



## Eficiência de *Bacillus thuringiensis* no controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) e compatibilidade com inseticidas

### Efficiency of *Bacillus thuringiensis* to control *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and compatibility with insecticides

Rogério Teixeira Duarte<sup>(1)</sup>; Sergio Antonio de Bortoli<sup>(2)</sup>;  
Ricardo Antonio Polanczyk<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4908-6349>; Docente e Pesquisador, Universidade de Araraquara / Laboratório de Entomologia Agrícola, Araraquara, SP, Brasil, E-mail: rogerio.tduarte@yahoo.com.br

<sup>(2)</sup>ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0957-6164>; Docente e Pesquisador, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” / Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, Jaboticabal, SP, Brasil, E-mail: bortoli@fcav.unesp.br

<sup>(3)</sup>ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0769-9902>; Docente e Pesquisador, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” / Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas, Jaboticabal, SP, Brasil, E-mail: rapolanc@fcav.unesp.br

Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

Recebido em: 24/03/02/2021; Aceito em: 24/06/2021; publicado em 01/08/2021. Copyright© Autor, 2021.

**RESUMO:** O objetivo da pesquisa foi analisar a suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) a isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner e avaliar a compatibilidade dos isolados mais virulentos com inseticidas registrados para o controle de pragas do repolho. Foi avaliada a eficiência de 13 isolados, através de testes de patogenicidade e virulência (CL<sub>50</sub> e TL<sub>50</sub>) em lagartas de segundo instar de *P. xylostella*. A compatibilidade entre os isolados e os ingredientes ativos foi realizada a partir da mistura do inseticida no meio de cultura, com posterior inoculação de uma alíquota da suspensão do microorganismo, sendo avaliado o número de esporos / mL após sete dias de crescimento do entomopatógeno. Os isolados HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07 foram os mais eficientes no controle de *P. xylostella*, responsáveis por ocasionar mortalidade total das lagartas, com CL<sub>50</sub> variando entre 0,75 e 11,66 × 10<sup>3</sup> esporos / mL e TL<sub>50</sub> entre 25,12 e 34,47 h. Os isolados HD-1 e HD-4 apresentaram interação neutra com o ingrediente ativo tiametoxam, sendo positiva para com o isolado T-07, com aumento significativo da esporulação. Os demais ingredientes ativos foram considerados tóxicos em relação ao desenvolvimento reprodutivo de *B. thuringiensis*.

**PALAVRAS-CHAVE:** traça-das-crucíferas, bactéria entomopatogênica, controle biológico

**ABSTRACT:** The objective of this research was analyze the susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to isolates of *Bacillus thuringiensis* Berliner and to evaluate the compatibility of the most virulent isolates with insecticides registered to control cabbage pests. The efficiency of 13 isolates was evaluated through pathogenicity and virulence tests (LC<sub>50</sub> and LT<sub>50</sub>) on second instar larvae of *P. xylostella*. The compatibility between the isolates and active ingredients was performed by the insecticide mixture in culture medium, and after this was inoculated an aliquot of microorganism suspension, being analyzed the number of spores / mL after seven days of entomopathogen growth. The isolates HD-1, HD-4, HD-11, HD-73, and T-07 were the most efficient on *P. xylostella*, and responsible to cause total mortality of immature, with LC<sub>50</sub> varying between 0.75 and 11.66 × 10<sup>3</sup> spores / mL, and LT<sub>50</sub> between 25.12 and 34.47 h. The isolates HD-1 and HD-4 showed neutral interaction with the active ingredient thiamethoxam, and positive interaction with the isolate T-07, with significant increase of sporulation. The other active ingredients were toxic in relation to the reproductive development of *B. thuringiensis*.

**KEYWORDS:** diamondback moth, entomopathogenic bacterium, biological control, chemical control.

## INTRODUÇÃO

A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner 1915 é reconhecida por sua capacidade em sintetizar cristais proteicos, que são responsáveis por grande parte da atividade tóxica a insetos pragas, o que justifica o interesse mundial na sua utilização como tática do manejo populacional de pragas agrícolas (LACEY et al., 2015). A principal toxina produzida por *B. thuringiensis* com atividade inseticida é a  $\delta$ -endotoxina, classificada pela sua sequência primária de aminoácidos, e representada por mais de 700 diferentes sequências de genes *cry*, classificadas em 73 grupos (Cry1 ao Cry75) (CRICKMORE et al., 2018). Estas toxinas são analisadas em pesquisas científicas baseadas em testes de patogenicidade e virulência para diferentes espécies de pragas agrícolas e também a inimigos naturais, visando determinar sua seletividade e especificidade (van FRANKENHUYZEN, 2009; CRICKMORE et al., 2018).

Neste sentido, van Frankenhuyzen (2009) publicou uma revisão sobre a atividade inseticida de cristais proteicos de *B. thuringiensis* para diferentes espécies de pragas, como, por exemplo, a *Plutella xylostella* Linnaeus 1758 (Lepidoptera, Plutellidae), demonstrando o grande interesse científico frente ao manejo populacional deste inseto com o referido entomopatógeno, evidenciando um total de 28 toxinas Cry ativas em relação a esta praga. Este microlepidóptero, também conhecido como a traça-das-crucíferas, é uma das principais pragas de culturas agrícolas da família Brassicaceae (RIBEIRO et al., 2014; LI et al., 2016).

A redução populacional desta espécie é realizada quase que exclusivamente pela utilização do controle químico, o que tem culminado em elevada pressão de seleção e, conseqüentemente, no aumento de relatos de resistência de populações desta praga a diferentes ingredientes ativos do grupo químico dos inseticidas (RIBEIRO et al., 2014; AGBOYI et al., 2016; LIMA NETO et al., 2016). Desta forma, a utilização estratégica do controle microbiano com *B. thuringiensis* no Brasil constitui uma importante ferramenta no manejo populacional da traça-das-crucíferas.

Porém, o principal entrave na utilização destes agentes microbianos está relacionado à interação deste micro-organismo com agrotóxicos empregados para a redução populacional do complexo de pragas de determinado cultivo agrícola (AGOSTINI et al., 2014). Embora muito importantes, as pesquisas nesta área são escassas, o que justifica a necessidade de trabalhos relacionados com a atividade

patogênica de *B. thuringiensis* a *P. xylostella* aliada à interação deste micro-organismo com agrotóxicos, como forma de contribuir para com o manejo integrado da traça-das-crucíferas. O objetivo da pesquisa foi analisar a suscetibilidade de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* a isolados de *B. thuringiensis*, avaliando a compatibilidade dos isolados mais virulentos com diferentes ingredientes ativos de inseticidas registrados para o controle do complexo de pragas da cultura do repolho.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) e Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, SP.

### População de *P. xylostella*

Para a condução dos bioensaios foi utilizada uma população de *P. xylostella* oriunda de área comercial convencional de repolho do município de Recife – PE, sendo coletados 143 adultos em 15 de janeiro de 2007. Para a criação massal de *P. xylostella* foram utilizadas folhas de repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata* cv. ‘Chato de Quintal’) como substrato alimentar, com idade entre 45 e 60 dias, caracterizada como uma cultivar suscetível a referida praga (BOIÇA JÚNIOR et al., 2013). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, a partir de mudas de repolho, com aproximadamente 30 dias de idade (Agrimonte Produtos Agrícolas Ltda., Monte Alto, SP), transplantadas individualmente em vasos de polietileno com capacidade interna de 5 L, contendo uma mistura homogênea de solo (latossolo vermelho), areia grossa peneirada e esterco de curral curtido e peneirado, na proporção 2:1:1 (BOIÇA JÚNIOR et al., 2013). Mensalmente, mudas de repolho eram transplantadas, com o propósito de manter constante a produção de folhas, para servirem como substrato de alimentação à *P. xylostella*.

A criação dos adultos foi realizada em recipientes cilíndricos de plástico transparente (15 cm de diâmetro × 25 cm de altura). No interior do recipiente foi inserido um disco foliar de repolho com 8 cm de diâmetro sobre um disco de papel filtro de mesmo diâmetro, levemente umedecido com água deionizada autoclavada. Este disco de papel foi disposto sobre um copo plástico transparente (5 cm de diâmetro × 8 cm de altura), com a abertura voltada para baixo, ficando o disco foliar de repolho elevado dentro da gaiola, onde ocorreu a oviposição. No ápice do recipiente foi efetuada uma abertura de aproximadamente 3 cm de diâmetro, utilizada para fixação de uma esponja embebida em solução aquosa de mel a 10%. Em cada gaiola foi realizada uma abertura lateral (10 cm de comprimento × 10 cm de largura), coberta com tecido tipo “voil”, para efetuar as trocas gasosas. Diariamente, estes discos foliares de repolho foram repostos, sendo retirados aqueles com a presença das posturas, e transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro) até a eclosão das lagartas.

### Isolados da bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis*

Foram utilizados 13 isolados de *B. thuringiensis*, obtidos junto ao Banco de Entomopatógenos do LCMAP e, também, da Coleção de Entomopatógenos do Laboratório de Controle Biológico (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Isolados de *Bacillus thuringiensis* utilizados nos bioensaios

Número	Isolado	Obtenção do isolado	Toxinas presentes
1	LCMAP04	Cultura da Soja (FCAV)	Vip2
2	LCMAP05	Cultura da Soja (FCAV)	Vip2
3	LCMAP06	Cultura do Milho/Soja (FCAV)	Cry2Ab
4	LCMAP20	APP (FCAV)	Cry2Ab
5	LCMAP27	Cultura do Algodão (FCAV)	Cry1C; Vip2
6	LCMAP29	Cultura do Milho (FCAV)	Vip2
7	LCMAP45	Cultura do Eucalipto (FCAV)	Cry2Ab
8	LCMAP46	Cultura da Goiabeira (FCAV)	Cry2Ab
9	HD-1	EMBRAPA	Cry1Ab/1Ac; Cry1Aa/1Ad; Cry1Ac; Cry1B; Cry1A5; Cry1Ab;

			Cry1Fb; Cry 1I; Cry2Ab	
10	HD-11	EMBRAPA	Cry1Aa/1Ad; cry1B; Cry1D; Cry1A5; Cry 1I; Cry2Ab; Cry9	Página   2973
11	HD-4	EMBRAPA	Cry1Aa/1Ad; Cry1Fa/1Fb; Cry1A5	
12	HD-73	EMBRAPA	Cry1Ab/1Ac; Cry1Ac; Cry1A5; Cry1Fb	
13	T-07	EMBRAPA	Cry1Ab/1Ac; Cry1Aa/1Ad; Cry1B; Cry1C; Cry1D; Cry1Ea/1Eb; Cry1Fa/1Fb; Cry1A5; Cry1Ab; Cry 1I; Cry2Ab; Cry9	

Os isolados foram multiplicados em placas de Petri com meio de cultura nutriente ágar (NA) [dissolução de 28 g do produto formulado Nutrient Agar® (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia) em 1.000 mL de água, posterior autoclavagem a 1 atm. por 20 minutos] e incubados a 30°C por cinco dias, para desenvolvimento e esporulação da bactéria. Após este período, o conteúdo bacteriano foi transferido para tubo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada e 0,05% do espalhante adesivo Tween® 20. A suspensão foi homogeneizada, sendo a mistura (esporos, cristais e células vegetativas) submetida a três centrifugações consecutivas (3.600 rpm por 20 minutos). O sobrenadante foi descartado, com o objetivo de eliminar as toxinas extracelulares, como as  $\beta$ -exotoxinas, e restos celulares. Após a última centrifugação foi obtida uma nova suspensão e, a partir desta, foram feitas duas diluições seriadas para a contagem de esporos em câmara de Neubauer e padronização da suspensão na concentração de 10<sup>8</sup> esporos/mL.

### Patogenicidade de *B. thuringiensis* a *P. xylostella*

Para este experimento foram utilizadas lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, sendo cada tratamento compreendido por 10 discos foliares de repolho (10 repetições), *B. oleraceae* var. *capitata* cv. 'Chato de Quintal', com 8 cm de diâmetro, que foram imersos

em determinada suspensão [10 mL de água autoclavada + Tween® 20 (0,05%) + isolado de bactéria] por 1 minuto, e posteriormente conduzidos para sala de secagem.

Estes discos foliares, posterior secagem, foram transferidos individualmente para placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro (8 cm de diâmetro) umedecido com água deionizada autoclavada. Para cada placa de Petri, com auxílio de um pincel de pêlos macios, foram inseridas 10 lagartas de *P. xylostella*. Em seguida, estas placas foram transferidas e mantidas em câmara B.O.D. (Biological Oxygen Demand) à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12:12 horas. O tratamento controle seguiu a mesma metodologia descrita acima, composta por água autoclavada + Tween® 20 (0,05%).

As avaliações de mortalidade foram realizadas após 72 h da confecção do bioensaio. A mortalidade total foi corrigida em relação à observada no controle (ABBOTT, 1925). O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados sujeitos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), através do programa estatístico Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2014). Como critério para escolha dos isolados para a estimativa da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) e do tempo letal médio ( $TL_{50}$ ) foram selecionados aqueles responsáveis por ocasionar mortalidade corrigida  $\geq 80\%$ .

### Estimativa da Concentração Letal Média ( $CL_{50}$ ) e Tempo Letal Médio ( $TL_{50}$ )

Para estimar a  $CL_{50}$  dos isolados de *B. thuringiensis* foram preparadas suspensões nas concentrações de  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$  esporos/mL. Quanto à estimativa da  $TL_{50}$ , foram preparadas 10 repetições para cada isolado selecionado, compreendendo 10 lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* por repetição, com suspensão de *B. thuringiensis* padronizada na concentração de  $10^8$  esporos/mL. A condução dos bioensaios relacionados à  $CL_{50}$  e  $TL_{50}$  foi idêntica a metodologia descrita sobre a avaliação da patogenicidade. As avaliações referentes à mortalidade das lagartas pelo entomopatógeno foram efetuadas a cada 24 h da confecção do bioensaio, até o quinto dia. Os resultados relacionados à mortalidade foram sujeitos a análise probit ( $P > 0,05$ ), através do programa estatístico Minitab 15® (MINITAB, 2007).

## Interação entre *B. thuringiensis* e agrotóxicos recomendados à cultura do repolho

Os isolados mais virulentos de *B. thuringiensis* foram utilizados nas análises de interação com diferentes inseticidas recomendados no controle de *Ascia monuste orseis* Latreille 1819 (Lepidoptera: Pieridae), *Brevicoryne brassicae* Linnaeus 1758 (Homoptera: Pemphigidae) e *Bemisia tabaci* biótipo B Gennadius 1889 (Homoptera: Aleyrodidae) na cultura do repolho (Tabela 2).

**Tabela 2.** Inseticidas químicos recomendados para o controle de pragas da cultura do repolho

Nome Comercial	Recomendação	Princípio Ativo	Grupo Químico	Concentração Recomendada
AzaMax	<i>B. brassicae</i>	azadiractina	tetranortriterpenóide	200mL/100L
Decis 25EC	<i>A. monuste orseis</i> e <i>B. brassicae</i>	deltametrina	piretróide	30mL/100L
Lannate BR	<i>A. monuste orseis</i> e <i>B. brassicae</i>	metomil	metilcarbamato de oxima	100mL/100L
Actara 250WG	<i>B. tabaci</i>	tiametoxam	neonicotinoide	20g/100L
Orthene 750 BR	<i>B. brassicae</i>	acefato	organofosforado	100g/100L

Fonte: Mapa (2018).

O meio de cultura nutriente ágar (NA) foi preparado através da dissolução de 28 g do produto formulado Nutrient Agar® (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia) em 1.000 mL de água deionizada, sendo posteriormente autoclavado a 1 atm. por 20 minutos. Após atingir temperatura de 45°C, ponto em que o meio ainda não se encontra solidificado e, também, não afeta as propriedades químicas dos agrotóxicos (BOTELHO & MONTEIRO, 2011), cada inseticida com concentração conhecida foi adicionado e homogeneizado no meio de cultura, e então vertido em placas de Petri com 9 cm de diâmetro, totalizando 10 repetições para cada análise de interação.

Após solidificação do meio em placas de Petri, foram inoculadas no respectivo substrato (meio de cultura + ingrediente ativo do inseticida) suspensões de células do pré-cultivo na concentração de 10<sup>8</sup> esporos/mL de cada isolado de *B. thuringiensis*,

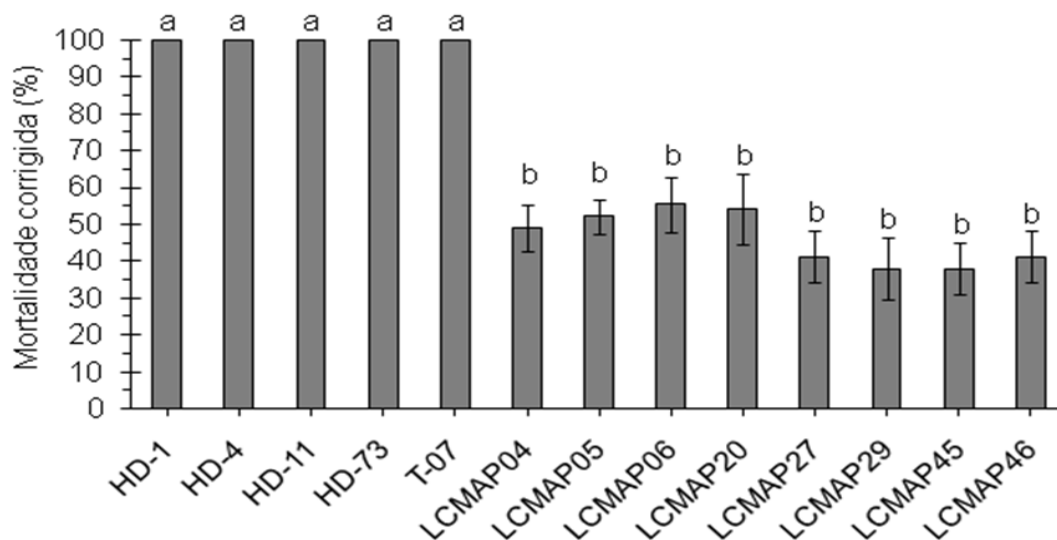
perfazendo uma pontuação de 5 µL de cada suspensão do entomopatógeno na região central da placa de Petri.

As placas inoculadas foram acondicionadas em câmara B.O.D. a temperatura ótima de desenvolvimento de *B. thuringiensis* ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ), com umidade relativa média de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo 12:12 h, por um período de sete dias. Após esta etapa, foi realizada a contagem de esporos para cada tratamento com auxílio de uma câmara de Neubauer, recortando-se a colônia do meio de cultura e acondicionando-as em tubos para criação com 10 mL de água estéril mais espalhante adesivo Tween® 20 (0,05%), sendo esta suspensão homogeneizada com auxílio de um agitador (Phoenix® ModeloAP56, São Paulo, Brasil) por um período de 1 minuto. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados sujeitos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), através do programa estatístico Sisvar versão 5.6 (FERREIRA, 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de *B. thuringiensis* foram patogênicos a *P. xylostella*. Entretanto, foi observada diferença significativa entre os isolados de *B. thuringiensis*, com resultados promissores para aqueles oriundos da Embrapa (HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07), caracterizados por ocasionar mortalidade total em lagartas de segundo ínstar, quando comparados com os isolados referentes ao LCMAP, cuja mortalidade variou entre 43 e 59% ( $F = 20,05$ ;  $GL = 12, 117$ ;  $P < 0,01$ ) (Figura 1).





**Figura 1.** Mortalidade corrigida (%) de lagartas de segundo instar de *Plutella xylostella* submetidas a tratamentos relacionados a diferentes isolados da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis*. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). A barra de erros corresponde ao erro padrão ( $\pm EP$ ).

Com relação à estimativa da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) dos isolados selecionados de *B. thuringiensis*, os mais virulentos foram HD-1, HD-11 e HD-73, diferindo estatisticamente dos isolados HD-4 e T-07, com valores estimados em  $1,2 \times 10^3$ ;  $0,75 \times 10^3$  e  $1,18 \times 10^3$  esporos / mL, respectivamente (Tabela 3).

**Tabela 3.** Estimativa da concentração letal média ( $CL_{50}$ ) dos isolados de *Bacillus thuringiensis* mais virulentos a lagartas de segundo instar de *Plutella xylostella*.

Tratamento	n	Slope $\pm EP$	$CL_{50}$ (IC 95%) ( $\times 10^3$ esporos/mL)	$\chi^2$ (1)
HD-1	500	0,43 $\pm$ 0,05	1,20 (0,65 – 1,88)	1,00
HD-4	500	0,24 $\pm$ 0,02	11,66 (6,25 – 19,96)	4,28
HD-11	500	0,26 $\pm$ 0,03	0,75 (0,26 – 1,57)	9,18
HD-73	500	0,21 $\pm$ 0,02	1,18 (0,37 – 2,68)	13,33
T-07	500	0,25 $\pm$ 0,02	4,32 (2,13 – 7,65)	4,63

(1) Qui-Quadrado ( $P > 0,05$ ).

Para a estimativa do tempo letal médio ( $TL_{50}$ ) foram observadas diferenças significativas entre os isolados HD-4 e HD-11 em relação ao HD-1, correspondendo em um período de tempo menor para ocasionar mortalidade média das lagartas de segundo

instar de *P. xylostella* (Tabela 4). O isolado HD-11 apresentou elevada virulência quando comparados com os demais tratamentos, representado pelos menores valores estimados da  $CL_{50}$  e  $TL_{50}$ , com concentração de  $0,75 \times 10^3$  esporos / mL e um período de 25,12 h para ocasionar mortalidade de 50% da população de lagartas de segundo instar de *P. xylostella* (Tabela 3 e 4).

**Tabela 4.** Estimativa do tempo letal médio ( $TL_{50}$ ) dos isolados de *Bacillus thuringiensis* mais virulentos a lagartas de segundo instar de *Plutella xylostella*.

Tratamento	n	Slope $\pm$ EP	$TL_{50}$ (IC <sub>95%</sub> ) (h)	$\chi^2$ <sup>(1)</sup>
HD-1	100	0,07 $\pm$ 0,006	34,47 (31,35 - 37,36)	4,62
HD-4	100	0,07 $\pm$ 0,008	27,74 (24,18 - 30,75)	35,52
HD-11	100	0,09 $\pm$ 0,013	25,12 (22,13 - 27,63)	0,001
HD-73	100	0,06 $\pm$ 0,007	29,12 (25,46 - 32,24)	12,62
T-07	100	0,11 $\pm$ 0,013	29,31 (27,13 - 31,61)	0,0001

<sup>(1)</sup>Qui-Quadrado ( $P > 0,05$ ).

A baixa suscetibilidade de lagartas de segundo instar de *P. xylostella* aos isolados referentes ao Banco de Entomopatógenos do LCMAP pode estar relacionada com a ausência de genes responsáveis por codificar as proteínas Cry1Aa, Cry1Ab e Cry1Ac, consideradas ativas para *P. xylostella* e importantes por ocasionar elevada mortalidade para com esta praga (MEDEIROS et al., 2005; MONNERAT et al., 2007; van FRANKENYUZEN, 2009).

Em relação aos isolados mais virulentos de *B. thuringiensis*, a presença das proteínas Cry1 e Cry2 podem estar diretamente envolvidas no grau de toxicidade de lagartas de segundo instar de *P. xylostella*. As proteínas Cry1 estão associadas à síntese de cristais bipiramidais, com a ação tóxica a insetos da ordem Lepidoptera, como *P. xylostella*, enquanto que Cry2 produzem cristais cubóides, mas, também, evidenciados como tóxicos às espécies de lepidópteros (MEDEIROS et al., 2005).

Além destes, outros cristais proteicos representados nos isolados mais virulentos de *B. thuringiensis*, também, podem ter influenciado diretamente na mortalidade da referida praga, como, por exemplo, a proteína Cry9, presente nos isolados HD-11 e T-07, considerada ativa e de elevada toxicidade para com a traça-das-crucíferas (van FRANKENYUZEN, 2009). Desta forma, o elevado grau de toxicidade dos isolados de

*B. thuringiensis* oriundos da Embrapa pode estar relacionado com o incremento no número de cristais proteicos presentes (MOHAN & GUJAR, 2001). Outros fatores, também, podem ter influenciado na elevada mortalidade de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, como a quantidade de genes *cry1* expressos, a alta concentração de toxinas acumuladas, mas, também, a presença de outros cristais proteicos, que não foram identificados pelos *primers* utilizados no processo de sequenciamento molecular (MONNERAT et al., 2007; CHEN et al., 2014).

Nos testes sobre a interação entre os isolados mais virulentos a *P. xylostella* com os ingredientes ativos dos inseticidas, foram observadas interações neutras entre HD-1 e HD-4 em relação ao ingrediente ativo tiametoxam, com interação positiva entre a referida molécula química e o isolado T-07, devido ao estímulo de esporulação, diferindo estatisticamente do controle (Tabela 5). Em relação aos demais ingredientes ativos foram observados o efeito tóxico no processo reprodutivo da bactéria, o que demonstrou interação negativa dos demais inseticidas para com os referidos isolados de *B. thuringiensis* (Tabela 5).

**Tabela 5.** Número médio de esporos / mL ( $\pm$ EP) dos isolados mais virulentos de *Bacillus thuringiensis* submetidos a tratamentos com ingredientes ativos da classe dos inseticidas.

Tratamentos	Esporos de <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\times 10^9$ ) / mL				
	HD-1	HD-4	HD-11	HD-73	T-07
Controle	3,15 $\pm$ 0,20 a	3,30 $\pm$ 0,17 a	2,83 $\pm$ 0,28 a	4,05 $\pm$ 0,24 a	2,85 $\pm$ 0,19 b
azadiractina	1,49 $\pm$ 0,05 b	2,00 $\pm$ 0,21 bc	1,30 $\pm$ 0,14 b	1,93 $\pm$ 0,15 b	1,68 $\pm$ 0,17 c
deltametrina	0,80 $\pm$ 0,09 b	1,26 $\pm$ 0,13 cd	0,99 $\pm$ 0,19 b	1,09 $\pm$ 0,12 c	1,28 $\pm$ 0,16 c
metomil	1,43 $\pm$ 0,14 b	1,34 $\pm$ 0,21 cd	0,98 $\pm$ 0,12 b	0,95 $\pm$ 0,12 c	1,07 $\pm$ 0,07 c
acefato	1,21 $\pm$ 0,07 b	0,79 $\pm$ 0,09 d	0,58 $\pm$ 0,12 b	1,00 $\pm$ 0,19 c	1,56 $\pm$ 0,16 c
tiametoxam	3,24 $\pm$ 0,39 a	2,57 $\pm$ 0,21 ab	0,91 $\pm$ 0,13 b	2,04 $\pm$ 0,16 b	3,90 $\pm$ 0,16 a
F	27,92	28,87	20,80	49,92	49,32
P	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

O ingrediente ativo tiametoxam, representado pelo grupo químico dos neonicotinoides é, também, citado na literatura em outras literaturas como uma molécula que apresenta uma interação positiva não somente com *B. thuringiensis*, mas com muitas espécies de fungos entomopatogênicos (BOTELHO & MONTEIRO, 2011; DUARTE et al., 2016). Outros ingredientes ativos enquadrados como neonicotinoides, como imidacloprido e acetamiprido, também, são relatados como compatíveis a diferentes espécies de micro-organismos entomopatogênicos, e, também, representados por sua importância frente ao manejo integrado de pragas (SAHOO & DANGAR, 2014; ZOU et al., 2014).

A ação dos inseticidas para com os aspectos reprodutivos de cada isolado de *B. thuringiensis* tem relação direta com a natureza química do ingrediente ativo analisado, demonstrado através da variação dos resultados destas interações quando comparado com o controle. Outra variável que pode ter influenciado nas interações entre os isolados de *B. thuringiensis* com os ingredientes ativos está relacionado à presença de adjuvantes no produto comercial, sendo um fator de elevada importância a partir da biossíntese de um produto biológico (MORRIS, 1977).

Neste sentido, com base na problemática evidenciada atualmente frente à resistência de populações de *P. xylostella* a determinados produtos comerciais biológicos a base de *B. thuringiensis* (ZAGO et al., 2014), aliado a ausência de informações a respeito da interação destes produtos associados a inseticidas recomendados para o controle de outras pragas, a descoberta de diferentes isolados de elevada virulência, caracterizados como compatíveis a ingredientes ativos da classe química dos inseticidas, pode ser considerada uma importante ferramenta na biossíntese de novos produtos biológicos (MONNERAT et al., 2007). Esta estratégia pode favorecer na diminuição da pressão de seleção, através da utilização racional dos materiais comerciais biológicos disponíveis no mercado e, porventura, reduzir gradativamente o número de casos de populações resistentes desta praga para com inseticidas biológicos de *B. thuringiensis*.

## CONCLUSÃO

Os isolados de *Bacillus thuringiensis* mais eficientes visando ao controle de lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella* são HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07,

com os isolados HD-1, HD-4 apresentando interação neutra com o ingrediente ativo tiametoxam, sendo positiva para o isolado T-07 devido ao estímulo à esporulação, sendo estas informações de grande relevância frente ao manejo integrado da referida praga, no intuito de potencializar seu controle atrelado a outras estratégias de controle.

## REFERÊNCIAS

1. ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v.18, n.2, p.265-267, 1925.
2. AGBOYI, L. K.; KETOH, G. K.; MARTIN, T.; GLITHO, I. A.; TAMÒ, M. Pesticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations from Togo and Benin. *International Journal of Tropical Insect Science*, v.36, n.4, p.204-210, 2016.
3. AGOSTINI, L. T.; DUARTE, R. T.; VOLPE, H. X. L.; AGOSTINI, T. T.; CARVALHO, G. A.; ABRAHÃO, Y. P.; POLANCZYK, R. A. Compatibility among insecticides, acaricides, and *Bacillus thuringiensis* used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton fields. *African Journal of Agricultural Research*, v.9: n.11, p.941-949, 2014.
4. BOIÇA JÚNIOR, A. L.; JANINI, J. C.; SOUZA, B. H. S.; RODRIGUES, N. E. L. Efeito de cultivares de repolho e doses de extrato aquoso de nim na alimentação e biologia de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). *Bioscience Journal*, v.29, n.1, p.22-31, 2013.
5. BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia*, v.70, n.2, p.361-369, 2011.
6. CHEN, M-L.; CHEN, P-H.; PANG, J-C.; LIN, C-W.; HWANG, C-F.; TSEN, H-Y. The correlation of the presence and expression levels of cry genes with the insecticidal activities against *Plutella xylostella* for *Bacillus thuringiensis* strains. *Toxins*, v.6, n.8, p.2453-2470, 2014.
7. CRICKMORE, N.; BAUM, J.; BRAVO, A.; LERECLUS, D.; NARVA, K.; SAMPSON, K.; SCHNEPF, E.; SUN, M.; ZEIGLER, D. R. *Bacillus*

- thuringiensis* toxin nomenclature. Disponível em <http://www.btnomenclature.info/>. Acesso em 05 Jun. 2018.
8. DUARTE, R. T.; GONÇALVES, K. C.; ESPINOSA, D. J. L.; MOREIRA, L. F.; DE BORTOLI, S. A.; HUMBER, R. A.; POLANCZYK, R. A. Potential of entomopathogenic fungi as biological control agents of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and compatibility with chemical insecticides. *Journal of Economic Entomology*, v.109, n.2, p.594-601, 2016.
  9. FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, v.38, n.2, p.109-112, 2014.
  10. LACEY, L. A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.132, n.1, p.1-41. 2015.
  11. LI, Z.; ZALUCKI, M. P.; KRITICOS, D. J.; BAO, H.; CHEN, H.; HU, Z.; FENG, X.; FURLONG, M. J. Population dynamics and management of diamondback moth (*Plutella xylostella*) in China: the relative contributions of climate, natural enemies and cropping patterns. *Bulletin of Entomological Research*, v.106, n.2, p. 197-214, 2016.
  12. LIMA NETO, J. E.; AMARAL, M. H. P.; SIQUEIRA, H. A. A.; BARROS, R.; SILVA, P. A. F. Resistance monitoring of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to risk-reduced insecticides and cross resistance to spinetoram. *Phytoparasitica*, v.44, n.5, p.631-640, 2016.
  13. MAPA. **Agrofit**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 12 Out. 2017.
  14. MEDEIROS, P. T.; FERREIRA, M. N.; MARTINS, E. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.40, n.11, p.1145-1148, 2005.
  15. MINITAB. **Meet Minitab 15**. EUA: Minitab Inc, 2007. 142 p. Disponível em <http://mathfaculty.fullerton.edu/sbehseta/MeetMinitabEN.pdf>. Acesso em 10 Nov. 2017.

16. MOHAN, M.; GUJAR, G. T. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains and commercial formulations to the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). ***Crop Protection***, v.20, n.4, p.311-316, 2001.
17. MONNERAT, R. G.; BATISTA, A. C.; MEDEIROS, P. T.; MARTINS, E. S.; MELATTI, V. M.; PRAÇA, L. B.; DUMAS, V. F.; MORINAGA, C.; DEMO, C.; GOMES, A. C. M.; FALCÃO, R.; SIQUEIRA, C. B.; SILVA-WERNECK, J. O.; BERRY, C. Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. ***Biological Control***, v.41, n.3, p.291-295, 2007.
18. MORRIS, O. N. Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. ***The Canadian Entomologist***, v.109, n.6, p.855-864, 1977.
19. RIBEIRO, L. M. S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; FERREIRA, H. N.; TEIXEIRA, A. A. C.; SIQUEIRA, H. A. A. Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). ***Bulletin of Entomological Research***, v.104, n.1, p. 88-96, 2014.
20. SAHOO, B.; DANGAR, T. K. Compatibility of some fungal entomopathogen of rice leaf folder (*Cnaphalocrocis medinalis* Guinee) with selected chemical insecticides. ***Journal of Microbiology and Biotechnology Research***, v.4, n.4, p.1-7, 2014.
21. VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. ***Journal of Invertebrate Pathology***, v.101, n.1, p.1-16, 2009.
22. ZAGO, H. B.; SIQUEIRA, H. A. A.; PEREIRA, E. J. G.; PICANÇO, M. C.; BARROS, R. Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. ***Pest Management Science***, v.70, n.3, p.488-495, 2014.
23. ZOU, C.; LI, L.; DONG, T.; ZHANG, B.; HU, Q. Join action of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* and four chemical insecticides against the whitefly *Bemisia tabaci*. ***Biocontrol Science and Technology***, v.24, n.3, p.315-324, 2014.