# Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas

Patrícia T Medeiros¹; Eduardo H Sone¹; Carlos Marcelo S Soares²; José Manuel C de S Dias¹; Rose G Monnerat¹

<sup>1</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. Postal 02372, 70770-900 Brasília-DF; E-mail: patteles@ig.com.br; hidekisone@yahoo.com; <sup>1</sup>cabral@cenargen.embrapa.br; rose@cenargen.embrapa.br; <sup>2</sup>Bthek Biotecnologia Ltda. SAAN Q.3 L. 240, 70632-300 Brasília-DF; E-mail: marcelo@bthek.com.br

#### RESUMO

Avaliou-se em dois experimentos a suscetibilidade da traça-dascrucíferas a inseticidas à base de Bacillus thuringiensis em repolho cv. Itiban. O delineamento do primeiro experimento (de julho a setembro/03), em área de plantio comercial em Brazlândia (DF), foi de blocos casualizados, com seis tratamentos e dez repetições; os bioinseticidas utilizados foram B. thuringiensis kurstaki (S1450CO), B. thuringiensis aizawai comercial (Bta) e três produtos formulados com as estirpes S1450BB, S811BB, S845BB de B. thuringiensis pertencentes ao Banco de Bacillus spp. da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. No segundo experimento, realizado no campo experimental da Embrapa (DF), de outubro/03 a janeiro/04, o delineamento foi de blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições; os inseticidas utilizados foram os mesmos do primeiro experimento, com a adição de Spinosad, e retirado o tratamento S811BB. Os produtos foram aplicados quando foi atingido o nível de dano de seis furos nas quatro folhas centrais do repolho. O Bta comercial foi o produto mais eficaz no primeiro experimento, tendo sido aplicado cinco vezes e diferiu estaticamente dos demais produtos. Os formulados S845BB e S1450BB não apresentaram diferenças quando comparados ao produto comercial S1450 e foram aplicados seis vezes. O produto S811BB também foi aplicado seis vezes, mas sua eficácia foi inferior aos demais produtos e não diferiu da testemunha. Já no segundo experimento, o S1450 comercial foi aplicado cinco vezes e os demais produtos à base de Bt, seis vezes. Todos os produtos utilizados não diferiram entre si, diferindo apenas no número de aplicações.

Palavras-chave: Plutella xylostella, bioinseticidas, controle químico.

#### ABSTRACT

# Evaluation of insecticides based on $Bacillus\ thuringiensis$ in the control of the diamondback moth

Two experiments were performed to evaluate the susceptibility of the diamondback moth to insecticides based on Bacillus thuringiensis in cabbage cv. Itiban. The first experiment was carried out from July to September 2003, in a production area in Brazlândia (DF), Brazil. Randomized blocks with six treatments and ten replicates were used. The tested products were: commercial B. thuringiensis kurstaki (S1450), commercial B. thuringiensis aizawai (Bta) and three experimental formulations based on strains S1450BB, S811BB, S845BB of B. thuringiensis from the collection of Bacillus spp. of Embrapa Genetic Resources and Biotecnology. The second experiment was carried out in the experimental area of Embrapa, from October 2003 to January 2004. Randomized blocks with six treatments and four repetitions were used. The tested products were the same as those used in the first experiment with the addition of Spinosad and without S811BB. Products were applied when the level of attack on the plants by the pests reached six holes in the two pairs of central leaves pf the cabbage. Commercial Bta was the most effective product in the first experiment, after five applications and differed from the other products. S845BB and S1450BB were not significantly different when compared to the commercial product S1450, which were applied six times. The product S811BB was also applied six times, but its effectiveness was lower than the other products and was not different to the control. In the second experiment, all products were similar, just differing in the number of applications. Commercial S1450 was applied five times and the other products the base of Bt were applied six times.

Keywords: Plutella xylostella, bioinsecticides, chemical control.

#### (Recebido para publicação em 5 de maio 2005; aceito em 29 de abril de 2006)

Das várias pragas que atacam a cultura do repolho, a traça-dascrucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep. Plutellidae), destaca-se como a de maior importância, pois além de depreciar o produto, pode ocasionar perda total das lavouras. A larva da traça perfura e danifica as folhas reduzindo a área foliar e interferindo no desenvolvimento da planta (Castelo Branco, 1999).

O controle da traça se caracteriza pela utilização intensa de inseticidas, havendo relatos de até dezeseis aplicações por cultivo (Dias *et al.*, 2004). Essa prática tem causado problemas à saúde do agricultor e danos ao meio ambiente, além de proporcionar a seleção de populações resistentes dessa praga a diversos compostos químicos, como é o caso de alguns inseticidas piretróides e fosforados (Vasquez, 1995; Castelo Branco & Gatehouse, 1997).

Face ao exposto, o emprego de agentes de controle biológico como a bactéria entomopatogênica *Bacillus* thuringiensis surge como uma alterna-

tiva para o controle desta praga. Produtos à base desta bactéria têm sido utilizados há mais de 50 anos e proporcionam inúmeras vantagens, tais como especificidade ao inseto-alvo, efeito não poluente ao meio ambiente, inocuidade a mamíferos e vertebrados e ausência de toxicidade às plantas (Monnerat & Bravo, 2000; Cárdenas *et al.*, 2001). A utilização desses produtos conforme recomendado no manejo integrado de pragas, podem minimizar os problemas de resistência à inseticidas em determina-

das populações da traça das crucíferas, advindos do uso inadequado destes. Os trabalhos para o desenvolvimento de novos bioinseticidas a base de Bt é muito importante, pois as diferentes formulações e a descoberta de estirpes com diferentes toxinas, podem promover maior atividade tóxica e um melhor resultado do produto as condições ambientais.

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia tem desenvolvido trabalhos que resultaram na identificação de estirpes de *B. thuringiensis* tóxicas a *P. xylostella* (Silva-Werneck & Monnerat, 2001), participando ainda do desenvolvimento de bioinseticidas em parceria com a iniciativa privada. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a eficácia de produtos formulados com as estirpes de *B. thuringiensis* da Embrapa e produtos comerciais para controle da traça-das-crucíferas na cultura do repolho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos para avaliação dos produtos na região do Distrito Federal. O primeiro trabalho foi conduzido em campo experimental para produção comercial de hortalicas na região de Brazlândia, DF, entre os meses de julho e setembro de 2003. A variedade cultivada foi o híbrido Itiban, da Hortec®, e os cuidados em relação ao manejo da cultura foram os recomendados para a região (Dias et al., 2004). A irrigação feita por meio de aspersão foi realizada de duas a três vezes por semana. O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, com seis tratamentos e dez repetições. Cada parcela foi formada por quatro linhas contendo 12 plantas, totalizando 48 plantas. Foram testadas duas formulações experimentais produzidas com as estirpes S811 e S845, pertencentes ao banco de bactérias entomopatogênicas da Embrapa, selecionadas por sua alta toxicidade à traça-das-crucíferas (Medeiros et al., 2003), duas formulações (comercial e experimental) com a estirpe padrão de Bacillus thuringiensis kurstaki (S1450), uma formulação comercial à base de B. thuringiensis aizawai (Bta) e pulverização com água como tratamento controle. A formulação experimental foi produzida pela Bthek Biotecnologia Ltda., empresa especializada na produção bioinseticidas à base de B. thuringiensis. Os produtos testados e suas respectivas doses foram: B. thuringiensis kustaki, comercial, suspensão concentrada na dose de 300 ml/ha (1450Co); B. huringiensis aizawai, comercial grânulos dispersíveis na dose de 400g/ha (Bta); B. thuringiensis kustaki S1450BB, S845BB e S811BB, suspensão concentrada na dose de 300 ml/ha e testemunha (água). Em todos os tratamentos, foi adicionado o espalhante adesivo Extravon® (30 ml/100 litros de calda). As aplicações foram realizadas em função do nível de dano causado pela traça (Castelo Branco & Villas Boas, 1996). Para isso, avaliou-se o número de furos produzidos pela traça-dascrucíferas nas quatro folhas centrais de seis plantas por parcela escolhidas ao acaso. Uma vez que o valor da média resultasse igual ou superior a seis furos por parcela, realizava-se a aplicação do

As avaliações foram feitas durante seis semanas e os produtos foram aplicados quando necessário, com o uso de um pulverizador costal marca Jacto®, com capacidade para cinco litros. A primeira avaliação foi realizada 58 dias após o transplante, um mês após o início da formação das cabeças. Ao final do ciclo da cultura, dez plantas de cada parcela foram escolhidas ao acaso e avaliadas de acordo com os danos, segundo o seguinte critério de notas: 1= plantas sem nenhum furo, 2= plantas com furos inferiores a 2 mm, 3= plantas com furos superiores a 2 mm, 4= plantas com perda total (Monnerat, 1995; Castelo Branco et al., 1996).

O segundo experimento foi conduzido no período de outubro de 2003 a janeiro de 2004, no campo experimental da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Após o preparo da área, 448 plantas de repolho 'Itiban' foram transplantadas para os canteiros e os cuidados realizados de acordo com o manejo da cultura recomendado para a região (Dias *et al.*, 2004). A irrigação por meio de aspersão foi realizada de duas a três vezes por semana. O delineamento experimental adotado foi de

blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições. As parcelas foram formadas por duas linhas com sete plantas cada, totalizando 14 plantas por parcela. Os produtos testados e suas respectivas doses foram: B. thuringiensis kustaki, comercial, suspensão concentrada na dose de 300 ml/ha (1450CO); B. huringiensis aizawai comercial, grânulos dispersíveis na dose de 400g/ha (Bta); B. thuringiensis kustaki S1450BB e S845BB, suspensão concentrada na 300 ml/ha; Spinosad, suspensão concentrada 100 ml/ha e testemunha (água). As aplicações foram realizadas em função do nível de dano causado pela traça, de maneira semelhante à descrita no primeiro experimento.

As avaliações foram feitas durante sete semanas e os produtos foram aplicados, quando necessário, com o uso de um pulverizador costal marca Jacto®, com capacidade para cinco litros. A primeira avaliação foi realizada 28 dias após o transplante, no início da formação das cabeças. Ao final do ciclo da cultura, dez plantas de cada parcela foram escolhidas ao acaso e avaliadas de acordo com os danos, segundo o mesmo critério de notas usado para o outro experimento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott (P=0,05). O programa computacional utilizado foi Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG 8.0).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando-se os dois experimentos conduzidos em Brazlândia e Brasília no Distrito Federal, constata-se que a infestação da traça-das-crucíferas foi mais elevada no primeiro experimento, como evidenciado pelo maior número de furos médio nas quatro folhas centrais (Figuras 1 e 2), o que pode ser devido à ausência de precipitação durante a realização deste experimento.

No primeiro experimento, foram realizadas seis aplicações do produto comercial à base de *B. thuringiensis kurstaki* (S1450CO), das estirpes formuladas experimentalmente S1450BB, S845BB e S811BB e cinco aplicações do produto comercial à base do *B.* 

thuringiensis aizawai (Bta comercial). O tratamento com o Bta comercial apresentou melhor controle e diferiu dos demais. Os tratamentos S1450 comercial, S1450BB e S845BB não diferiram entre si, mas diferiram do S811BB e da testemunha (Tabela 1). Cabe salientar que, mesmo pertencendo ao sorotipo kurstaki, a S811BB pode produzir toxinas em menor quantidade ou diferentes das demais estirpes do mesmo grupo. Algumas observações feitas no laboratório em bioensaios com a estirpe S811BB, demonstraram uma instabilidade na mortalidade de larvas e na formulação. Isso pode ter ocorrido devido a características ou diferenças intrínsecas da estirpe. As estirpes S1450BB, S845BB e S811BB, apesar de produzirem toxinas diferentes, apresentam a proteína Cry1Ab, referida como a mais tóxica a P. xylostella (Monnerat et al., 1999). Já o Bta comercial é formulado à base de uma estirpe que produz a proteína Cry1C, que não está presente nas outras estirpes envolvidas no trabalho e que é a segunda proteína mais tóxica a P. xylostella (Monnerat et al., 1999). Alguns trabalhos demonstraram a existência de populações de P. xylostella resistentes a produtos à base de B. thuringiensis e que essa resistência está associada a falhas na interação do receptor presente no intestino da traça com a toxina Cry1Ab (Ferré et al., 1991; Tabashnik, 1994). Outros trabalhos indicam que existem populações da traça resistentes a Bt no Brasil (Castelo Branco & Gatehouse, 1997). É possível que os resultados obtidos neste trabalho indiquem que estejam sendo selecionadas populações resistentes ao thuringiensis subsp. kurstaki na população de Brazlândia. Para corroborar esses dados, os autores observaram a aplicação de dosagens elevadas e em repetidas vezes do produto Dipel® sem critério técnico ou seja sem a avaliação do nível de dano, em cultivos de repolho próximos da área experimental.

Apesar de os tratamentos terem apresentado diferença quanto à efetividade, o resultado das notas não foi satisfatório, pois demonstram que houve elevado nível de dano. Isso pode ter ocorrido em decorrência da alta infestação da cultura pela praga ou pela época do início das aplicações, que não

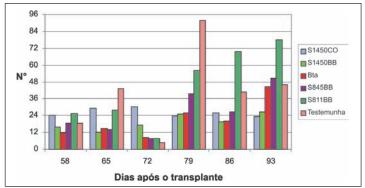


Figura 1. Número médio de furos causados pela traça-das-crucíferas nas quatro folhas centrais de repolho 'Itiban' durante seis semanas. Brazlândia-DF, Embrapa Recursos Genéticos, 2003.

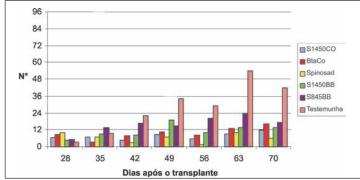


Figura 2. Número médio de furos causados pela traça-das-crucíferas nas quatro folhas centrais de repolho 'Itiban' durante sete semanas. Brazlândia-DF, Embrapa Recursos Genéticos 2004

**Tabela 1.** Avaliação do dano em repolho 'Itiban' por meio de escala de notas em função de cada tratamento para o controle de traça-das-crucíferas. Brazlândia-DF, Embrapa Recursos Genéticos, 2003-2004.

Tratamentos <sup>3</sup>	Média das notas¹	
	(Brazlândia-DF, 2003)	(Brasília-DF, 2004)
Spinosad comercial	-	1,90 a
S1450	3,14 b ²	1,97 a
Bta Comercial	2,56 a	2,00 a
S1450BB	3,28 b	2,18 a
S845BB	3,35 b	2,37 a
S811BB	3,43 c	-
Teste munha	3,48 c	3,25 b
CV%	9,14	9,71

<sup>1</sup>Escala de notas variando de 1 a 4, onde 1 = planta sem furo, 2= plantas com furos inferiores a 2 mm, 3= plantas com furos superiores a 2 mm, 4= plantas com perda total; <sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade; <sup>3</sup>CO= comercial; BB = formulação experimental

foi no 28° dia após o transplante e sim como o produtor sugeriu (58 dias após o transplante), ou seja, o controle começou após o início da formação das cabeças, o que é considerado tardio, pois esse período é a fase mais crítica (Villas Boas, 2003). Embora os resultados obtidos demonstrem que o melhor tratamento foi o produto Bta comercial, é importante salientar que os produtos formulados, exceto o S811BB não diferiram do S1450 comercial, mostrando que os isolados utilizados como base para a formulação têm potencial bioinseticida e que a formulação desenvolvida pela Bthek foi semelhante à formulação comercial.

No segundo experimento, foram realizadas quatro aplicações do produto a base de Spinosad, cinco do S1450 comercial, seis de Bta comercial e das estirpes formuladas S1450BB e S845BB (Figura 2). Na avaliação final através da atribuição de notas aos tratamentos, observou-se que todos os tratamentos não diferiram entre si, mas diferiram da testemunha, (Tabela 1). O produto comercial S1450CO e o formulado S1450BB foram desenvolvidos à base da mesma estirpe de B. thuringiensis sorotipo kurstaki, em concentrações semelhantes, diferindo apenas na formulação. Ainda que em suspensão concentrada, estas podem ser baseadas em diferentes componentes, particulares a cada empresa. É provável que o número de aplicações diferentes no segundo experimento se deva a inferioridade da formulação em teste, que neste caso foi muito exposta a chuva. O outro produto testado S845BB apresentou eficácia similar ao S1450BB, como no experimento anterior. O Bta comercial foi aplicado mais vezes que o S1450 comercial, sendo, portanto, aparentemente menos eficaz,

sob condições de ocorrência de precipitações. Esse fato indica que tanto a estirpe quanto a formulação podem ter influenciado na eficácia do produto. O mesmo fato foi relatado em trabalhos anteriores na mesma região (Monnerat & Bravo, 2000). O produto menos aplicado foi o formulado à base de spinosad, de forma semelhante aos resultados obtidos anteriormente na mesma região (Dias *et al.*, 2004).

O segundo experimento foi monitorado de forma mais adequada e as aplicações foram iniciadas no momento indicado, ou seja, no início da formação das cabeças. Este fato, associado à ocorrência de precipitação, deve ter contribuído para os menores danos observados. Embora os resultados obtidos com a formulação das estirpes tenham sido semelhantes aos produtos comerciais, novos estudos deverão ser conduzidos para melhorar a qualidade das formulações desenvolvidas para a obtenção de um produto tão eficiente quanto os formulados comerciais, que com o mesmo número de aplicações resultem no mesmo nível de controle.

#### REFERÊNCIAS

- CÁRDENAS MI; GALÁN-WONG L; FERRÉ-MANZANERO J; PEREYRA-ALFEREZ B. 2001. Selección de toxinas Cry contra Trichoplusia ni. Ciencia Uanl IV: 51-62.
- CASTELO BRANCO M. 1999. Avaliação da eficiência de formulações de *Bacillus* thuringiensis para o controle de traça-dascrucíferas em repolho no Distrito Federal. Horticultura Brasileira 17: 237-240.

- CASTELO BRANCO M; GATEHOUSE AG. 1997. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidóptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. In: SOCIEDA-DE ENTOMOLÓGICA DO BRASIL, 26. *Anais.*..Londrina.
- DIAS DGS; SOARES CMS; MONNERAT RG 2004. Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle de traça-das-crucíferas em couve-flor no Distrito Federal. Horticultura Brasileira 22: 387-390.
- FERRÉ J; REAL MD; VAN RIE J; JANSENS PM. 1991. Resistence to *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field populations of *Plutella xylostella* is due to a change in a midgut membrane receptor. *Proceedings of the National. Academy of Science* 88: 5119-5123.
- MONNERAT RS; MASSON L; BROUSSEAU R; PUSZTAL-CAREY M; BORDAT D; FRUTOS R. 1999. Differential activity and activation of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in diamondback moth, *Plutella xylostella*. Current Microbiology 39: 159-162.
- MONNERAT R; BRAVO A. 2000. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria Bacillus thuringiensis: modo de ação e resistência. In: MELO IS, AZEVEDO JL, (eds). Controle Biológico. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 163-2000.
- SILVA-WERNECK JO; MONNERAT R. 2001. Metodologias para caracterização de isolados de Bacillus thuringiensis. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 4p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular técnica, 10).
- TABASHNIK BE, 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. Annual Review of Entomology 39: 47-79.
- VASQUEZ BL. 1995. Resistance to most insecticides. In: WALKER TJ (eds). University of Florida of Insect Records. Chapter 15: Resistant to Most Insecticides: Department of Entomology & Nematology. University of Flórida, Gainesville, Flórida 32611-0620, http://ufbir.ifas.ufl.edu/ chap15.htm. Acessado em 8 de novembro de 2002.
- VILLAS BOAS GL. 2003. *Traça no repolho*. Brasília: Embrapa Hortaliças. Disponível em http://revistacultivar.locaweb.com.br/hf/artigo.asp?no=336. Acessado em 20 de setembro de 2003.