

EFEITO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Anagasta kuehniella*  
NA RESPOSTA DE SUAS LARVAS A INFECÇÕES CAUSADAS POR  
*Bacillus thuringiensis* VAR. *kurstaki*

Benedicto F. Amaral Filho<sup>1</sup>  
Mohamed E.M. Habib<sup>1</sup>

INTRODUÇÃO

Nos trópicos e subtropicais, *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera, Pyralidae) pode ter maior número de gerações sucessivas por ano, em comparação com as regiões temperadas, de modo que a deposição de excrementos e insetos mortos nos produtos armazenados pode resultar em maiores prejuízos, tornando-os inadequados ou até imprésteveis para alimentação (MONTE, 1934; GALLO et alii, 1970).

Segundo MONTE (1934), MARICONI (1963) e HABIB (1968), essa mariposa tem por hábito construir galerias nas farinhas ou nos grãos, ligando ou juntando estes materiais por fios de seda, fazendo um casulo onde passa a fase larval.

Para o desenvolvimento do estágio de pupa, abandona o local onde passou a fase larval e procura pequenas fendas de caixotes, costuras de sacas de produtos ou locais abrigados dentro dos depósitos. Com esse comportamento *A. kuehniella* provoca outro tipo de dano; METCALF & FLINT (1981), verificaram, nos Estados Unidos, que essa traça causou sérios problemas nos moinhos, fato esse observado no moinho da Duratex, em Campinas-SP, onde *A. kuehniella* causa o entupimento dos canos e maquinarias, obrigando a parar a produção, uma vez por mês, para a limpeza e desobstrução das tubulações, com grandes prejuízos.

---

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

Perturbações nesses micro habitats onde vive *A. kuehniella* provocam alterações no ciclo biológico e no comportamento desse inseto (AMARAL FILHO & HABIB, 1990) e segundo PARRA (1986) muitos pesquisadores têm-se preocupado com o estabelecimento e manutenção de colônias de insetos em laboratório, pois quando uma população de campo é introduzida no laboratório há perda gradativa da variabilidade genética e somente após várias gerações ocorre a sua estabilização.

Como foi proposto por AMARAL FILHO & HABIB (1992), um método alternativo de controle de *A. kuehniella* com produtos à base de *Bacillus thuringiensis*, o objetivo deste trabalho é comparar a resposta de larvas de *A. kuehniella* recém-coletadas no moinho e larvas de diferentes gerações de laboratório ao *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sorotipo H-3a:3b. A velocidade de adaptação dessa traça às condições de laboratório e a estabilização de sua variabilidade genética também foram avaliadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Zoologia, UNICAMP, com larvas recém-coletadas, denominadas larvas de campo, no Moinho Duratex S.A., Rações Anhanguera, Campinas-SP e larvas criadas e mantidas no Laboratório de Biologia e Manejo de Insetos Pragas, Departamento de Zoologia, UNICAMP, de acordo com a metodologia descrita por AMARAL FILHO & HABIB (1990).

Para o estudo da susceptibilidade comparada das larvas de campo e da geração F<sub>1</sub>, 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 (90,0 h e 126,0 h).

Para o estudo da evolução das respostas das larvas e da velocidade de adaptação de *A. kuehniella* às condições de laboratório, analisando a susceptibilidade a *B. thuringiensis* foi utilizado somente o produto Bactospeine, atra

vês das concentrações de 0,708% e 2,659% em 15 gerações consecutivas.

Os bioensaios foram realizados com larvas de 5º estágio, com peso médio de 28,15 mg. Trabalhou-se com 40 larvas em 2 placas de Petri (20 larvas por placa), por tratamento e número igual na 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

### 1. Susceptibilidade comparada entre as larvas de campo e da geração $F_1$ :

A susceptibilidade comparada entre as larvas de campo e da geração  $F_1$  foi verificada com indivíduos de 5º estágio, embora AMARAL FILHO & HABIB (1992) declarem que larvas de 1º estágio são mais recomendadas para bioensaios. Optou-se pelo uso das larvas de 5º estágio para esses experimentos, porque a sua incidência nas coletas era visivelmente superior à de qualquer outro estágio, pois é então que causam maior prejuízo nos moinhos. Nessas condições, os flocos de seda onde se desenvolvem são em maior volume, entopem as tubulações e obrigam a parada da fábrica para limpeza. É praticamente impossível coletar no moinho larvas de 1º estágio.

Os dados de susceptibilidade das larvas de campo e de geração  $F_1$ , expressa em  $TL_{50}$ , encontram-se na TABELA I.

Apesar de serem da mesma idade, as larvas coletadas do moinho mostraram-se mais susceptíveis do que as de criação de laboratório. O isolado Zoocamp-78, nas duas concentrações 0,708% e 2,659%, resultou no menor tempo letal mediano (58,05 h e 48,72 h), respectivamente. Esta situação assemelha-se ao comportamento das larvas de 1º estágio de *A. kuehniella*, observado e descrito por AMARAL FILHO & HABIB (1992), onde o isolado Zoocamp-78 foi o mais virulento.

Bactospeine, nas mesmas duas concentrações usadas, ocupou o 2º lugar, enquanto que Dipel e Thuricide, a 3ª e 4ª posições, respectivamente. Na concentração de 0,188% (relativamente baixa), Bactospeine teve um tempo letal mediano de 74,4 h, inferior ao obtido pelo isolado Zoocamp-78 (109,53 h), na mesma concentração.

Para as larvas de 5º estágio da geração F<sub>1</sub>, houve uma pequena inversão onde o produto Bactospeine se mostrou de maior virulência, com menor tempo letal mediano nas três concentrações usadas. Em 2º lugar encontram-se juntos Dipel e o isolado Zoocamp-78, sem diferença significativa entre eles. O Thuricide ocupou também, nas três concentrações, o último lugar, com um tempo letal mediano mais prolongado.

De um modo geral, as larvas coletadas no moinho mostraram-se mais susceptíveis a todos os preparados em suas diferentes concentrações, do que as de laboratório. Tal susceptibilidade pode ser interpretada pelo estresse e pela sua perturbação aguda desde a coleta no moinho até a realização dos bioensaios no laboratório, já que perturbações crônicas e inadequação nas condições da criação resultam em prolongamento do tempo de desenvolvimento, além da redução no peso das larvas, como citado em trabalhos de biologia (YAMVRIAS, 1962; BELL, 1975, 1976, 1981; CYMBOROWSKI & GIEBULTOWICZ, 1976; JACOB & COX, 1977; STEIN, 1985).

Os dados de concentração letal mediana após dois períodos de exposição (TABELA I), revelam que para as larvas de campo não houve diferença significativa entre Bactospeine e o isolado Zoocamp-78 após 90,0 h de exposição, juntos no 1º lugar. Após 126,0 h, Bactospeine apresentou a menor concentração letal mediana dentre os demais produtos. De um modo geral, Dipel e Thuricide ocuparam, mais uma vez, a terceira e última colocação, respectivamente.

Novamente, comparados entre si os dados da geração F<sub>1</sub>, verifica-se que Bactospeine reafirmou sua maior virulência para larvas de 5º estágio, através de menores concentrações letais em relação aos demais preparados. O iso

lado Zoocamp-78 não apresentou diferença significativa com Bactospeine após o tratamento de 90,0 h. Por outro lado, após 126,0 h houve diferença significativa, com este isolado em 2º lugar. O produto Dipel, apesar das diferenças numéricas, não foi estatisticamente diferente do preparado Zoocamp-78 nos dois horários de exposição. O Thuricide, pelo critério do CL<sub>50</sub>, confirma sua colocação em último lugar.

Comparando os dados das TABELAS I e II, verifica-se que o critério de tempo letal mediano se mostra mais preciso do que o de concentração letal mediana, provavelmente por terem sido relativamente prolongados os tempos de exposição escolhidos, ou, como HABIB (1982, 1986) sugere, que, para estudos de susceptibilidade e virulência, o critério de TL<sub>50</sub> possa ser recomendado para populações de grande variabilidade genética, que é o caso do presente estudo (larvas de campo e de laboratório geração F<sub>1</sub>) e os critérios de CL<sub>50</sub> possam ser sugeridos para populações de pequena variabilidade genética. Mesmo assim, após 90,0 h de exposição, em todos os casos, a concentração letal mediana para larvas de campo foi bem inferior à das larvas de laboratório, como confirmam os dados da TABELA I.

Entretanto, após 126,0 h de exposição, a susceptibilidade das larvas de campo foi praticamente semelhante à de laboratório, motivo pelo qual é preferível efetuar comparação após tempos de exposição mais curtos.

## 2. Efeito da adaptação de *A. kuehniella* às condições de laboratório na susceptibilidade de suas larvas no sorotipo H-3a:3b

Apesar da grande semelhança entre o habitat de um moinho e as condições de criação em laboratório, a velocidade de adaptação de *A. kuehniella* às condições controladas e o seu efeito na susceptibilidade das larvas deste inseto a Bactospeine foi avaliada durante 15 gerações sucessivas. Os dados de maior significância são apresentados na TABELA III. Utilizando as larvas da geração F<sub>1</sub> como padrão, verifica-se que as respostas das larvas da terceira e da quinta geração revelaram o mesmo nível de suscep-

**TABELA I.** Tempo letal mediano (TL<sub>50</sub>) e intervalo de confiança de larvas de 5º estágio de *Anagasta kuehniella* do campo e da geração F<sub>1</sub> tratadas com 3 concentrações de 4 preparados à base do sorotipo H-3a:3b.

Concen- tração	Geração	Bactopepine		Dipel		Zoocamp-78		Thuricide	
		TL <sub>50</sub> (horas)	Intervalo (horas)	TL <sub>50</sub> (horas)	Intervalo (horas)	TL <sub>50</sub> (horas)	Intervalo (horas)	TL <sub>50</sub> (horas)	Intervalo (horas)
0,188%	Campo	74,40	58,81 - 94,12	105,95	94,20 - 119,17	109,53	98,54 - 121,75	211,15	146,58 - 304,15
	F <sub>1</sub>	94,36	83,99 - 106,02	112,09	94,15 - 158,32	121,30	84,68 - 173,76	352,79	37,36 - 3330,9
0,708%	Campo	72,36	69,42 - 75,42	75,92	67,15 - 85,82	58,05	52,82 - 63,81	140,41	92,37 - 213,43
	F <sub>1</sub>	84,19	82,39 - 86,03	98,57	78,68 - 123,49	88,98	71,78 - 110,30	121,09	99,56 - 147,28
2,659%	Campo	57,27	50,51 - 64,85	68,50	64,17 - 73,12	48,72	46,71 - 50,82	81,68	74,16 - 89,97
	F <sub>1</sub>	68,23	65,86 - 70,67	78,58	71,85 - 85,93	74,18	68,45 - 80,39	91,16	75,38 - 110,24

TABELA II. Concentração letal mediana (CL<sub>50</sub>) e intervalo de confiança para larvas de 5º estágio de *Anagasta kuehniella* do campo e da geração F<sub>1</sub> após 2 tempos de exposição aos 4 preparados à base do sorotipo H-3a:3b.

Tempo (horas)	Geração	Bactospeine		Zoecamp-78		Dipel		Thuricide	
		CL <sub>50</sub> (%)	Intervalo (%)	CL <sub>50</sub> (%)	Intervalo (%)	CL <sub>50</sub> (%)	Intervalo (%)	CL <sub>50</sub> (%)	Intervalo (%)
90,0	Campo	0,119	0,066 - 0,214	0,138	0,096 - 0,197	0,298	0,159 - 0,559	1,397	0,566 - 3,451
	F <sub>1</sub>	0,249	0,161 - 0,384	0,320	0,132 - 0,772	0,566	0,293 - 1,000	2,776	0,924 - 8,338
126,0	Campo	0,028	0,010 - 0,082	0,085	0,065 - 0,114	0,098	0,058 - 0,165	0,542	0,314 - 0,936
	F <sub>1</sub>	0,037	0,026 - 0,053	0,109	0,049 - 0,239	0,159	0,067 - 0,375	1,067	0,853 - 1,333

tibilidade, porém um pouco inferior ao da geração F<sub>1</sub>.

**TABELA III.** Susceptibilidade expressa em TL<sub>50</sub>, de larvas de 5ª estágio de *Anagasta kuehniella* tratadas com 2 concentrações de Bactospeine em diferentes gerações.

Geração	C O N C E N T R A Ç Ã O			
	0,708%		2,659%	
	TL <sub>50</sub> (horas)	Intervalo (horas)	TL <sub>50</sub> (horas)	Intervalo (horas)
F <sub>1</sub>	84,19	82,39 - 86,03	68,23	65,86 - 70,67
F <sub>3</sub>	75,74	71,65 - 80,06	52,85	48,75 - 57,29
F <sub>5</sub>	73,92	65,25 - 83,75	51,13	47,34 - 55,22
F <sub>6</sub>	63,62	57,63 - 70,24	46,22	40,13 - 53,23
F <sub>11</sub>	66,56	61,50 - 72,04	58,57	55,77 - 61,51
F <sub>15</sub>	58,83	47,45 - 72,94	49,16	46,62 - 51,85

A partir da sexta geração a susceptibilidade permaneceu constante até a décima quinta, apesar de se manter um pouco inferior àquela da quinta geração. Em outras palavras, foram detectados durante essas 15 gerações, 3 níveis de susceptibilidade:

1º Nível, da geração F<sub>1</sub> com maior TL<sub>50</sub>;

2º Nível, da 3ª e 5ª geração com susceptibilidade pouco superior à do 1º nível;

3º Nível, da 6ª à 15ª geração, mostrando alta e constante susceptibilidade, indicada pelos menores valores de TL<sub>50</sub>.

Apenas na concentração de 2,659%, as larvas da geração F<sub>11</sub> mostraram um comportamento atípico, indicado por um tempo letal mediano relativamente alto e próximo ao do 2º nível, em vez de pertencer ao do 3º.



Esses dados indicam claramente a estabilidade da criação a partir da 6ª geração, e permitem sugerir que, para estudos de susceptibilidade, é preferível trabalhar com larvas a partir desta geração, para obter dados mais precisos e comparações mais coerentes.

## RESUMO

A proposta deste estudo foi comparar a resposta de larvas de *A. kuehniella* recém-coletadas no moinho da Dura-tex, Campinas-SP e larvas da geração F<sub>1</sub> de laboratório, assim como a velocidade de adaptação desse inseto às condições de laboratório, avaliando a susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis*.

Utilizaram-se larvas de 5º estágio nos bioensaios e foram observados os resultados de 15 gerações em laboratório. Concluiu-se que as larvas de campo foram mais susceptíveis que as larvas da geração F<sub>1</sub> e que a estabilidade genética da população iniciou-se a partir da 6ª geração, sob as condições laboratoriais e de manuseio do presente trabalho.

**Palavras-chave:** *Anagasta kuehniella*, infecção por *Bacillus thuringiensis*, variabilidade genética de larvas.

## SUMMARY

### GENETIC VARIABILITY EFFECT ON THE BIOLOGICAL RESPONSES OF *Anagasta kuehniella* LARVAE INFECTED BY *Bacillus thuringiensis* VAR. *kurstaki*

Comparative susceptibility of the 5<sup>th</sup> instar of *A. kuehniella* larvae was evaluated. The bioassays utilizing different preparations based on *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, were realized under laboratory conditions of 25 ± 2°C and 70 ± 10% R.H.

Due to a probable stress, the collected larvae showed to be more susceptible than the F<sub>1</sub> larvae created under laboratory conditions. After five generations, genetic

stability was found to be acquired among *A. kuehniella* population

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

## LITERATURA CITADA

- AMARAL FILHO, B.P. & M.E.M. HABIB, 1992. Susceptibilidade de larvas de 1º estágio de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lep., Pyralidae) à *Bacillus thuringiensis*. **Rev. de Agric.**, Piracicaba, **67**(1):
- AMARAL FILHO, B.F. & M.E.M. HABIB, 1990. Biologia de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera, Pyralidae). **Rev. de Agric.**, Piracicaba, **65**(2): 133-143.
- BELL, C.H., 1975. Effects of temperature and humidity on development for four pyralid moth pests of stored products. **J. Stored Prod. Res.**, **11**: 167-175.
- BELL, C.H., 1976. Effect of cultural factors on the development of four stored product moths. **J. Stored Prod. Res.**, **12**: 185-193.
- BELL, C.H., 1981. The influence of light cycle and circadian rhythm on oviposition in five pyralid moth pests of stored products. **Physiological Entomology**, **6**: 231-239.
- CYMBOROWSKI, B. & J.M. GIENULTOWICZ, 1976. Effect of photoperiod on development and fecundity in the moth *Ephestia kuehniella*. **J. Insect Physiol.**, **22**: 1213-1217.
- GALLO, D.; O. NAKANO; F.M. WIENDL; S.S. NETO & R.P.L. CARVALHO, 1970. **Manual de Entomologia: Pragas de Plantas e seu Controle**. São Paulo, Ceres. 858p.
- HABIB, M.E.M., 1968. Histopathological Studies on the Effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner, on the Mediterranean Flour Moth, *Anagasta kuehniella* Zeller. (Mestrado - Faculdade de Agric. Universidade de Alexandria).
- HABIB, M.E.M., 1982. Patogenicidade de duas Variedades de *Bacillus thuringiensis* Berliner para Larvas de Le-

- pidoptera e Diptera. Campinas. 163p. (Livre-Docência, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas).
- HABIB, M.E.M., 1986. Padronização de Inseticidas Microbianos. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano**. São Paulo, Manoel. p.289-310.
- JACOB, T.A. & P.A. COX, 1977. The influence of temperature and humidity on the life cycle of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae). **J. Stored Prod. Res.**, 13: 107-118.
- MARICONI, M.A.F., 1963. **Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas**. 2.ed. São Paulo, Ceres. 607p.
- METCALF, C.L. & W.P. FLINT, 1981. **Insects Destructivos e Insects Utiles. Sus Costumbres y su Control**. México, Com. Ed. Cont., S.A. 1208p.
- MONTE, O., 1934. Borboletas que vivem em plantas cultivadas. **Bol. Agric. Zoot. Vet.**, Belo Horizonte, 7 (10): 241-264.
- PARRA, P.R.J., 1986. Criação de Insetos para Estudos com Patógenos. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano**. São Paulo, Manoel. p.348-373.
- STEIN, P.C., 1985. Técnicas de Criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) para Estudos com *Trichogramma*. Piracicaba. 89p. (Mestrado - ESALQ/USP).
- 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.