

Utilização do *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas

Elisângela C. W. Galzer (ecwgalzer@ucs.br)

Wilson S. de Azevedo Filho (wsafilho@ucs.br)

Laboratório de Entomologia, Universidade de Caxias do Sul/CARVI

Resumo: Diversos métodos são utilizados com o interesse de proteger os cultivos de fatores bióticos e abióticos na produção agrícola, em especial ao ataque de insetos-praga. Dentre esses métodos, o mais utilizado é o controle químico. Como alternativa, o controle biológico vem se destacando no combate de pragas agrícolas por apresentar menor impacto sobre o ambiente. Pertencente à família Bacillaceae, bactérias formadoras de esporos, *Bacillus thuringiensis* é um bastonete gram-positivo, flagelada, encontrada no solo e outros substratos. Essa bactéria, presente no solo de forma natural, pode provocar a morte de algumas espécies de insetos principalmente dos grupos Coleoptera e Lepidoptera. Portanto, essa revisão teve como objetivo relatar a importância da utilização do *B. thuringiensis* como ferramenta para o controle biológico de pragas.

Palavras-chave: Controle biológico, entomopatógenos, insetos-praga.

Abstract: Several methods are used with the interest of protecting crops from biotic and abiotic factors in agricultural production, in particular the attack of insect pests. Among these methods, the most used is the chemical control. As an alternative, biological control has been excelling in combating agricultural pests for having less impact on the environment. Belonging to the family Bacillaceae, spore forming bacterium, *Bacillus thuringiensis* is a gram-positive, rod-flagellated bacterium, found in soil and other substrates. This bacterium present in soil, naturally, can cause the death of some insect species, mainly Coleoptera and Lepidoptera groups. Therefore, this review aims to report the importance of the use of *B. thuringiensis* as a tool for biological pest control.

Keywords: Biological control, entomopathogenic, insect pests.

1. Introdução

Na agricultura, o controle de insetos-praga é realizado principalmente através de controle químico. Muitas vezes a utilização incorreta deste método traz consigo grandes impactos decorrentes da resistência de insetos e baixa seletividade aos inimigos naturais, condicionando a ocorrência ou ressurgência de pragas secundárias [15] [30]. Novas alternativas, como o controle biológico através do uso de parasitoides, predadores e entomopatógenos está sendo estudado para reduzir o uso de agrotóxicos nas lavouras [12]. Entre esses patógenos, o controle microbiano é considerado um método seguro aos humanos e ao meio ambiente, destacando-se a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1911 (Eubacteriales: Bacillaceae) [9]. Uma característica típica de *B. thuringiensis* é a produção de cristais proteicos que ocorre, geralmente, durante a esporulação, sendo tóxica a alguns grupos de insetos.

O objetivo dessa revisão foi reunir informações referentes à importância da utilização do *B. thuringiensis* como ferramenta para o controle biológico de pragas.

2. Desenvolvimento

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) foi descrita em 1911 na Alemanha, isolada a partir da traça-das-farinhas *Anagasta kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) [13]. Contudo, em 1902 no Japão, o pesquisador Ishiwata já havia isolado uma bactéria a partir de *Bombyx mori* L., 1758 (Lepidoptera: Bombycidae), posteriormente identificada como uma subespécie de *B. thuringiensis* [35].

Pertencente à família Bacillaceae, a qual engloba a maioria das espécies de bactérias formadoras de esporos, *B. thuringiensis* é um bastonete gram-positivo, com célula vegetativa de 1,0 a 1,2µm de largura por 3,0 a 5,0µm de comprimento e geralmente móveis. A bactéria é encontrada naturalmente no solo e em outros substratos como superfícies ou tecidos de plantas, produtos armazenados e insetos, crescendo em aerobiose e sendo facultativamente anaeróbia

[3] [4] [17] [27]. Todas as espécies pertencentes ao gênero *Bacillus* produzem endósporos (*B. thuringiensis*, *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. moycooides* e *B. weihenstephanensis*). Esse conjunto é responsável por mais de 90% dos biopesticidas disponíveis em todo o mundo [25]. As espécies desse grupo são muito semelhantes, sendo a principal característica que distingue *B. thuringiensis* dos outros táxons do mesmo gênero é a presença intracelular de um cristal proteico, cuja produção foi descoberta somente em 1953 por Hannay [13] [38]. Esses cristais, que correspondem a 25% do peso seco da célula [1], apresentam atividade entomopatogênica com destaque sobre insetos pertencentes às ordens Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera e Coleoptera, além de nematoides, ácaros e protozoários [33].

Os cristais de *B. thuringiensis*, também conhecidos como proteínas Cry, são formados principalmente por proteínas na forma de cristais, as δ-endotoxinas [8]. É importante salientar que as toxinas de *Bt* agem sinergicamente, ou seja, quando isoladas têm seu efeito reduzido [6].

As proteínas Cry são consideradas as principais constituintes dos cristais que caracterizam *B. thuringiensis*, sendo codificadas por genes que geralmente se localizam em plasmídios e, com menor frequência, no cromossomo bacteriano. As proteínas Cry são sintetizadas na forma de protoxinas, sendo que sua ação depende de processos de ativação que ocorrem no interior do aparelho digestivo do inseto. As protoxinas possuem duas regiões distintas, sendo uma porção amino-terminal normalmente variável e que está associada à toxicidade e uma porção carboxi-terminal mais conservada entre as proteínas, relacionada geralmente à formação do cristal [11].

Após a ingestão dos cristais, ocorre a solubilização desses no intestino do inseto (pH alcalino), liberando as protoxinas que são clivadas por proteases do próprio inseto, resultando em toxinas ativas. Essas toxinas são capazes de se ligar a receptores específicos presentes nas microvilosidades das células intestinais do inseto [34] [8].

Segundo o modelo de ação denominado “formação de esporos”, a ligação da toxina com receptores específicos leva a formação de oligômeros de toxinas, os quais se ligam a receptores secundários da membrana da célula intestinal. Como resultado dessa ligação, ocorre a inserção da toxina oligomérica na membrana da célula epitelial intestinal, resultando em poros nesse epitélio [14]. A ação das toxinas resulta na paralisia do aparelho digestivo, ocasionando a morte por inanição, paralisia geral dos músculos e septicemia [37].

O *B. thuringiensis* também produz um grande número de exoenzimas que desempenham um papel importante na patogenicidade a insetos. Dentre as exoenzimas estão as quitinases e as proteases. Essas exoenzimas são liberadas pela bactéria e vão provocar ruptura da membrana peritrófica, favorecendo o acesso das δ -endotoxinas ao epitélio intestinal [29] [32]. Além das toxinas, os próprios esporos de *B. thuringiensis* também contribuem para sua toxicidade, podendo germinar no interior do inseto-alvo, ocasionando septicemia [28].

A comercialização do primeiro produto à base de *B. thuringiensis* teve início na França em 1938, com o nome de ‘Sporeine’ [10]. Segundo Schuler e colaboradores [34], os inseticidas biológicos, principalmente os micro-organismos entomopatogênicos, são utilizados há mais de meio século no Brasil, sendo uma alternativa para o controle mais seletivo de insetos-praga. No entanto, Navon [22], destaca que problemas relacionados à perda de estabilidade, ausência de translocação nas plantas, espectro limitado de ação e degradação rápida pela ação da luz ultravioleta impediram que produtos à base de *B. thuringiensis* ocupassem lugar de destaque no mercado de vendas de inseticidas frente aos químicos convencionais.

Em um estudo de Capalbo et al. [10], foram mencionados 15 formulados de *B. thuringiensis* registrados no Brasil até o ano de 2003. No país, são comercializados cerca de nove formulados de *B. thuringiensis* registrados [2]. O produto à base de *Bt* com maior alcance no mercado mundial é Dipel® (*Bt Kurstaki* HD-1). Esse produto apresenta baixa toxicidade a ácaros, coleópteros, dípteros, hemípteros, sendo altamente eficiente para 170 lepidópteros-praga [13] [5]. O produto comercial Agree® é o único híbrido transconjugado das variedades de *Bt aizawai* e *kurstaki* aumentando assim seu espectro de ação a mais espécies de lepidópteros [18].

Morandi Filho e colaboradores [21] em seus estudos realizados com Dipel® sobre *Argyrotaenia sphaleropa* (Lepidoptera: Tortricidae) obtiveram um resultado de 91% de mortalidade após 72 h de imersão das folhas de videira. Segundo Lima et al. [16], inseticidas à base “nim” e associados com *B. thuringiensis* mostram-se promissores para o controle de *S. frugiperda* em casa-de-vegetação e campo. Monteiro e Souza [19] observaram eficiência de *Bt kurstaki* sobre *Bonagota salubricola* (Lepidoptera: Tortricidae) em pomar de macieira. Segundo Pereira e colaboradores [23], independentemente dos produtos (*B. thuringiensis kurstaki* e *B. thuringiensis aizawai*) e das dosagens utilizadas, as lagartas de primeiro e terceiro instares

de *S. eridania* se mostraram suscetíveis a *B. thuringiensis* em condições de laboratório, com substratos de dieta artificial e folhas de tomateiro.



Figura 01: Lagarta de *Grapholita molesta* morta pelo efeito do produto Dipel® em ponteiro de ameixa. Fonte: Elisângela C. W. Galzer.

No trabalho realizado em laboratório com substrato de dieta artificial por Santos [31], os produtos comerciais à base de *B. thuringiensis* (Dipel WG® e Agree®) foram eficientes no controle de lagartas de primeiro instar de *G. molesta* (Figuras 01 e 02). Os mesmos *Bacillus* também demonstraram bons resultados quando aplicados em repolho e couve-flor para o controle de *P. xylostella* [20]. Berlitz e Fiuza [7] testaram *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* proveniente do produto formulado Xentari®, demonstrando que a suspensão celular reduziu em 57% o consumo alimentar das lagartas. Estudos em campo com Dipel PM® e Dipel SC®, mostram-se tão eficientes quanto os inseticidas químicos tebufenozide e clorpirifos no controle de *G. molesta* e *B. salubricola* em macieira e de metoxifenozida em pessegueiro, quando misturado com leite para o controle de *G. molesta* [19] [36].



Figura 02: Lagarta de *Grapholita molesta* morta pelo efeito do produto Agree® em ponteiro de ameixa. Fonte: Elisângela C. W. Galzer.

Em trabalho conduzido por Polanczyk e colaboradores [24] cepas de *B. thuringiensis aizawai* foram eficientes no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), em condições de laboratório.

No controle de pragas urbanas, em estudo realizado com *B. thuringiensis israelenses*, foi verificado que a bactéria é uma alternativa eficiente no controle de *Aedes aegypti* [26].

3. Conclusões

A toxicidade da bactéria *B. thuringiensis* é eficiente em seus insetos-alvo. O patógeno é uma ferramenta alternativa para o controle biológico visando o manejo de insetos-praga de forma segura ao ser humano e ao meio ambiente.

4. Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de Iniciação Científica concedida à primeira autora e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio.

À equipe do laboratório de Entomologia da Embrapa Uva e Vinho e ao laboratório de Entomologia da Universidade de Caxias do Sul/CARVI.

5. Referências

- [1] AGAISSE H.; LERECLUS D. How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 177, p. 6027-6032, 1995.
- [2] AGROFIT – **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**, 2014. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 24 abril de 2014.
- [3] ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 1163, 1998.
- [4] AZEVEDO, J.L.; MACCHERONI JR., W.; PEREIRA, J.O.; ARAÚJO, W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Salt Lake City, v. 3, n. 1, p. 40-65, 2000.
- [5] BEEGLE, C.C.; YAMAMOTO, T. History of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. **Canadian Entomologist**, New York, v. 124, p. 587-616, 1992.
- [6] BELTRÃO, H.B.M.; SILVA-FILHA, M.H.N.L. Interaction of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* Cry toxins with binding sites from *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae midgut. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 266, n. 2, p. 163-169, 2007.
- [7] BERLITZ, D.L.; FIUZA, L.M. Avaliação toxicológica de *Bacillus thuringiensis aizawai* para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), em laboratório. **Biociências**, Porto Alegre, v. 12, n. 2, p. 115-119, 2004.
- [8] BRAVO, A.; GILLB, S.S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, Amsterdam, v. 49, n. 4, p. 423-435, 2007.
- [9] CAMPANINI, E. B.; DAVOLOS C. C.; ALVES E. C.; LEMOS MV. Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains that contain Dipteran-specific cry genes from Ilha Bela (São Paulo, Brazil) soil samples. **Brazilian Journal of Biology**, Jaboticabal, v. 72, p. 243-247, 2012.
- [10] CAPALBO, D.M.F.; VILAS-BÔAS, G.T.; SUZUKI, M.T. *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 34, p. 78-85, 2005.
- [11] CHESTHUKINA, G.G.; KOSTINA, I.I.; MIKHAILOVA, A.I.; TYURIN, S.A.; KLEPIKOVA, F.S.; STEPANOV, V.M. The main features of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin structure. **Archives of Microbiology**, New York, v. 132, p. 159-162, 1982.
- [12] FERRY, N.; EDWARDS, M.G.; GATEHOUSE, J.A.; GATEHOUSE, A.M.R. Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance. **Current Opinios in Biotechnology USA** v. 15, p. 155-161, 2004.
- [13] GLARE, T.R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis* **Biology, Ecology and safety**. Chichester: John Wiley & Sons, p. 350, 2000.
- [14] HABIB, M.E.M.; Andrade, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S.B. (Coord.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Manole, p. 130-140, 1986.
- [15] KOGAN, M. Integrated pest management historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.
- [16] LIMA, M.P.L. DE; OLIVEIRA, J.V. DE; MARQUES, E.J. Manejo da lagarta-do-cartucho em milho com formulações de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1227-1230, 2009.
- [17] LOPES, R.B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba, FEALQ, p. 414, 2008.
- [18] LIU, K.; ZHENG, B.; HONG, H.; JIANG, C.; PENG, R.; PENG, J.; YU, Z.; ZHENG, J.; YANG, H. Characterization of cultured insect cells selected by *Bacillus thuringiensis* crystal toxin. **In Vitro Cellular &**

Developmental Biology Animal, Wuhan, v. 40, n. 10, p. 312-317, 2004.

[19] MONTEIRO, L.B.; SOUZA, A. Controle de torricídeos em macieira com duas formulações de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki em Fraiburgo, SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 423-428, 2010.

[20] MORAES, C.P.; FOERTER, L.A. Toxicidade e controle residual de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) com *Bacillus thuringiensis* Berliner e inseticidas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1335-1340, 2012.

[21] MORANDI FILHO W.J.; BOTTON, M.; GRÜTZMACHER, A.D.; ZANARDI, O.Z. Efeito de *Bacillus thuringiensis* e inseticidas químicos no controle de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick, 1909) (Lepidoptera: Tortricidae) em Videira. **Arquivos Instituto Biologia**, Campinas, v. 74, p. 129-134, 2007.

[22] NAVON, A. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection: reality and prospects. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p. 669-676, 2000.

[23] PEREIRA, J.M.; SEIL, A.H.; OLIVEIRA, M.F.; BRUSTOLIN, C.; FERNADES, P.M. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer) pela utilização de *Bacillus thuringiensis* (Berliner). **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 39, n. 2, p. 140-143, 2009.

[24] POLANCZYK, R.A.; SILVA, R.F.P. da; FIUZA, L.M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, p. 165-167, 2000.

[25] POLANCZYK, R.A.; ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. **Agrociência**, Montevideu, v. 7, p. 1-10, 2003.

[26] POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. O.; ALVES, S. B. Potencial de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 6, p. 813-816, 2003.

[27] POLANCZYK, R.A.; VALICENTE, F.H.; BARRETO, M.R. Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina, p.111-136. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**: avanços e desafios. Piracicaba, FEALQ, p. 414, 2008.

[28] RAYMOND, B.; LIJEK, R.S.; GRIFFITHS, R.I.; BONSALL, M.B. Quantifying the reproduction of *Bacillus thuringiensis* HD1 in cadavers and live larvae of *Plutella xylostella*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 98, n. 1, p. 307-313, 2008.

[29] REDDY, S.T.; KUMAR, N.S.; VENKATESWERLU, G. Comparative analysis of intracellular proteases in sporulates *Bacillus thuringiensis* strains. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 20, p. 279-281, 1998.

[30] SÁ, V.G.M. de; FONSECA, B.V.C.; BOREGAS, K.G.B.; WAQUIL, J.M. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, p. 108-115, 2009.

[31] SANTOS, R.S.S. dos. Ação de formulações comerciais de *Bacillus* spp. sobre lagartas de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 8, n. 14, p. 16, 2012.

[32] SAMPSON, M.N.; GOODAY, G.W. Involvement of chitinases of *Bacillus thuringiensis* during pathogenesis in insects. **Microbiology**, New York, v. 144, p. 2189-2194, 1998.

[33] SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; RIE, J.V.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D.R.; DEAN, D.H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Review**, Washington, v. 62, p. 775-806, 1998.

[34] SCHULER, T.H.; POPPY, G.M.; KERRY, B.R.; DENHOLM, I. Insect-resistant transgenic plants. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 16, p. 168-174, 1998.

[35] SHELTON, A.M.; ZHAO, J.Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 845-881, 2002.

[36] SIQUEIRA, P.R.E.; GRUTZMACHER, A.D. Avaliação de inseticidas para controle da *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) em pomares de pessegueiro sob produção integrada na região da Campanha do RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 185-191, 2005.

[37] VALLETE-GELLY, I.; LEMAITRE, B.; BOCCARD, F. Bacterial strategies to overcome insect defenses. **Nature Reviews: Microbiology**, London, v. 6, n. 4, p. 302-313, 2008.

[38] VILAS-BÔAS, G.T.; PERUCA, A.P.S.; ARANTES, O.M.N. Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* and *Bacillus thuringiensis*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 53, n. 1, p. 673-687, 2007.