

SUSCETIBILIDADE DE *HELICOVERPA ZEA* (BODDIE) (LEP.:
NOCTUIDAE) A *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER (BACILLACEAE)

H.J.G. dos Santos Junior¹, E.J. Marques², R.A. Polanczyk¹, D. Pratissoli¹, V.M. Rondelli²

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Produção Vegetal/ Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário, Alto Universitário, s/nº, CEP 29500-000, Alegre, ES, Brasil. E-mail: hjsantosjr@hotmail.com

RESUMO

A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa para reduzir o impacto ocasionado pela adoção do uso intensivo de produtos químicos sintéticos, além de possibilitar a produção de alimentos mais saudáveis e que possam gerar mais renda ao produtor. A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner é uma excelente opção, uma vez que é específica e não é prejudicial ao homem. Este trabalho teve como objetivo avaliar 27 isolados de *B. thuringiensis* obtidos a partir de amostras de solos e duas formulações comerciais (Dipel[®] PM e Xentari[®] WG) visando sua utilização em programas de manejo de *Helicoverpa zea* (Boddie), analisando suscetibilidade, efeito subletal e a toxicidade por meio de estimativas da CL₅₀ em lagartas de primeiro instar. Os isolados B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 e os formulados proporcionaram mortalidades superiores a 94%, e os demais isolados ocasionaram mortalidades inferiores a 33,33%. A CL₅₀ variou entre 3 x 10⁴ a 1,2 x 10⁷ esporos/mL de *B. thuringiensis*. Os isolados B.t 6, B.t 12, B.t 15, B.t 16 e B.t 18 afetaram o desenvolvimento de *H. zea*, reduzindo o peso de lagartas e pupas. Entre os isolados, B.t 23 pode ser promissor para o controle de lagartas de *H. zea*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, bactéria entomopatogênica, lagarta-da-espiga.

ABSTRACT

SUSCEPTIBILITY OF *HELICOVERPA ZEA* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE) TO *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER (BACILLACEAE). The use of biological control agents is an alternative that can reduce the impact of intensive use of synthetic chemicals, therefore allowing for production of healthier food while generating more revenue for the growers. The entomopathogenic *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) is an excellent option due to its specificity and harmlessness to humans. The present study investigated the susceptibility, toxicity and sublethal effects of 27 *B. thuringiensis* isolates obtained from soil samples and 2 commercial formulations (Dipel[®] PM and Xentari[®] WG) to first-instar larvae of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae). The Bt isolates B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 and the commercial Bt formulations caused larval mortalities of over 94%. The other isolates caused mortalities under 33.33%. The LC₅₀ ranged from 3 x 10⁴ to 1.2 x 10⁷ spores mL⁻¹. In addition, the isolates B.t 6, B.t 12, B.t 15, B.t 16 and B.t 18 caused reduction in the weight of *H. zea* larvae and pupae. Among the isolates, B.t 23 has the potential to be used for the control of *H. zea* larvae.

KEY WORDS: Microbiological control, entomopathogen bacteria, corn earworm.

INTRODUÇÃO

Insetos-pragas, entre os quais *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), causam prejuízos em inúmeras culturas como, por exemplo, o algodão, milho e tomate que são consideradas culturas de importância sócio-econômica (GOULD *et al.*, 2002; NAULT; SPEESE III, 2002; GIOLO *et al.*, 2006; LEBEDENCO *et al.*, 2007). No milho, infestações de *H. zea* podem

chegar a 90% das espigas, reduzindo em até 8% a produtividade. No Brasil, alguns plantios de tomate sofrem danos da ordem de até 80%, inviabilizando a produção, quando o controle com agrotóxicos não é adotado (FRANÇA *et al.*, 2000; PINTO *et al.*, 2004).

O uso de inseticidas sintéticos é a principal tática para o controle de *H. zea*, porém a necessidade de produção de alimentos mais saudáveis vem estimulando e favorecendo o uso de medidas alternativas

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia - Entomologia, Recife, PE, Brasil.

aos inseticidas químicos. Entre essas, a utilização de agentes de controle biológico com a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae). (GLARE; O'CALLAGHAN, 2000; KARIM *et al.*, 2000; B OBROWSKI *et al.*, 2003; POLANCZYK; ALVES, 2003).

Entretanto, para obter sucesso na utilização de *B. thuringiensis* em programas de manejo de insetos-praga, é necessária a adoção de isolados eficientes. Logo, a seleção de isolados nativos pode fortalecer o desenvolvimento regional, uma vez que a maioria dos produtos disponíveis no mercado é importada e onera os custos de produção (POLANCZYK *et al.*, 2008).

A respeito deste assunto, trabalho realizado por ROGOFF *et al.* (1969) é um exemplo clássico, onde os autores avaliaram o potencial de diferentes isolados de *B. thuringiensis* visando o controle de alguns insetos-praga, dentre esses *H. zea*. A seleção de isolados de *B. thuringiensis* e, conseqüentemente, a descoberta de novas proteínas com atividade inseticida é uma forma de incrementar o manejo de insetos-praga (ESCUDEIRO *et al.*, 2004; MEDEIROS *et al.*, 2005).

Portanto, estudos que avaliem a suscetibilidade de insetos-praga a novos isolados de *B. thuringiensis* são de primordial relevância. Desta forma, este trabalho teve como objetivo selecionar o(s) isolado(s) de *B. thuringiensis* que apresentem potencial para o controle de *H. zea*, para serem incorporados em programas de manejo integrado.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), Alegre, ES, em sala climatizada ajustada para a temperatura de $26 \pm 1^\circ \text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12h.

Coleta e criação de *H. zea*. A coleta de *H. zea* foi realizada em plantios de milho, no Município de Alegre, ES ($20^\circ 45' 50'' \text{S}$ $41^\circ 31' 58'' \text{O}$), e a criação foi desenvolvida em sala climatizada ($26 \pm 2^\circ \text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h). Os adultos de *H. zea* foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidas internamente com folha de papel branco, com as extremidades fechadas com tecido do tipo "voil", sendo oferecida diariamente uma solução de mel a 10% como substrato alimentar. Os ovos de *H. zea* foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos e, após a eclosão, as lagartas foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) preenchidos até em 1/4 de seu volume com dieta artificial à base de feijão, germe de trigo e farelo de soja de acordo com GREENE *et al.* (1976). Após o resfriamento

da dieta, as lagartas foram transferidas para o tubo, sendo mantidas nestes recipientes até o período pupal.

Obtenção e multiplicação dos isolados de *Bacillus thuringiensis* (B.t). Foram utilizados 27 isolados de *B. thuringiensis* oriundos de amostras de solo e dois formulados comerciais à base de *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari® WG) e à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel® PM). Os isolados utilizados neste experimento foram provenientes da ESALQ/USP, os quais fazem parte do banco de entomopatógenos do NUDEMAFI do CCA-UFES. A multiplicação dos isolados foi realizada em meio LB - Luria-Bertani (extrato de levedura, peptona, cloreto de sódio, ágar e água destilada), procedendo com o isolamento da bactéria (papel filtro), por um período de 24 a 48 horas e, depois, sua multiplicação em placas cheias, durante 72 horas; ambas as fases foram realizadas em temperatura de 28°C . Posteriormente, as colônias foram removidas das placas com auxílio de espátula e transferidas para tubos plásticos, contendo 10 mL de água destilada estéril. Com o objetivo de eliminar as toxinas indesejáveis e restos de meio de cultura, procedeu-se a centrifugação de cada isolado por 20 minutos por três vezes (5.000 rpm) consecutivas, assim como do material proveniente do produto Xentari® WG (Bta). Após a última centrifugação, o material de cada isolado foi ressuspenso em água destilada estéril e a concentração foi ajustada para 3×10^8 esporos/mL⁻¹ com auxílio de câmara de Neubauer® e microscópio óptico. A concentração de Dipel® PM (Btk) foi ajustada para 3×10^8 esporos mL⁻¹ de acordo especificação do fabricante, procedimento que não foi possível ser adotado para o produto Xentari® WG, por não possuir a especificação de ingrediente ativo/grama, o que tornou necessário isolar a bactéria e adotar a metodologia empregada para a multiplicação dos isolados, utilizando o meio LB - Luria-Bertani (extrato de levedura, peptona, cloreto de sódio, ágar e água destilada), como descrito anteriormente no processo de multiplicação dos isolados.

Suscetibilidade de *Helicoverpa zea* ao *Bacillus thuringiensis*. Os ensaios foram realizados com bandejas confeccionadas com microtubos de acrílico de 3,0 cm x 2,0 cm de diâmetro, onde ¼ dos tubos foram preenchidos com a mesma dieta artificial, utilizada na fase de criação de *H. zea*. Posteriormente, 50 µL de cada isolado na concentração 3×10^8 esporos mL⁻¹ foi inoculado nos microtubos de acrílico contendo dieta artificial. Após a evaporação do excesso de umidade, 50 lagartas de primeiro instar foram acondicionadas individualmente, perfazendo desta forma 50 repetições por tratamento. O mesmo procedimento foi realizado para a testemunha, mas utilizando somente água destilada estéril sobre a dieta.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 30 tratamentos e 50 repe-

tições, perfazendo 1.500 insetos, sendo conduzido em sala climatizada ($26 \pm 1^\circ \text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12h) e avaliado até o 7º dia. A patogenicidade dos isolados e dos produtos à base de B.t sobre as lagartas foi avaliada diariamente, determinando a mortalidade e o tempo letal (TL_{50}), os quais foram aferidos em intervalos de 12, 24, 48, 72 e 96h; para a análise foram considerados apenas os isolados que apresentaram mortalidade superior a 90%. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scoot-Knot a 5% de probabilidade, utilizando o programa SAEG (versão 5.0). O TL_{50} foi determinado através do programa Micro-probit (versão 3.0) (HADDAD *et al.*, 1995).

Efeito subletal de *Bacillus thuringiensis* a *Helicoverpa zea*. Com o objetivo de observar possíveis efeitos subletais nos insetos sobreviventes, foi realizada a pesagem das lagartas e, posteriormente, das pupas. A pesagem das lagartas e de pupas foi realizada em balança analítica devidamente calibrada, onde um grupo de 20 insetos de cada tratamento que apresentou mortalidade inferior a 34% foi escolhido aleatoriamente. Os insetos foram individualizados em tubos de vidro similares aos utilizados para criação da praga e, ao atingirem o estágio pupal, foram novamente pesados. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scoot-Knot ($P = 0,05$) a 5% de probabilidade, utilizando o programa de análise estatística SAEG (versão 5.0).

Estimativa da Concentração Letal (CL_{50}). Os isolados de B.t que proporcionaram mortalidade superi-

or a 90%, assim como o produto Dipel® PM, foram submetidos a bioensaios para estimativa da CL_{50} onde foram utilizadas 100 lagartas de primeiro instar por tratamento, e as condições experimentais foram as mesmas do teste de suscetibilidade. Para cada isolado foram testadas seis concentrações, as quais foram estabelecidas em ensaios preliminares; para a testemunha utilizou-se água destilada estéril sobre a dieta. Cada tratamento foi composto por 700 lagartas, perfazendo 5.600 insetos. Os bioensaios foram avaliados diariamente, até o 5º dia após a aplicação. As CL_{50} foram estimadas com auxílio do programa computacional Mobae, através do Micro-probit (versão 3.0) (HADDAD *et al.*, 1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Suscetibilidade de *H. zea* a *B. thuringiensis*. A patogenicidade dos isolados de *B. thuringiensis* e os produtos Xentari® WG e Dipel® PM apresentaram resultados significativos ($P = 0,05$; $F = 163,78$; $GI = 28$), sendo que apenas os isolados B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 e os produtos comerciais proporcionaram mortalidades superiores a 94,1%; os demais isolados não apresentaram percentuais satisfatórios no controle de *H. zea* na concentração utilizada, com mortalidades inferiores a 33,3% (Tabela 1). Estes resultados denotam a importância da realização de testes de patogenicidade, pois permitem a identificação de isolados eficientes contra o inseto-alvo.

Tabela 1 - Mortalidade de *H. zea* por diferentes isolados de *B. thuringiensis* e dois formulados comerciais Xentari® WG e Dipel® PM. Temperatura: $26 \pm 1^\circ \text{C}$, UR de $65 \pm 5\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Mortalidade	Tratamentos	Mortalidade
B.t 21	100 \pm 0,00 A	B.t 10	9,8 \pm 0,04 C
B.t 23	100 \pm 0,00 A	B.t 13	9,8 \pm 0,04 C
B.t 25	100 \pm 0,00 A	B.t 14	9,8 \pm 0,04 C
B.t 26	100 \pm 0,00 A	B.t 18	7,8 \pm 0,04 C
B.t 27	100 \pm 0,00 A	B.t 17	5,9 \pm 0,03 D
B.t 28	98,0 \pm 0,02 A	B.t 1	3,9 \pm 0,03 D
Bta	98,0 \pm 0,02 A	B.t 2	3,9 \pm 0,03 D
Btk	98,0 \pm 0,02 A	B.t 5	3,9 \pm 0,03 D
B.t 11	94,1 \pm 0,03 A	B.t 6	3,9 \pm 0,03 D
B.t 24	33,3 \pm 0,07 B	B.t 7	3,9 \pm 0,03 D
B.t 16	15,7 \pm 0,05 C	B.t 9	3,9 \pm 0,03 D
B.t 20	13,7 \pm 0,05 C	B.t 3	1,9 \pm 0,02 D
B.t 15	11,7 \pm 0,05 C	B.t 4	1,9 \pm 0,02 D
B.t 19	11,7 \pm 0,05 C	B.t 12	0,0 \pm 0,00 D
B.t 8	9,8 \pm 0,04 C	Testemunha	0,0 \pm 0,00 D

¹Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra maiúsculas na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scoot-Knot, ao nível de 5% de significância.

Tabela 2 - Tempo letal (TL₅₀) em horas e intervalos de confiança para lagartas de 1º instar de *H. zea* infectadas por *B. thuringiensis*. Temperatura: 26 ± 1° C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 12h.

Tratamentos	Equação de regressão	TL ₅₀ (IC _{0,05})	χ ²⁽¹⁾
B.t 11	y = (4,0656) + 1,3409 * log x	4,97 (0,93 - 9,44)	0,43
B.t 21	y = (2,9433) + 2,0609 * log x	9,95 (5,69 - 13,64)	0,94
B.t 23	y = (3,6710) + 1,9393 * log x	4,84 (0,95 - 8,51)	0,92
B.t 25	y = (2,8809) + 2,5303 * log x	6,87 (2,02 - 10,15)	0,06
B.t 26	y = (3,5935) + 2,0409 * log x	4,88 (0,77 - 8,58)	1,49
B.t 27	y = (2,4594) + 2,8209 * log x	7,95 (3,26 - 10,94)	0,16
B.t 28	y = (3,6496) + 1,8224 * log x	5,50 (1,63 - 9,20)	0,20
Btk	y = (3,5845) + 1,7669 * log x	6,32 (2,44 - 10,08)	0,85
Bta	y = (3,7795) + 1,5083 * log x	6,44 (2,33 - 10,63)	2,38

n = 50 insetos/tratamento.

¹ Qui-quadrado não significativo.

Tabela 3 - Efeito subletal de diferentes isolados de *B. thuringiensis* no peso de lagartas e pupas de *H. zea*. Temperatura: 26 ± 1° C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 12h.

Tratamentos	Peso (g)	Tratamentos	Peso (g)
	Lagartas		Pupas
Testemunha	0,0255 ± 0,0011 A	Testemunha	0,5212 ± 0,01 A
B.t 1	0,0258 ± 0,0031 A	B.t 1	0,5151 ± 0,01 A
B.t 2	0,0238 ± 0,0035 A	B.t 2	0,5062 ± 0,01 A
B.t 3	0,0262 ± 0,0021 A	B.t 3	0,5241 ± 0,01 A
B.t 7	0,0263 ± 0,0014 A	B.t 4	0,5186 ± 0,02 A
B.t 8	0,0255 ± 0,0020 A	B.t 5	0,5127 ± 0,01 A
B.t 9	0,0263 ± 0,0018 A	B.t 7	0,5201 ± 0,01 A
B.t 10	0,0243 ± 0,0018 A	B.t 8	0,5186 ± 0,01 A
B.t 13	0,0262 ± 0,0018 A	B.t 10	0,5066 ± 0,01 A
B.t 14	0,0259 ± 0,0015 A	B.t 17	0,5037 ± 0,02 A
B.t 19	0,0261 ± 0,0019 A	B.t 20	0,5024 ± 0,02 A
B.t 4	0,0190 ± 0,0025 B	B.t 24	0,5265 ± 0,01 A
B.t 5	0,0204 ± 0,0022 B	B.t 6	0,4744 ± 0,04 B
B.t 12	0,0221 ± 0,0019 B	B.t 9	0,4783 ± 0,02 B
B.t 17	0,0206 ± 0,0023 B	B.t 12	0,4758 ± 0,01 B
B.t 15	0,0136 ± 0,0011 C	B.t 13	0,4552 ± 0,01 B
B.t 16	0,0122 ± 0,0010 C	B.t 14	0,4893 ± 0,01 B
B.t 18	0,0165 ± 0,0023 C	B.t 15	0,4623 ± 0,02 B
B.t 20	0,0110 ± 0,0012 C	B.t 16	0,4742 ± 0,02 B
B.t 6	0,0036 ± 0,0002 D	B.t 18	0,4813 ± 0,01 B
B.t 24	0,0051 ± 0,0005 D	B.t 19	0,4576 ± 0,02 B

¹Médias (± EP) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scoot-Knot, ao nível de 5% de significância.

O isolado B.t12 não apresentou nenhuma virulência para *H. zea* (Tabela 1), isso pode ser relacionado à falta de toxicidade do isolado. Estudos de ROGOFF *et al.* (1969) verificaram baixa mortalidade de *H. zea* ao avaliar isolados de B.t, dentre estes EPE-2000 de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* e o isolado HA-3 de *B.*

thuringiensis var. *aizawai*. AGUILAR-MEDEL *et al.* (2007) verificaram variabilidade de quatro populações distintas de *H. zea* em relação a sua suscetibilidade à δ-endotoxina de *B. thuringiensis* em diferentes concentrações, sendo que na concentração mais alta a mortalidade foi inferior a 43%.

Tabela 4 - Estimativa da CL_{50} de diferentes isolados e um formulado de *B. thuringiensis* em lagartas de *H. zea*. Temperatura: $26 \pm 1^\circ C$, UR de $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14h.

Tratamentos	Equação	CL_{50} (IC _{0,05})	$\chi^2(*)$
B.t 11	$y = (-8,4609) + 1,9906 * \log x$	$5,7 \times 10^6$; ($6,6 \times 10^6$; 5×10^6)	1,05
B.t 21	$y = (-6,9578) + 1,9087 * \log x$	$1,8 \times 10^6$; ($2,1 \times 10^6$; $1,5 \times 10^6$)	4,30
B.t 23	$y = (0,6654) + 0,9679 * \log x$	3×10^4 ; (4×10^4 ; $2,2 \times 10^4$)	6,63
B.t 25	$y = (-1,4345) + 1,2293 * \log x$	$1,7 \times 10^5$; ($2,2 \times 10^5$; $1,3 \times 10^5$)	1,13
B.t 26	$y = (-1,9206) + 1,2715 * \log x$	$2,7 \times 10^5$; ($3,7 \times 10^5$; 2×10^5)	3,19
B.t 27	$y = (-1,7649) + 1,2278 * \log x$	$3,2 \times 10^5$; ($4,4 \times 10^5$; $2,4 \times 10^5$)	6,05
B.t 28	$y = (-0,2815) + 0,8665 * \log x$	$1,2 \times 10^6$; ($1,8 \times 10^6$; $7,8 \times 10^5$)	6,91
Btk	$y = (-3,7712) + 1,2374 * \log x$	$1,2 \times 10^7$; ($1,5 \times 10^7$; $9,7 \times 10^6$)	3,83

N = 100 insetos/tratamento.

*n.s = não significativo.

Os valores obtidos para TL_{50} variaram entre 4,84 a 9,95h entre os isolados que apresentaram mortalidade superior a 90% (Tabela 2), sendo que para Dipel® PM e Xentari® WG os valores foram de 6,32 e 6,44h, respectivamente. A importância dessa análise pode ser correlacionada com a eficiência do isolado, pois aqueles que apresentam valores menores de TL conseguem matar o inseto-alvo mais rapidamente, sendo um dos pontos importantes a serem considerados na seleção. De acordo com a TL_{50} , os isolados B.t 23 e B.t 26 foram os mais eficientes (Tabela 2).

Efeito Subletal de *B. thuringiensis* a *H. zea*. Os isolados B.t 4, B.t 5, B.t 6, B.t 12, B.t 15, B.t 16, B.t 17, B.t 18, B.t 20 e B.t 24 promoveram a redução no peso das lagartas sendo significativamente inferior a testemunha ($P=0,05$; $F=13,69$; $GI=20$) (Tabela 3). Resultados similares foram encontrados por EIZAGUIRE *et al.* (2005), ao avaliarem o efeito subletal de *B. thuringiensis* sobre o desenvolvimento larval de *Sesamia nonagrioides* (Lefèbre) (Lepidoptera: Noctuidae) e por POLANCZYK; ALVES (2005) ao verificarem o efeito subletal de alguns isolados de *B. thuringiensis* a lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).

MASCARENHAS; LUTTRELL (1997) observaram redução no peso de lagartas de *H. zea* alimentadas com algodão B.t, o qual expressa a endotoxina Cry1A de *B. thuringiensis*, em comparação aos insetos alimentados com uma cultivar convencional de algodão.

PEDERSEN *et al.* (1997) e MOREAU; BAUCE (2003) verificaram que doses subletais de *B. thuringiensis* afetaram o desenvolvimento de *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae), reduzindo o peso das pupas. Assim como os trabalhos citados anteriormente, evidenciou-se a redução no peso das pupas ($P=0,05$; $F=1,46$; $GI=20$) de *H. zea* tratadas com os isolados B.t 6, B.t 9, B.t 12, B.t 13, B.t 14, B.t 15, B.t 16, B.t 18 e B.t 19. Sendo que B.t 1, B.t 2, B.t 3, B.t 4, B.t 7, B.t 8 e B.t 10 não afetaram o desenvolvimento larval e pupal de *H. zea* (Tabela 3). Resultados similares foram

encontrados por ERB *et al.* (2001) ao avaliarem o efeito subletal de *B. thuringiensis* sobre o desenvolvimento de *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Lymantriidae).

Estimativa da Concentração Letal Média (CL_{50}).

A concentração requerida para ocasionar a mortalidade de 50% da população de *H. zea* variou entre 3×10^4 a $1,2 \times 10^7$ esporos mL^{-1} de *B. thuringiensis*, sendo que o isolado B.t 23 foi o mais virulento, apresentando intervalo de confiança de 4×10^4 ($P=0,05$) e $2,2 \times 10^4$ esporos mL^{-1} ($P=0,05$) de B.t (Tabela 4). De acordo o intervalo de confiança houve resposta semelhante entre os isolados B.t 26 e B.t 27 (Tabela 4), apresentando toxicidade semelhante para as lagartas de *H. zea* de acordo os limites superiores e inferiores da CL_{50} (Tabela 3). Em relação ao produto Dipel® PM foi necessária concentração de $1,2 \times 10^7$ esporos mL^{-1} para ocasionar morte em 50% da população de *H. zea* (Tabela 4).

AMEEN *et al.* (1998) avaliaram a patogenicidade dos formulados Dipel ES®, Dipel 6AF® e Xentari AS® a lagartas de *H. zea*, sendo que Xentari AS® apresentou a CL_{50} superior aos demais, similarmente ao resultado encontrado neste trabalho (Tabela 4). AGUILAR-MENDEL *et al.* (2007) avaliaram a suscetibilidade de diferentes populações de *H. zea* a δ -endotoxina Cry2Ab através da análise de probit, concluindo que houve variação entre as populações avaliadas e a CL_{50} variaram entre 0,017 a 0,086 μg da δ -endotoxina mL^{-1} de dieta.

O isolado B.t 23 pode ser considerado promissor para o controle de lagartas de *H. zea*, uma vez que apresentou maior virulência em comparação aos demais. No entanto, estudos mais detalhados são necessários para validar a sua utilização no manejo de *H. zea*, tais como: caracterização, produção em larga escala; virulência a outros insetos-praga e efeitos sobre organismos benéficos, uma vez que o comportamento desse isolado em condições de campo pode sofrer variações mediante a influência de fatores bióticos e abióticos.

CONCLUSÕES

Os isolados B.t 1 a B.t 10, B.t 12 a B.t 20 apesar de pouco virulentos afetam o desenvolvimento de *H. zea*.

Os isolados B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27 e B.t 28 foram mais virulentos a *H. zea*; Mediante os resultados da CL50 e TL50 o isolado B.t 23 é considerado promissor no controle de *H. zea*.

AGRADECIMENTOS

À UFRPE e ao CCA-UFES, por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa. À CAPES, por ter concedido a bolsa de estudos ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-MEDEL, S.; RODRÍGUEZ-MACIEL, J.C.; DÍAZ-GÓMEZ, O.; MARTÍNEZ-CARRILLO, J.L.; LÓPEZ-COLLADO, J.; BLANCO, C.A.; LAGUNES-TEJEDA, A. Susceptibilidad de *Helicoverpa zea* (Boddie) a la δ -endotoxina Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Agrociencia*, v.41, n.6, p.653-662, 2007.
- AMEEN, A.O.; FUXA, J.R.; RITCHER, A.R. Antagonism between formulations of different *Bacillus thuringiensis* subspecies in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomological Science*, v.33, n.2, p.129-135, 1998.
- BOBROWSKI, V.L.; FIÚZA, L.M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Ciência Rural*, v.34, n.1, p.843-850, 2003.
- EIZAGUIRRE, M.; TORT, S.; LÓPEZ, C.; ALBAJES, R. Effects of sublethal concentrations of *Bacillus thuringiensis* on larval development of *Sesamia nonagrioides*. *Journal of Economic Entomology*, v.98, n.2, p.464-470, 2005.
- ERB, S.L.; BOURCHIER, R.S.; van FRANKENHUYZEN, K.; SMITH, S.M. Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). *Environmental Entomology*, v.6, n.30, p.1174-1181, 2001.
- ESCUADERO, I.R.; IBÁÑEZ, I.; PADILLA, M.A.; CARNERO, A.; CABALLERO, P. Aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus thuringiensis* procedentes de muestras de tierra de Canarias. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, v.30, n.4, p.703-712, 2004.
- FRANÇA, F. H.; VILLASBÔAS, G. L.; CASTELOBRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. Manejo integrado de pragas. In: SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. (Org.). *Tomate para processamento industrial*. Brasília: Embrapa-CNPQ/Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p.112-127.
- GIOLO, F.P.; BUSATO, G.R.; GARCIA, M.S.; MANZONI, C.G.; BERNADI, O.; ZART, M. Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.12, n.2, p.167-171, 2006.
- GLARE, T.R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley & Sons, 2000. 350p.
- GOULD, F.; BLAIR, N.; REID, M.; RENNIE, T.L.; LOPEZ, J.; MICINSKI, S. *Bacillus thuringiensis*-toxin resistance management: Stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.99, n.26, p.16581-16586, 2002.
- GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial médium. *Journal Economic Entomology*, v.69, n.4, p.487-488, 1976.
- HADDAD, M.L.; MORAES, R.C.B.; PARRA, J.R.P. Programa MOBAAE: Modelos bioestatísticos aplicados à entomologia. (software). Piracicaba: ESALQ/USP, 1995. 44p.
- KARIM, S.; RIAZUDDIN, S.; GOULD, F.; DEAN, D. H. Determination of receptor binding properties of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins to cotton bollworm (*Helicoverpa zea*) and pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) midgut brush border membrane vesicles. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.67, n.3, p.198-216, 2000.
- LEBEDENCO, A.; AUAD, A.M.; KRONKA, S.N. Métodos de controle de lepidópteros do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Acta Scientiarum Agronomy*, v.29, n.3, p.339-344, 2007.
- MASCARENHAS, V.J.; LUTTRELL, R.G. Combined effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Environmental Entomology*, v.26, n.4, p.939-945, 1997.
- MEDEIROS, P.T.; FERREIRA, M.C.; MARTINS, E.S.; GOMES, A.C.M.M.; FALCÃO, R.; SOUZA DIAS, J.M.C.; MONNERAT, R.G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.11, p.1145-1148, 2005.
- MOREAU, G.; BAUCE, E. Lethal and sublethal effects of single and double applications of *Bacillus thuringiensis*

variety *kurstaki* on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) larvae. *Journal Economic Entomology*, v.96, n.2, p.280-286, 2003.

NAULT, B.A.; SPEESE III, J. Major insects pests and economics of fresh-market tomato in eastern Virginia. *Crop Protection*, v.21, n.5, p.359-366, 2002.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H.N. *Pragas e insetos benéficos do milho*. Piracicaba: Esalq/USP, 2004. 108p.

PEDERSEN, A.; DEDES, J.; D. GAUTHIER D.; VAN FRANKENHUYZEN K. Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.83, n.3, p.253-262, 1997.

POLANCZYK, R.A.; ALVES, S.B. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. *Agrociencia*, v.7, n.2, p.1-10, 2003.

POLANCZYK, R.A.; ALVES, S.B. Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Scientia Agrícola*, v.62, n.5, p.464-468, 2005.

POLANCZYK, R.A.; VALICENTE, F.H.; BARRETO, M.R. Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina. In ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba, FEALQ, 2008. Cap. 4, 414p.

ROGOFF, M.H.; IGNOFFO, C.M.; SINGER, S.; I. GARD; PRIETO, A.P. Insecticidal activity of thirty-one strains of *Bacillus thuringiensis* five insect species. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.14, n.2, p.122-129, 1969.

Recebido em 13/2/09

Aceito em 5/10/09