus, bactérias e fungos estão assumindo importância como agentes de controle microbiano. Uma das bactérias de reconhecida

<sup>(1)</sup> Trabalho apresentado no XVIII Congresso Paulista de Fitopatologia. Recebido para publicação em 29 de janeiro e aceito em 30 de maio de 1996.

<sup>(2)</sup> Seção de Fitopatologia, Instituto Agrônomo (IAC), Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP).

<sup>(3)</sup> Seção de Bacteriologia Fitopatológica, Instituto Biológico, Caixa Postal 70, 13001-970, Campinas (SP).

<sup>(4)</sup> Estação Agrícola Experimental, Rhodia Agro Ltda., Fazenda São Francisco, Caixa Postal 7, 13140-000 Paulínia (SP).

<sup>(5)</sup> Com bolsa de pesquisa do CNPq.

entomopatogenicidade é a *Serratia marcescens* Bizio. Segundo Steinhaus (1959), cinquenta espécies de insetos já foram relacionadas como hospedeiras dessa bactéria. No Brasil, Andrade et al. (1984) registraram a ocorrência, em condições de campo, de *S. marcescens* atacando larvas e pupas do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis*.

Numa criação de insetos em laboratório da Rhodia Agro Ltda., observou-se elevada mortalidade em lagartas da espécie *Heliothis virescens* (Fabr.). O presente trabalho tem por objetivo registrar a ocorrência e comprovar a patogenicidade de *S. marcescens* sobre lagartas dessa espécie.

## Material e Métodos

Utilizando-se de lagartas mortas de *H. virescens* obtidas em criação de laboratório, isolou-se uma bactéria de coloração vermelha intensa, em meio de cultura de batata, dextrose e ágar (BDA). As lagartas atacadas apresentavam amolecimento e escurecimento do corpo, com odor característico de material em putrefação.

Para a comprovação da patogenicidade da bactéria sobre a lagarta, realizaram-se testes em condições de laboratório e de casa de vegetação, empregando-se suspensões de bactérias obtidas de culturas em BDA, com a idade de 48 horas, contendo aproximadamente  $10^6$  u.f.c./mL de suspensão, aferidas conforme Moraes & Alves (1986).

Teste em laboratório - Os tratamentos foram os seguintes:

1. Dieta pulverizada com suspensão de bactéria e colocação da lagarta no dia seguinte;

2. Folha de algodoeiro, destacada, pulverizada com suspensão de bactéria e colocação da lagarta no dia seguinte;

3. Testemunha da dieta com a lagarta, sem pulverização de suspensão de bactéria;

4. Testemunha da folha destacada, com a lagarta, sem pulverização de suspensão de bactéria.

Realizou-se o teste, utilizando-se quatro caixas plásticas do tipo gerbox por tratamento. No centro

de cada uma delas, colocou-se um pequeno cilindro da dieta, medindo 2 cm de diâmetro por 2 cm de altura. Em um dos tratamentos, dispôs-se, em cada caixa, uma folha de algodoeiro, em cujo pedúnculo se prendeu algodão embebido em água esterilizada.

As lagartas, no terceiro instar de desenvolvimento, foram criadas no biotério da Rhodia Agro Ltda., sendo utilizadas quatro por caixa. Antes de serem postas nas caixas, as lagartas eram alimentadas em dieta artificial. A criação se dava a partir de lagartas recém-eclodidas, que eram transferidas para tubos de vidro e criadas individualmente, em dieta artificial, cujos principais componentes eram farinha de milho, levedo de cerveja, germe de trigo, ácido ascórbico, ácido benzóico, Nipagin, ágar e água. Efetuou-se a leitura do número de lagartas mortas aos cinco dias após o início do teste.

**Teste em casa de vegetação** - Desenvolveram-se os seguintes tratamentos:

1. Planta pulverizada com suspensão de bactéria e colocação da lagarta, em seguida;

2. Lagarta pulverizada com suspensão de bactéria seguida de sua colocação sobre a planta;

3. Lagarta colocada sobre a planta e, a seguir, planta e lagarta pulverizadas com suspensão de bactéria;

4. Testemunha: lagarta colocada sobre a planta sem pulverização da suspensão de bactéria.

Utilizaram-se quatro vasos com quatro plantas por tratamento, colocando-se quatro lagartas, criadas no biotério da Rhodia Agro Ltda., em cada vaso. As plantas dos vasos foram protegidas com um cilindro plástico transparente, para evitar a fuga das lagartas.

Efetuoou-se a avaliação diariamente, anotando-se durante catorze dias o número de lagartas mortas.

## Identificação da espécie bacteriana

Para a caracterização e identificação dos isolados bacterianos obtidos, empregaram-se testes bioquímicos propostos por Grimont & Grimont (1984). Como teste adicional, analisou-se o pigmento extraído das células bacterianas, segundo Williams et al. (1956).

## Resultados e Discussão

No teste em laboratório, observou-se a morte de todas as lagartas dos tratamentos infectados com a bactéria. Tanto no tratamento com dieta como naquele com folhas, as lagartas morreram entre o quinto e o sexto dia após o início do teste.

No teste em casa de vegetação, os diferentes tratamentos não objetivaram a comparação pela análise estatística, mas, sim, verificar a efetividade das maneiras de colocar em contato as lagartas e a bactéria. Nos três tratamentos submetidos à inoculação, somente uma lagarta sobreviveu passados treze dias; todas as outras morreram entre o quarto e o décimo terceiro dia após a aplicação da bactéria. As lagartas do tratamento-testemunha permaneceram vivas até o encerramento do teste.

Em ambos os testes, efetuaram-se reisolamentos da bactéria, recuperando-a de todas as lagartas mortas.

Os resultados para a caracterização da bactéria encontram-se no quadro 1. Além dos testes bioquímicos, a extração do pigmento com acetona em meio ácido apresentou pico de absorção ao redor de 530 nm, característica do pigmento prodigiosina. Esses resultados permitiram identificar a bactéria como *Serratia marcescens* Bizio. A cultura original está depositada na coleção IBSEF, sob número de acesso 981, da Seção de Bacteriologia Fitopatológica do Instituto Biológico.

A ocorrência de *S. marcescens* causando a morte de insetos, em condições de laboratório, com altos índices de incidência, é conhecida. Bucher (1963) afirma que *S. marcescens* afeta com maior frequência os insetos criados em laboratório do que aqueles em condições de campo. Em laboratório, essa bactéria pode causar grandes danos às criações de insetos. Embora Alves (1986) reconheça a importância potencial de *S. marcescens* no controle microbiano, recomenda muito cuidado no seu manuseio, pois existem sérias implicações dessa bactéria em infecções respiratórias, urinárias e intestinais, além de ocorrência de septicemia no homem. O trabalho de Black et al., citado por Habib & Andrade (1986), também faz referência a *S. marcescens* causando septicemia ao homem. Breed et al. (1957) relatam que essa bactéria pode ser patogênica a lagartas e outros insetos, e

pode ser encontrada na água, no solo, no leite e em alimentos. Apesar de patogênica a lagartas de *H. virescens*, ainda não se pode recomendar o uso de *S. marcescens*, devido ao alto risco que oferece ao homem.

Quadro 1. Características apresentadas pela bactéria *Serratia marcescens*

Teste <sup>(1)</sup>	Reação
Arginina	-
Catalase	+
Dulcitol	-
H <sub>2</sub> S	-
Hidrólise de gelatina	+
Maltose	+
Manitol	+
Oxidase	-
Tagatose	-
Tirosinase	+
Teste <sup>(2)</sup>	Reação
Acetoína	+
Adonitol	+
Betaína	-
D-tartarato	-
D-celobiose	-
D-lactose	-
D-xilose	+
Fenilalanina	-
Gás de glicose	-
Hidrólise de amido	-
L-lisina	-
Melezitose	-
Melibiose	+
Ornitina	-
Produção de pigmento (prodigiosina)	+
Rafinose	-
Sorbitol	-

(<sup>1</sup>) Reações ao nível de gênero. (<sup>2</sup>) Reações usadas na diferenciação das espécies *S. marcescens*, *S. plymuthica* e *S. rubidae*, as quais produzem pigmento.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALVES, S.B. Patologia geral. In: ALVES, S.B., coord. *Controle microbiano de insetos*. São Paulo, Manole, 1986. p.3-70.
- ANDRADE, C.F.S.; PIEROZZI JÚNIOR, I. & HABIB, M.E.M. Ocorrência natural de doenças infecciosas em populações do "bicudo", *Anthonomus grandis* Boheman, 1843. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 9., Londrina, 1984. *Resumos*. Londrina, Sociedade Entomológica do Brasil, 1984. p.154.
- BREED, R.S.; MURRAY, E.G.D. & SMITH, N.R. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 7.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1957. 1094p.
- BUCHER, G.E. Nonsporulating bacterial pathogens. In: STEINHAUS, E.A., ed. *Insect pathology: an advanced treatise*. New York, Academic Press, 1963. v.II, p.117-147.
- CAPALBO, D.M.F. & MORAES, I.O. Aspectos da produção de *Bacillus thuringiensis*. In: CONTROLE biológico dos insetos. Sociedade Entomológica do Brasil. *Anais-2*. Campinas, Fundação Cargill, 1988. p.75-84.
- GRIMONT, P.A.D. & GRIMONT, F. Family I. Enterobacteriaceae. Genus VIII. *Serratia* Bizio 1823. In: KRIEG, N.R. & HOLT, J.G., eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984. v.1, p.477-484.
- HABIB, M.E.M. & ANDRADE, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S.B., coord. *Controle microbiano de insetos*. São Paulo, Manole, 1986. p.127-170.
- MORAES, S.A. & ALVES, S.B. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S.B. coord. *Controle microbiano de insetos*. São Paulo, Manole, 1986. p.278-288.
- STEINHAUS, E.A. *Serratia marcescens* Bizio as an insect pathogen. *Hilgardia*, Oxford, **28**:351-380, 1959.
- WILLIAMS, R.P.; GREEN, J.A. & RAPPOPORT, D.A. Studies on pigmentation of *Serratia marcescens*. I. Spectral and paper chromatographic properties of prodigiosin. *Journal of Bacteriology*, Washington, **71**:115-120, 1956.