



## **Mortalidade de bicho-mineiro causada por *Bacillus* spp. em condições de laboratório**

**Cecília Oliveira Vilarinho<sup>1</sup>(cecilia.-villarinho@hotmail.com), Thaís Martins Marrama<sup>1</sup>, Vanessa Andaló<sup>1</sup>, Bruno Sérgio Vieira<sup>1</sup>, Gleice Aparecida de Assis<sup>1</sup>, Lucas Silva de Faria<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, Minas Gerais.

**RESUMO:** O bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella*, destaca-se como uma das principais pragas da cultura do cafeeiro, pois se alimenta do parênquima paliçádico, diminuindo a capacidade fotossintética da planta e reduzindo a produção. O controle biológico tem sido considerado como alternativa no controle desse inseto, visto que o controle químico não tem sido considerado eficaz. Assim, teve-se como objetivo avaliar a patogenicidade e virulência de *Bacillus* spp. no controle de larvas de *L. coffeella* em laboratório. Para isso, foram estabelecidos ensaios para avaliar a patogenicidade de seis isolados de *Bacillus* sp. a fim de selecionar os considerados com maior virulência e também a melhor concentração de aplicação da bactéria. Desta forma, foram selecionados dois isolados, considerados mais virulentos, *Bacillus* sp. 22 e *Bacillus* sp. 202. A concentração que causou maior mortalidade de larvas foi a de  $1 \times 10^8$  UFC para ambos os isolados testados, sendo considerada como referência para utilização em testes posteriores em campo.

**Palavras-chave:** controle biológico, *Leucoptera coffeella*, bactéria entomopatogênica.

### **INTRODUÇÃO**

O bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville & Perrottet) (Lepidoptera: Lyonetiidae), destaca-se como uma das principais pragas da cultura do cafeeiro em função de sua ocorrência frequente associada a prejuízos econômicos, pois se alimenta do parênquima paliçádico foliar causando lesões na folha que diminuem a capacidade fotossintética da planta, ocasionando queda das folhas e redução na produção (EPAMIG, 1998).

Devido ao dano causado pelo ataque do bicho-mineiro e a dificuldade de controle nos períodos de maior infestação, o controle biológico é uma alternativa potencial para o controle do inseto-praga. Dessa forma, além da manutenção dos inimigos naturais na área, o uso de outros agentes de controle, como bactérias entomopatogênicas, pode auxiliar nas estratégias de controle (EMBRAPA, 2002).



A diversidade de microrganismos e suas relações antagônicas têm se mostrado excelentes ferramentas para o controle biológico, tal como quando utilizadas bactérias no controle de pragas, tendo maior destaque as bactérias do gênero *Bacillus*, devido a sua rápida multiplicação no hospedeiro e da versatilidade no mecanismo de ação, dessa forma driblando os mecanismos de defesa (FILHO et al., 2010).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em duas etapas. O primeiro teste foi realizado para a seleção de isolados de *Bacillus* spp. e o segundo para adequação da concentração de aplicação. Foi realizada a coleta de 100 folhas minadas do terço médio do cafeeiro *Coffea arabica* L. cultivar IAC125 RN, plantado em espaçamento de 3,5 m entre linhas e 0,7 m entre plantas em sistema de cultivo convencional, de área experimental com 1.225 m<sup>2</sup> (35 m x 35 m) e com 5% de declividade.

Para a seleção de isolados de *Bacillus* spp. a bicho-mineiro foi colocada uma folha com mina ativa em placa de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com duas folhas de papel filtro e aplicado 1 mL de suspensão por placa.

Para ajuste da concentração das bactérias foi o utilizado espectrofotômetro de massa, tendo objetivo de atingir o lambda pré-estabelecido em 600 nm, sendo usado o coeficiente OD com valor fixo de 0,2 para correção e determinação dos volumes finais. A concentração de aplicação foi padronizada em  $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC).

Foram testados seis isolados de *Bacillus* (tratamentos) e o controle, onde foi aplicada apenas água destilada, totalizando sete tratamentos. Foram realizadas duas avaliações, aos 7 e aos 10 dias após a aplicação das bactérias. O experimento foi estabelecido com 5 repetições por dia de avaliação, totalizando 7 tratamentos colocados em 70 placas, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, não sendo as parcelas subdivididas pelo tempo. As placas foram vedadas com Parafilm<sup>®</sup> e mantidas em câmara climatizada do tipo B.O.D. a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 70% UR e 24 h de escuro. Os dados de mortalidade obtidos foram submetidos à análise de variância e teste para comparação entre médias Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ).

Com base nos dados anteriores, foram testadas quatro concentrações dos dois *Bacillus* spp. selecionados, sendo estas  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  UFC, em esquema fatorial 3 x 4 (3 tratamentos e 4 concentrações). No controle foi aplicada apenas água destilada. Os experimentos foram conduzidos nas mesmas condições do ensaio anterior. Os dados de mortalidade obtidos foram submetidos à análise de variância e análise de regressão.



# Simpósio de Ciências Agrárias e Ambientais 2019

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à seleção de *Bacillus* spp. verificou-se que na avaliação de 7 dias os isolados 22, 202 e 05 diferiram dos demais tratamentos quanto à mortalidade às larvas de *L. coffeella* (Tabela 1). Aos 10 dias de avaliação *Bacillus* spp. isolados 22, 202 diferiram dos demais tratamentos (Tabela 1). Desta forma, os isolados *Bacillus* sp. 202 e *Bacillus* sp. 22 foram selecionados para os testes de concentração.

Tratamento (Isolado)*	Mortalidade (%)**	
	7 dias	10 dias
22	50 ± 22,3 a	70 ± 22,3 a
202	40 ± 22,3 a	80 ± 27,3 a
05	40 ± 22,3 a	20 ± 27,3 b
33	0 ± 0,0 b	40 ± 22,3 b
18	0 ± 0,0 b	40 ± 22,3 b
31	0 ± 0,0 b	20 ± 27,3 b
Controle	0 ± 0,0 b	0 ± 0,0 b

\* Isolados de *Bacillus* sp. \*\* Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em relação à concentração de aplicação dos isolados selecionados obteve-se que o aumento da concentração das bactérias acarretou a maior mortalidade de *L. coffeella*, tanto para o isolado 22 como para 202 (Figuras 1 e 2). Assim, a concentração  $1 \times 10^8$  foi considerada a melhor para a aplicação nas condições testadas.

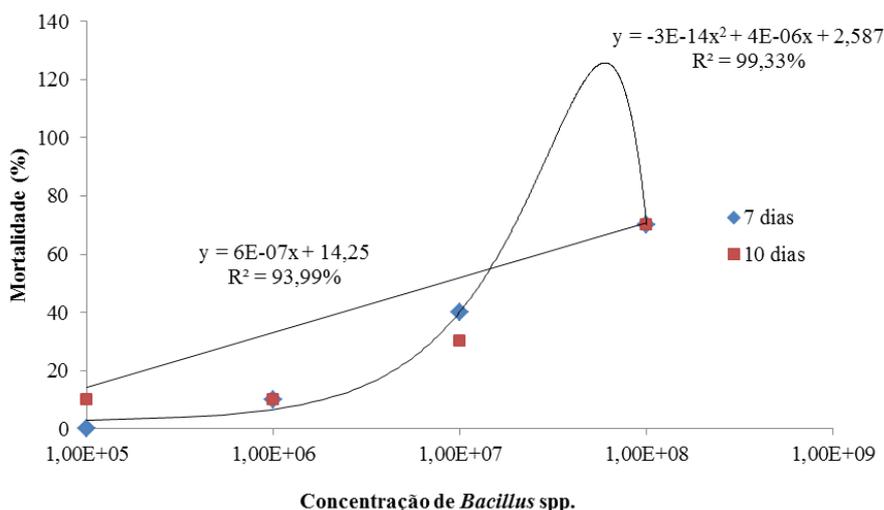




Figura 1. Mortalidade (%) de larvas de *Leucoptera coffeella* em função da aplicação de *Bacillus* sp. isolado 22 aos 7 e 10 dias de avaliação.

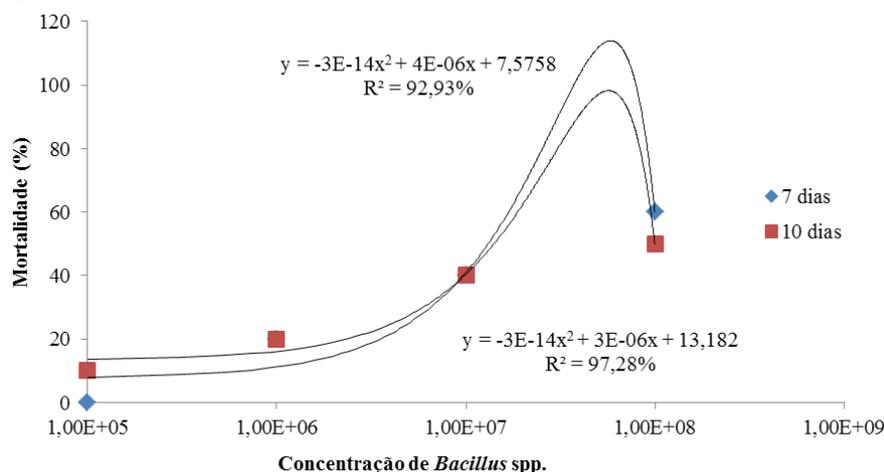


Figura 2. Mortalidade (%) de larvas de *Leucoptera coffeella* em função da aplicação de *Bacillus* sp. isolado 202 aos 7 e 10 dias de avaliação.

## CONCLUSÕES

*Bacillus* spp. apresentaram ação patogênica a larvas de *L. coffeella*, sendo selecionados os dois isolados considerados mais virulentos, *Bacillus* sp. 22 e *Bacillus* sp. 202.

A concentração que causou maior mortalidade de larvas foi a de  $1 \times 10^8$  UFC para ambos os isolados testados, sendo considerada como referência para utilização em testes futuros de mortalidade do bicho-mineiro em campo.

## REFERÊNCIAS

EPAMIG. **Bicho-mineiro do cafeeiro**: Biologia, danos e manejo integrado. 2. ed. rev., 1998, p.7-20.

EMBRAPA. **Principais pragas do cafeeiro em Rondônia**: Características, infestação e controle. Circular técnica 59, 2002, p.7-9.

FILHO, R.S. et al. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.