

Toxicidade de *Bacillus thuringiensis aizawai* e inseticidas reguladores de crescimento para *Urbanus acawoios* Willams (1926)

Jaconias Escócio Lima Neto^{1*}, Guilherme Gomes Rolim², Susanne Lúcia Silva de Maria³, Sara Yuri Medeiros Watanabe⁴, Herbert Álvaro Abreu de Siqueira⁵

Resumo

Surtos de pragas em áreas urbanas quase sempre passam incólume por falta de medidas de controle. O uso de inseticidas com baixo impacto ambiental pode ser uma alternativa adequada a tais situações. Este trabalho estimou a toxicidade de *Bacillus thuringiensis* subsp. *Aizawai* (Bta), lufenurom e metoxifeno-zida para *Urbanus acawoios* (Williams, 1926) (Lepidoptera: Hesperidae) e a eficiência das doses de rótulo dos referidos inseticidas indicadas para *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Para tanto, lagartas de segundo instar de *U. acawoios* foram coletadas de plantas de *Clitoria fairchildiana* Howard para os bioensaios de dose-resposta pelo método de imersão de folha. A mortalidade foi avaliada após 96 horas e submetidas à análise de Probit. As CL_{50s} obtidas foram 0,64; 0,75 e 0,83 mg i.a./L para lufenurom, metoxifeno-zida e Bta, respectivamente. Não houve diferença significativa de toxicidade entre os inseticidas. A mortalidade nas doses de rótulo foi igual a 100% para todos os inseticidas e quando essas doses foram diluídas 100 vezes a percentagem de mortalidade ainda foi acima de 80%. Os inseticidas testados têm potencial para controle de *U. acawoios* em condições de campo.

Palavras-chave: Concentração-mortalidade. Lagarta do sombreiro. Suscetibilidade.

Toxicity of *Bacillus thuringiensis aizawai* and growth regulating insecticides for *Urbanus acawoios* Willams (1926)

Abstract

Outbreaks of pests in urban areas often pass unscathed through lack of control measures. The use of insecticides with low environmental impact can be a suitable alternative to such situations. This study estimated the toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Aizawai* (Bta), lufenurom and methoxyfenozide to *Urbanus acawoios* (Williams, 1926) (Lepidoptera: Hesperidae) and the efficiency of field doses the said insecticides registered to *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) at control of *U. acawoios*. Therefore, second instar larvae of *U. acawoios* were collected in *Clitoria fairchildiana* Howard trees for

¹Doutor em Entomologia Agrícola - Departamento de Agronomia, Entomologia. Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife – PE

*Autor para correspondência: nirolima@hotmail.com

²Doutorando em Entomologia Agrícola - Departamento de Agronomia, Entomologia. Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife – PE

³Doutoranda em Zoologia - Laboratório de Ecologia e Zoologia de Vertebrados, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Campus Guamá, Belém, PA

⁴Acadêmica do curso de Agronomia – Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Capitão Poço – PA

⁵Docente no departamento de Agronomia, Entomologia. Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife – PE

Recebido para publicação em 29 de novembro de 2016

Aceito para publicação em 11 de dezembro de 2016

the leaf dip bioassays. Mortality was assessed after 96 hours and subjected to Probit analysis by PO-LO-PLUS program. The LC_{50s} obtained were 0.64, 0.75 and 0.83 mg a.i./L for lufenuron, methoxyfenozide and Bta, respectively. There was no significant difference in toxicity between the insecticides. The mortality of the field doses was equal to 100% for all insecticides and when these doses were diluted 100 times the percent mortality was still above 80%. The insecticides tested have potential to control of *U. acawoios* in field conditions.

Keywords: Concentration-mortality. Sombreiro's caterpillars. Susceptible.

Introdução

A espécie *Clitoria fairchildiana* Howard, popularmente conhecida como sombreiro, pertence à família Fabaceae cuja origem provável é a região Amazônica (MARTINS, 1988). Esta espécie florestal é hospedeiro natural de *Urbanus acawoios* (WILLIAMS, 1926) (Lepidoptera: Hesperidae), vulgarmente conhecida como lagarta cabeça palito-de-fósforo, que possui grande potencial de desfolha (TREVISAN et al., 2004). Este inseto-praga é considerado uma espécie polífaga e pode ocasionar desfolha total por ocasião de surtos populacionais, o que pode variar de períodos anuais a quinquenais (WENDT; CARVALHO, 2006). *Urbanus acawoios* possui desempenho diferenciado dependendo do hospedeiro. Pinto e Carvalho (2001), verificaram que a sobrevivência deste pierídeo variou entre as cultivares de feijão cavalo, vermelho, manteiga e roxo. Além disso, observaram que a medida que passaram-se os instares as lagartas aumentaram em até quatro vezes mais seu peso, o que resultou em considerável perda de área foliar.

A partir da década de 1990, houve um aumento no número de registros de *U. acawoios* em leguminosas de importância agrícola, como o feijoeiro, *Phaseolus vulgaris* L. (WENDT; CARVALHO, 2006). Dentre as alternativas de controle de pragas, o controle químico é o mais utilizado. No entanto, a maioria dos grupos de inseticidas possui um amplo espectro de ação, é o caso dos organofosforados, carbamatos e piretroides. No entanto, a obtenção de novas moléculas com diferentes modos de ação e de risco reduzido para o ambiente tem surgido no cenário agrícola para mitigar os problemas gerados pelos insetos praga. Neste contexto, destaca-se importantes lepidopterídeos como *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Biológico) (OLIVEIRA et al., 2011) e espinetoram (espinosina) (LIMA NETO et al., 2016) para populações suscetíveis de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Assim como os inseticidas reguladores de crescimento, metoxifenozida (WAN-

GEN et al., 2015) e lufenuron (BOLONHEIZ et al., 2010) para *Spodoptera frugiperda* (Smith). Portanto, tais inseticidas de risco reduzido são mais interessantes para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), já que este tem como finalidade diminuir a pressão de inseticidas e o impacto destes nos agroecossistemas.

No primeiro semestre de 2015 houve um surto populacional de *U. acawoios* na região metropolitana de Recife (PE) e muitas plantas de *C. fairchildiana* sofreram 100% de desfolha. Este hesperídeo não possui registro de inseticidas para seu controle no Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o que seria interessante para os produtores de muda. Como se trata de uma praga urbana é relevante investigar a toxicidade de inseticidas de risco reduzido. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a toxicidade de *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta), lufenuron e metoxifenozida para *U. acawoios*, bem como, verificar a eficiência de controle nas doses de rótulo indicadas para *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho.

Material e métodos

As larvas de segundo instar de *U. acawoios* foram coletadas de plantas de *C. fairchildiana* localizadas na área da UFRPE. Em seguida foram levadas para o Laboratório de Interação Inseto-Tóxicos (LIIT) do Departamento de Agronomia da UFRPE.

Os bioensaios foram conduzidos de acordo com a adaptação do método de imersão de folhas nº 018 do *Insecticide Resistance Action Committee* IRAC. Neste sentido, os bioensaios de concentração-mortalidade foram realizados após um pré-teste com os inseticidas Bta (Xentari - inseticida biológico), que tem na sua formulação toxinas Cry1C, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1D e Cry2B (KOZIEL et al., 1993), lufenuron (Match – regulador de crescimento) e metoxifenozida (Intrepid – acelerador de ecdise) para

obtenção do intervalo de doses que causassem mortalidade entre 0 e 100%. Em seguida, seis concentrações foram formuladas para obtenção da curva de concentração-mortalidade para cada inseticida. Em cada concentração foi adicionada 0,01% de Triton (X-100) como surfactante, sendo que o controle foi apenas água e surfactante. Para cada concentração dois discos de folhas jovens de *C. fairchildiana*, com 5 cm de diâmetro, foram imersos e colocados para secar em temperatura de sala. Os discos foram individualizados em placas de Petri (60 x 15 mm) contendo papel filtro (5 cm de diâmetro) umedecidos com água. No mínimo, dez lagartas de segundo ínstar foram transferidas para cada placa com o auxílio de pincel. A medida que as folhas eram consumidas, a substituição era feita por outras livres de inseticida. Todos os bioensaios tiveram duas repetições e foram mantidos em câmaras climáticas (B.O.D) com temperatura de $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$, U.R. de $65 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12 h. Larvas de segundo ínstar foram expostas às doses de rótulo de Bta (500 mg i.a./L), lufenuron (50 mg i.a./L) e metoxifenoza (240 mg i.a./L) indicadas para controle de *P. xylostella* na cultura do repolho. Além disso, apoiados na hipótese

de suscetibilidade, essas doses foram diluídas 100 vezes para cada inseticida, utilizando-se, no mínimo, 150 larvas para cada concentração através do método descrito anteriormente.

A mortalidade foi avaliada após 96 horas de exposição aos inseticidas. O critério de mortalidade baseou-se nas lagartas que não conseguiram mover-se por pelo menos a extensão do seu comprimento. Os dados de mortalidade foram corrigidos, quando necessário, pela mortalidade do controle (ABBOTT, 1925) e submetidos à análise de Probit (FINNEY, 1971) utilizando o programa POLO – PLUS (LEORA-SOFTWARE, 2005).

Resultados e discussão

Os dados de mortalidade das lagartas de *U. acawoios* resultaram nas curvas de dose-resposta para Bta, lufenuron e metoxifenoza, as quais se ajustaram ao modelo de Probit (χ^2 não significativo, $P > 0,05$) (TABELA 1). A homogeneidade dos indivíduos foi mais evidente quando expostos a lufenuron, já que este parâmetro é verificado pela maior inclinação da curva (3,74).

Tabela 1 – Toxicidade de lufenuron, metoxifenoza e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta) para lagartas de segundo ínstar de *U. acawoios*. Temperatura: $25 \pm 1^\circ\text{C}$; U.R.: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 12h.

Inseticida	n ^a	GL(χ^2) ^b	Inc. $\pm$ EP ^c	CL ₅₀ (IC95%) ^d	CL ₉₅ (IC95%) ^d	RT ₅₀ (IC95%) ^e
Lufenuron	217	4(1,7)	3,74 $\pm$ 0,82	0,64(0,40-0,80)	1,76(1,27-3,40)	1,00(0,65-1,53)
Metoxifenoza	293	4(3,8)	3,02 $\pm$ 0,51	0,75(0,50-1,00)	2,62(1,80-5,10)	1,16(0,94-1,43)
Bta	203	5(4,5)	1,56 $\pm$ 1,43	0,83(0,10-1,70)	9,30(4,20-71,5)	1,28(0,50-3,24)

a Número de indivíduos testados. b Graus de liberdade e qui-quadrado. c Erro padrão da Inclinação da curva. d Intervalo de confiança a 95% de probabilidade. e Razão de toxicidade: razão das estimativas da CL50 entre inseticidas, calculada através do método de Robertson & Preisler (1992) e intervalo de confiança a 95% das estimativas da CL50. * Razão de toxicidade significativa entre inseticidas uma vez que o intervalo de confiança não compreende o valor 1,0

Fonte: Elaborada pelos autores, 2016.

As CL_{50s} mostraram que lufenuron foi o inseticida mais tóxico (0,64 mg i. a./L). As CL_{50s} estimadas sugerem que a população de *U. acawoios* são suscetíveis àqueles inseticidas quando comparados com os trabalhos de Santos *et al.* (2011) com *P. xylostella* e Nogueira e Habib (2001) com *U. acawoios*, para lufenuron e *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, respectivamente. A suscetibilidade de *U. acawoios* verificada neste trabalho para metoxifenoza foi semelhante à encontrada para *Spodoptera exigua* (Hubner) (OSORIO *et al.*, 2008) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (OWEN *et al.*, 2013).

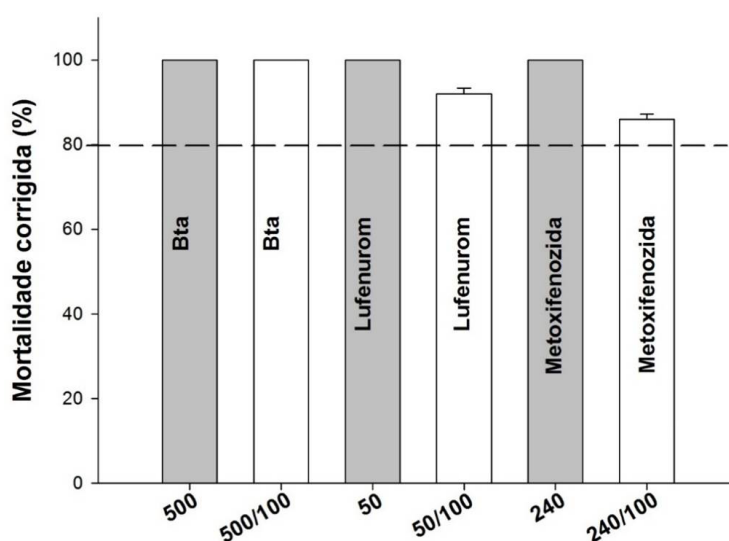
A toxicidade entre os inseticidas não diferiu, pois todos os intervalos de confiança de razão de toxicidade (RT) incluíram o valor 1,0 (ROBERTSON *et al.*, 2007) (TABELA 1). Provavelmente os indivíduos bioensaiados não foram expostos previamente às moléculas testadas, além do mais, os surtos de *U. acawoios* contribuem para a manutenção da variabilidade genética e consequentemente de indivíduos suscetíveis.

As baixas CL_{95s} estimadas sugerem que estes inseticidas são promissores para o controle de *U. acawoios*. Além disso, a mortalidade

larval obtida nas doses de rótulo foram iguais a 100% para todos os inseticidas (Bta, lufenurom e metoxifenoizida) (GRÁFICO 1). Quando essas doses foram diluídas 100 vezes a percentagem de mortalidade ainda foi acima de 80% (100, 92 e 86% para Bta, lufenurom e metoxifenoizida, respectivamente), que é o mínimo exigido pelo

Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Caso esses inseticidas venham a ser utilizados futuramente para o controle de *U. acawoios*, é relevante a utilização moderada dos mesmos para a manutenção de populações suscetíveis.

Gráfico 1 – Mortalidade de indivíduos de *U. acawoios* submetidos às doses de rótulo de Bta, lufenurom e metoxifenoizida indicadas para *P. xylostella* em repolho, seguida da mortalidade obtida quando as doses de rótulo foram diluídas 100 vezes. As concentrações estão em miligramas de ingrediente ativo por litro (mg i. a. /L)



Fonte: Elaborado pelos autores, 2016.

É importante salientar que a eficiência destes inseticidas foi verificada em condições de laboratório e somente para lagartas de segundo ínstar, sendo assim, é relevante que experimentos em condições de campo sejam conduzidos para avaliar o potencial de controle em tais condições e para diferentes ínstaes, já que os últimos ínstaes (quarto e quinto) de *U. aca-*

woios são os que possuem maior consumo foliar (SILVA; CARVALHO, 2004).

Conclusão

A população de *U. acawoios* foi suscetível para lufenurom, metoxifenoizida e Bta. Portanto, esses inseticidas têm potencial para o controle de *U. acawoios*.

Referências

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18 n. 2, p. 265-267, 1925.

BOLONHEIZ, H.; OLIVEIRA, N. C.; BALAM, M. G. Eficiência de *Baculovirus spodoptera* e lufenuron no controle de diferentes ínstaes e densidades populacionais da lagarta-do-cartucho em milho. **Campo Digit@l**, v.5, n.1, p.8-13. 2010.

FINNEY, D. J. Probit Analysis. London: Cambridge University Press, 1971. 508 p.

IRAC, Insecticide Resistance Action Committee. Disponível em: <<http://www.irac-online.org/methods/plutella-xylostella-larvae/>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

KOZIEL, M. G. et al. The insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*: past, present and future uses. **Biotechnology & Genetic Engineering Reviews**. v. 11, n 1, p. 171-228, 1993.

LEORA-SOFTWARE. POLO-Plus, POLO for Windows computer program, version 2.0. LeOra-Software, **Petaluma**, CA. 2005.

MARTINS, H. F. Arboreto carioca. In: RIO DE JANEIRO: NOVA FRONTEIRA, Resumos. 1988. p. 125.

- LIMA NETO, J. E. *et al.* Resistance monitoring of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Plutellidae) to risk-reduced insecticides and cross resistance to spinetoram. **Phytoparasitica** p. 1-10, 2016.
- NOGUEIRA, M. D.; HABIB, M. E. M. Biologia e controle microbiano de *Urbanus acawoios* (Williams, 1926) (Lepidoptera: Hesperidae): II. patologia e susceptibilidade em larvas infectadas por *Bacillus thuringiensis* Var. kurstaki (H-3a:3b). **Acta Amazonica**, v. 31, n. 4, p. 655-655, 2001.
- OLIVEIRA, A. C. *et al.* Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 2, p. 154-159, 2011.
- OSORIO, A. *et al.* Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. **Pest Management Science**, v. 64, n. 10, p. 1001-1007, 2008.
- OWEN, L. N. *et al.* Susceptibility of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to Reduced-Risk Insecticides. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 2, p. 554-559, 2013.
- ROBERTSON, J. L.; PREISLER, H. K. **Pesticide bioassays with arthropods**. London: CRC Press, 1992. 127 p.
- SANTOS, V. *et al.* Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, n 2, p. 264-270, 2011.
- SILVA, L. K. F.; CARVALHO, A. G. Patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1909) em lagartas de *Urbanus acawoios* (Williams, 1926) (Lepidoptera: Hesperidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 249-252, 2004.
- TREVISAN, H. *et al.* Consumo foliar e aspectos biológicos de *Urbanus acawoios* (Lep.: Hesperidae) alimentado com folíolos de *Clitoria fairchildiana* (Leguminosae: Faboideae) em três níveis de maturidade. **Ciência Rural**, v. 34, n 1, p. 1-4, 2004.
- WANGEN, D. R. B.; PEREIRA JÚNIOR, P. H. S. ; SANTANA, W. S. Controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) na cultura do milho com inseticidas de diferentes grupos químicos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11 n. 22; p. 802-808. 2015.
- WENDT, J. G. N.; CARVALHO, A. G. Consumo foliar de *Phaseolus vulgaris* L. (Leguminosae) por *Urbanus acawoios* Williams, 1926 (Lepidoptera: Hesperidae). **Biotemas**. v. 19, n. 1, p. 5, 2006.