

SUSCEPTIBILIDADE DE LARVAS DE 1º ESTÁDIO DE *Anagasta kuehniella* (ZELLER, 1879) (LEP., PYRALIDAE) A *Bacillus thuringiensis* VAR. *kurstaki*

Benedicto Ferreira do Amaral Filho¹
Mohamed E.M. Habib¹

INTRODUÇÃO

Anagasta kuehniella é considerada uma praga de grande importância econômica que, além de danificar cereais e subprodutos armazenados, causa sérios problemas nos moinhos, obstruindo as tubulações e elevadores das fábricas, com massas de farinha formadas pelos fios de seda que as larvas tecem (METCALF & FLINT, 1981). O controle dessa espécie tem sido elaborado com produtos químicos, que, devido ao uso exclusivo e inadequado, prejudica o homem e o ambiente, causando efeitos colaterais. HABIB (1968), AFIFY et alii (1970), YAMVRIAS (1962), ROSSI (1990), CARVALHO (1991) demonstraram a utilização de controle microbiano dessa praga com a bactéria *Bacillus thuringiensis*. No Brasil, PALEARI et alii (1980) isolaram uma raça geográfica de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* além do protozoário *Mattesia dispora* (Sporozoa; Neogregarinidae) de larvas de *A. kuehniella*, demonstrando grande possibilidade de uso de agentes patogênicos para o seu controle.

Mediante essas possibilidades, estabeleceu-se no Setor de Entomologia/Zoologia/UNICAMP, um programa de trabalho para verificar a susceptibilidade a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* de lepidópteros pragas de grãos armazenados. Este trabalho inicial tem por objetivo verificar a susceptibilidade da primeira fase larval de *A. kuehniella* a esse sorotipo H-3a:3b.

¹ Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, UNICAMP, Caixa Postal 6109 - 13081-970 Campinas-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Patologia de Insetos, do Departamento de Zoologia, UNICAMP, a partir de uma população criada e mantida de acordo com o descrito por AMARAL FILHO & HABIB (1990).

Para o estudo de patologia, foram analisadas as respostas de larvas a infecções através de bioensaios onde o indicador usado foi o passo final da bacteriose, ou seja, a mortalidade provocada pelo patógeno. Tais respostas foram avaliadas tanto em função do tempo para uma determinada concentração (TL₅₀), como em função da concentração após um determinado tempo (CL₅₀).

Três produtos comerciais (Bactospeine, Dipel e Thuricide) além do isolado Zoocamp-78 foram usados em diferentes concentrações (0,188%, 0,708% e 2,659%) e tempos de exposição em horas: 65,0; 90,0 e 126,0. Tais tempos de exposição e concentrações foram estabelecidos por experimentos preliminares, através dos quais foram eliminadas as sub e super (doses ou tempos).

Cada concentração foi oferecida a 40 larvas de 1º estágio (peso médio 1,72 mg) em 2 placas de Petri (20 larvas por placa), cada uma com 9,0 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, contendo 2 g de mistura produto/dieta. O mesmo número de larvas foi usado para controle (testemunha). Todos os bioensaios foram realizados nas mesmas condições de temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e U.R. ($70 \pm 10\%$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao tempo letal mediano (TL₅₀) de larvas de 1º estágio de *A. kuehniella* submetidas a diferentes concentrações dos 4 preparados à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* são apresentados na TABELA I. Verifica-se que à medida em que se aumentava a concentração, diminuía o tempo letal mediano, com diferenças significativas entre os tratamentos de cada preparado. Dados semelhantes foram obtidos por KANTACK (1959) e HABIB (1982) com larvas de *Plodia interpunctella*.

TABELA I. Tempo letal mediano (TL₅₀) e intervalo de confiança, de larvas de 1º estágio de *Anagasta kuehniella* tratadas com 3 concentrações de 4 preparações dos à base do sorotipo H-3a:3b.

Preparado	0,188%		0,708%		2,659%	
	TL ₅₀ (horas)	Intervalo (horas)	TL ₅₀ (horas)	Intervalo (horas)	TL ₅₀ (horas)	Intervalo (horas)
Zoocamp-78	74,73	68,71 - 81,29	49,18	43,02 - 56,22	46,44	44,27 - 48,73
Bactospeine	88,54	68,46 - 114,53	62,16	57,99 - 66,62	47,08	44,05 - 50,32
Dipel	109,15	55,32 - 215,33	87,30	80,68 - 94,47	57,50	52,19 - 63,36
Thuricide	129,39	96,21 - 174,01	95,51	78,95 - 115,54	62,23	61,38 - 72,69

Na concentração 0,188% o isolado Zoocamp-78 teve o menor TL₅₀ (74,73 h), indicando maior virulência em relação aos demais produtos, vindo em 2º lugar o produto Bactospeine (TL₅₀ = 88,54 h), em 3º Dipel (TL₅₀ = 109,15 h) e em último Thuricide (TL₅₀ = 129,39 h).

Entre os produtos Dipel e Thuricide, embora com tempos letais medianos numericamente diferentes para a mesma concentração, não houve diferença significativa quanto à eficiência.

A resposta das larvas de 1º estágio de *A. kuehniella* à concentração de 0,708%, demonstra que o isolado Zoocamp-78 continua sendo o mais eficiente, com o menor tempo letal, significativamente diferente dos obtidos com os demais produtos. Bactospeine manteve o 2º lugar, com uma diferença significativa em relação aos resultados obtidos com Dipel e Thuricide. Estatisticamente, não houve diferença significativa quanto ao tempo letal obtido com o isolado Zoocamp-78 e Bactospeine. No entanto, houve diferença significativa quando comparados com os tempos letais obtidos por Dipel e Thuricide. Entre os produtos Dipel e Thuricide também houve diferença significativa.

Ao compararmos os valores de TL₅₀ obtidos no presente trabalho, com CARVALHO (1991) que trabalhou com larvas de 3º e 5º estádios de *A. kuehniella*, verifica-se que os TL₅₀ que obtivemos são bem inferiores quando comparados com doses semelhantes. Isso indica a importância de determinar o estágio larval do inseto para estudos de susceptibilidade, principalmente aqueles que visam à padronização de produtos microbianos, para obtenção de critérios de comparação mais precisos. Normalmente, as larvas de 1º estágio são recomendadas para esta finalidade por responderem de forma mais homogênea que as larvas de idades mais avançadas (STEINHAUS, 1963; BURGERJON, 1964; DULMAGE, 1973; HABIB, 1982).

YAMVRIAS (1962), HABIB (1968), AFIFY et alii (1970) e McGAUGHEY (1978) acreditam que as larvas de 1º estágio sejam mais susceptíveis em comparação com as larvas de estádios subseqüentes, motivo pelo qual sugerem que as operações de combate devam ser dirigidas principalmente contra

este estágio. Entretanto, alguns pesquisadores acreditam que a idade não interfira na resposta comparativa do inseto a diferentes linhagens do mesmo patógeno (AFIFY & MERDAN, 1979; BEEGLE *et alii*, 1981).

As concentrações letais medianas (CL_{50}), obtidas nos bioensaios com larvas de 1º estágio de *A. kuehniella*, após 3 tempos de exposição aos produtos comerciais utilizados e ao isolado Zoocamp-78, encontram-se na TABELA II. Como esperado, as larvas de *A. kuehniella*, responderam à diminuição da CL_{50} por aumento no tempo letal.

Os valores da CL_{50} para cada produto a diferentes períodos de exposição apresentaram uma diferença significativa, exceto quanto ao isolado Zoocamp-78, entre o tempo de exposição de 90,0 horas ($CL_{50} = 0,046\%$) e 126,0 horas ($CL_{50} = 0,022\%$).

Em relação à eficiência dos produtos, pode-se verificar que após 65,0 horas de exposição, o isolado Zoocamp-78 apresentou a menor concentração letal mediana ($CL_{50} = 0,227\%$), sem diferença significativa com a de Bactospeine ($CL_{50} = 0,266\%$), porém significativa com os demais produtos.

Em 2º lugar, Bactospeine mostrou diferença significativa em relação aos produtos Dipel e Thuricide que ocuparam o 3º e 4º lugares, respectivamente. Entre estes dois produtos, apesar de Thuricide apresentar uma CL_{50} de 3,096% e Dipel CL_{50} de 1,773%, não houve diferença significativa.

Após 90,0 horas de exposição, a ordem de eficiência dos produtos manteve-se a mesma, inclusive o isolado Zoocamp-78 mostrando-se o mais eficiente em relação aos demais.

Com 126,0 horas de exposição, os resultados obtidos para CL_{50} demonstram a permanência da mesma ordem, sendo que a CL_{50} de Bactospeine (0,049%) e a de Dipel (0,081%), não apresentaram diferença significativa.

Mediante os resultados obtidos, conclui-se que *A. kuehniella* é susceptível a *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, sendo que o preparado Zoocamp-78 demonstrou ser mais efi-

TABELA II. Concentração letal mediana (CL₅₀) e intervalo de confiança para larvas de 1º estágio de *Anagasta kuehniella* após 3 tempos de exposição aos 4 preparados à base do sorotipo H-3a:3b.

Preparado	65,0 h		90,0 h		126,0 h	
	CL ₅₀ %	Intervalo %	CL ₅₀ %	Intervalo %	CL ₅₀ %	Intervalo %
Zoocamp-78	0,227	0,097 - 0,533	0,046	0,021 - 0,101	0,022	0,005 - 0,091
Bactospeine	0,266	0,127 - 0,559	0,095	0,065 - 0,138	0,049	0,025 - 0,095
Dipel	1,773	0,274 - 11,465	0,396	0,220 - 0,713	0,081	0,029 - 0,225
Thuricide	3,096	1,568 - 6,116	0,520	0,369 - 0,734	0,200	0,079 - 0,505

ciente no controle dessa praga, nas 3 concentrações e nos 3 tempos de exposição, em comparação aos demais. A correlação negativa, verificada entre as diversas concentrações e tempos letais medianos, indicou haver homogeneidade de amostras de larvas utilizadas nos bioensaios, assim como na mistura do produto com dieta oferecida às larvas. Esta resposta das larvas confirma a recomendação de utilizar sempre larvas de 1º estágio para esse tipo de estudo.

RESUMO

A susceptibilidade de *Anagasta kuehniella* a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* foi estudada, verificando a resposta de larvas de 1º estágio a infecções em bioensaios onde o parâmetro usado foi a mortalidade provocada pelo patógeno.

Foram utilizados 3 produtos comerciais e o isolado Zoocamp-78, em diferentes concentrações e tempos de exposição. Concluiu-se que *A. kuehniella* é susceptível a *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, que as larvas de 1º estágio, respondem com melhor precisão a esse tipo de experimento e que o isolado Zoocamp-78 foi o que melhor atuou no controle dessa praga de grãos armazenados.

Palavras-chave: *Anagasta kuehniella*, *Bacillus thuringiensis*, infecção em larvas.

SUMMARY

SUSCEPTIBILITY OF THE FIRST INSTAR LARVAE *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (LEPID., PYRALIDAE) TO *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

Susceptibility of the 1st instar larvae of *A. kuehniella* was determined by means of bioassays, realized under laboratory conditions.

Different concentrations of three commercial products and one isolate (Zoocamp-78) were utilized in the bioassays. LD₅₀ and LT₅₀ criteria were considered.

The isolate Zoocamp-78 showed to be more virulent

than the commercial products. The 1st instar larvae reacted homogenously within each treatment.

Key words: *Anagasta kuehniella*, *Bacillus thuringiensis*, infection of larvae.

LITERATURA CITADA

- AFIFY, A.M. & A.I. MERDAN, 1969. On tracing the response of some egyptian cotton worms in different larval ages to *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Z. Ang. Entomol.*, **63**: 263-267.
- AFIFY, A.M.; S. EL-SAWAF; S.M. HAMMAD & M.E.M. HABIB, 1970. Increase of tolerance to bacterial insecticides with larval development of *Anagasta kuehniella* Z., in relation to its microbial control. *Z. Ang. Entomol.*, **65**: 14-19.
- AMARAL FILHO, B.F. & M.E.M. HABIB, 1990. Biologia de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1789) (Lepidoptera, Pyralidae): *Rev. de Agric.*, Piracicaba, **65**(2): 133-143.
- BEEGLE, C.C.; L.C. LEWIS; R.E. LYNCH & A.J. MARTINEZ, 1981. Interaction of larval age and antibiotic on the susceptibility of three insect species to *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.*, **37**: 143-153.
- BURGERJON, A., 1964. Les méthodes de titrage et la standardisation des préparations de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Entomophaga, Mém.*, **2**: 255-262.
- CARVALHO, G.A., 1991. **Patogenicidade de dois formulados à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sorotipo H-3a:3b em larvas de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lep.:Pyralidae).** Campinas, Pontifícia Universidade Católica de Campinas. 54p. (Monografia).
- DULMAGE, H.T., 1973. Assay and standardization of microbial insecticides. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **217**: 187-199.
- HABIB, M.E.M., 1968. Histopathological Studies on the Effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner, on the Mediterranean Flour Moth, *Anagasta kuehniella* Zeller. Alexandria, Egito. 196p. (Mestrado - Faculdade de Agric. Universidade de Alexandria).

- HABIB, M.E.M., 1982. Patogenicidade de Duas Variedades de *Bacillus thuringiensis* Berliner para Larvas de Lepidoptera e Diptera. Campinas. 163p. (Livre-Docência - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas).
- KANTACK, B.H., 1959. Laboratory studies with *Bacillus thuringiensis* Berliner and its possible use for control of *Plodia interpunctella* (Hbn.). *J. Econ. Entomol.*, 52 (6): 1226-1227.
- McGAUGHEY, W.M.H., 1978. Effects of larval age on the susceptibility of almond moths and Indianmeal moths to *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.*, 71: 923-925.
- METCALF, C.L. & W.P. FLINT, 1981. **Insects Destructives e Insects Utiles. Sus Costumbres y su Control.** México, Comp. Ed. Cont. S.A. 1208p.
- PALEARI, L.M.; M.E.M. HABIB & M.A. GARCIA, 1980. Isolamento, purificação e bioensaios de uma linhagem de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., Campinas. **Resumos.** p.356.
- ROSSI, P.E., 1990. **Estudos Patológicos em Larvas de *Anagasta kuehniella* Zeller, 1879, infectadas por *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (H-3a:3b).** São Carlos, Universidade Federal de São Carlos. 29p. (Monografia).
- STEINHAUS, E.A., 1963. **Insect Pathology - An Advanced Treatise.** New York, Academic Press. V. 1, 661p. V.2, 689p.
- YAMVRIAS, C., 1962. Contribution a l'étude du mode d'action de *Bacillus thuringiensis* Berliner vis-a-vis de la teigne de la farine *Anagasta (Ephestia) kuehniella* Zeller (Lépidoptere). **Entomophaga**, 7: 101-159.