

Técnica do inseto estéril com fungos entomopatogênicos no controle de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Clayton Moreira Leal¹; Beatriz Aguiar Jordão Paranhos²; Maylen Gomêz³; José Osmã Teles Moreira⁴; Carlos Alberto Tuão Gava⁵

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de um composto fungistático utilizado em dieta artificial de *Ceratitis capitata* sobre a virulência de *Beauveria bassiana* LCB289 e *Metarhizium anisopliae* LCB255 a machos estéreis tsl Vienna-8. O experimento foi conduzido no período de 1º de abril a 9 de julho de 2018. Os insetos foram criados utilizando-se quatro tratamentos: 1) adulto e larva alimentados com dieta inserida de metilparabeno - MPB (Nipagin®) 0,2%; 2) solução de MPB 0,2% somente na fase adulta; 3) apenas larva com dieta contendo MPB 0,2% e 4) adulto e larva sem MPB (tratamento controle). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e 20 insetos por repetição. O tratamento com oferta de MPB na fase larval e adulta proporcionou maior sobrevivência (TL_{50} 6,0 dias) para o LCB289 e 6,5 dias para LCB255. Ambos diferiram significativamente da testemunha, mas não houve diferença quando comparados ao tratamento no qual apenas as larvas receberam MPB (TL_{50} = 6,0 dias) para LCB 289. O pareamento das fêmeas com machos criados com oferta de MPB nas duas fases resultou em maior mortalidade de fêmeas. O uso do MPB aumentou a sobrevivência do macho estéril, incrementando a sua eficiência como vetor dos fungos entomopatogênicos.

Palavras-chave: controle biológico, entomopatógenos, fungistáticos.

¹Engenheiro-agrônomo, mestrando em Horticultura Irrigada — Uneb, bolsista Capes, Juazeiro, BA.

²Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³Bióloga, D.Sc. em Ciências Biológicas, Moscamed Brasil, Juazeiro, BA.

⁴Engenheiro-agrônomo, Dr. em Ciências Biológicas, professor da Uneb, Juazeiro, BA.

⁵Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, carlos.gava@embrapa.br.

Introdução

A mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) (Tephritidae) é uma espécie cosmopolita que se tornou uma das pragas mais destrutivas para a produção de frutas, causando elevados prejuízos à fruticultura mundial. No Brasil, esta praga se encontra amplamente distribuída no território nacional e, nos últimos anos, se tornou uma das causas para o estabelecimento de barreiras fitossanitárias nos mercados importadores de frutas indenizadas à praga (Nascimento et al., 2008). Entre as estratégias de controle adotadas, o uso de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Met.) Sorokin pode representar uma alternativa viável contra moscas-das-frutas (Rosa et al., 2002; Toledo et al., 2006).

Nos estudos realizados na Embrapa Semiárido, demonstrou-se que a transferência horizontal de propágulos pode ser importante para a disseminação dos agentes de controle na população, resultando em elevada mortalidade dos insetos (Gonçalves et al., 2013). Este resultado indica a possibilidade do uso de machos estéreis para a dispersão de propágulos virulentos nas populações selvagens. No entanto, seus efeitos podem causar uma série de distúrbios fisiológicos no macho estéril, podendo comprometer a competição e reduzir a eficiência da técnica.

Nos estudos de Toledo et al. (2007), por exemplo, machos estéreis de *Anastrepha ludens* tratados com conídios de *B. bassiana* apresentaram baixa sobrevivência em campo. Assim, é possível que a adição de fungicidas ou de fungistáticos à dieta de criação massal atenuem o efeito letal dos fungos.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de metilparabeno, conservante utilizado em dieta de mosca-das-frutas, sobre a sobrevivência de machos estéreis *tsl* Vienna-8 tratado com propágulos infectivos de *B. bassiana* e *M. anisopliae* previamente selecionados para o controle de *C. capitata*.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido no período de março a junho de 2018. Os machos estéreis *tsl* Vienna-8 foram criados na Biofábrica Moscamed Brasil, Juazeiro, BA. Os insetos foram criados utilizando-se quatro grupos: 1) adulto e larva alimentados com dieta inserida de metilparabeno - MPB (Nipagin®) 0,2% (L+A+); 2) solução de MPB 0,2% somente na fase adulta (L-A+); 3) apenas larva com dieta contendo MPB 0,2% (L+A-) e 4) adulto e larva sem MPB, tratamento controle (L-A-).

Foram utilizados os isolados *B. bassiana* LCB289 e *M. anisopliae* LCB255, previamente selecionados quanto à virulência a *C. capitata*. Os fungos foram cultivados meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) a $28 \pm 0,5$ °C durante 15 dias e produzidos em escala utilizando-se a metodologia descrita por Almeida et al. (2007). Em seguida, os conídios foram extraídos dos grãos de arroz com o uso de um extrator de conídios Mycoharvester M5 (ACIS R&D, Devon, UK).

Após a emergência, os machos foram mantidos em gaiolas por 4 dias com oferta de alimento, água ou solução de MPB 0,2% *ad libitum*. Os tsl foram infestados com formulação em pó contendo 10^8 conídios g^{-1} . Após 2 horas de repouso, os machos foram transferidos para gaiolas em grupos de 20 insetos nas quais foram introduzidas fêmeas virgens e sexualmente maduras.

Para os bioensaios foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial de $(4 \times 3) + 1$, 4 combinações de MPB, 2 fungos, 1 controle apenas, com adjuvante e 1 absoluto. Obtendo-se os seguintes tratamentos: T1: L+A+ tratado com 289; T2: L+A+ tratado com 255; T3: L+A+ com adjuvante; T4: L+A- tratado com 289; T5: L+A- tratado com 255; T6: L+A- tratado com adjuvante; T7: L-A+ tratado com 289; T8: L-A+ tratado com 255; T9: L-A+ tratado com adjuvante; T10: L-A- tratado com 289; T11: L-A- tratado com 255; T12: L-A- tratado com adjuvante e o T13: L-A- sem adjuvante (controle absoluto).

O experimento foi repetido três vezes e os dados dos tratamentos controle foram utilizados para a correção da mortalidade dos insetos. Após a análise de variância, os dados de mortalidade corrigida de machos e fêmeas ao longo do tempo foram analisados pelo método de Kaplan-Meyer, comparando-se os tratamentos com MPB e o controle absoluto pelo teste de Mantel-Cox.

Resultados e Discussão

Houve interação significativa entre os fungos e a oferta de MPB em diferentes fases de desenvolvimento de *C. capitata*. Os machos que receberam o MPB na fase de larva e adulto apresentaram mortalidade significativamente menor ($P < 0,05$) do que o controle, quando tratados com os isolados *B. Bassiana* LCB289 e *M. Anisopliae* LCB255 (Figura 1). Não houve diferença significativa entre os dois isolados pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Além da mortalidade total, houve diferença significativa entre as curvas de mortalidade dos machos do tratamento L+A+ (adulto e larva alimentados com metilparabeno), com sobrevida média (TL_{50}) de 6 dias, enquanto o tratamento controle (L-A-) apresentou TL_{50} de 4 dias, quando tratado com *B. bassiana* LCB 289 pelo teste de GBW ($c^2 = 5,319$; $GL = 1$; $P < 0,05$). De forma similar,

também houve diferença significativa para o tratamento L+A+, com $LT_{50} = 6,5$ dias e o tratamento controle, com $TL_{50} = 3,5$ dias, tratado com *M. anisopliae* LCB 255 ($c^2 = 4,922$; $GL = 1$; $P < 0,05$). Estes resultados de sobrevivência dos insetos após o tratamento com cepas virulentas de fungos são superiores àqueles obtidos por Toledo et al. (2006), que registraram TL_{50} de 4,2 dias para *C. capitata* tratados com *B. bassiana* sem a suplementação de fungicidas na dieta.

Houve diferença significativa entre a curva de mortalidade de fêmeas expostas aos machos oriundos das diferentes dietas e tratados com propágulos dos fungos pelo teste de GBW ($c^2 = 4,658$; $DF = 1$; $P < 0,05$). Nos tratamentos com *B. bassiana* LCB289, as fêmeas pareadas com insetos do tratamento L+A+ apresentaram a menor sobrevivência média, com TL_{50} de 6 dias, enquanto aquelas pareadas com machos do tratamento L-A- apresentaram TL_{50} de 9 dias (Figura 1). Não houve diferença significativa na curva de mortalidade de fêmeas expostas ao tratamento L+A+ ($TL_{50} = 8$ dias) e o tratamento L+A- ($TL_{50} = 11$ dias) para o LCB 289.

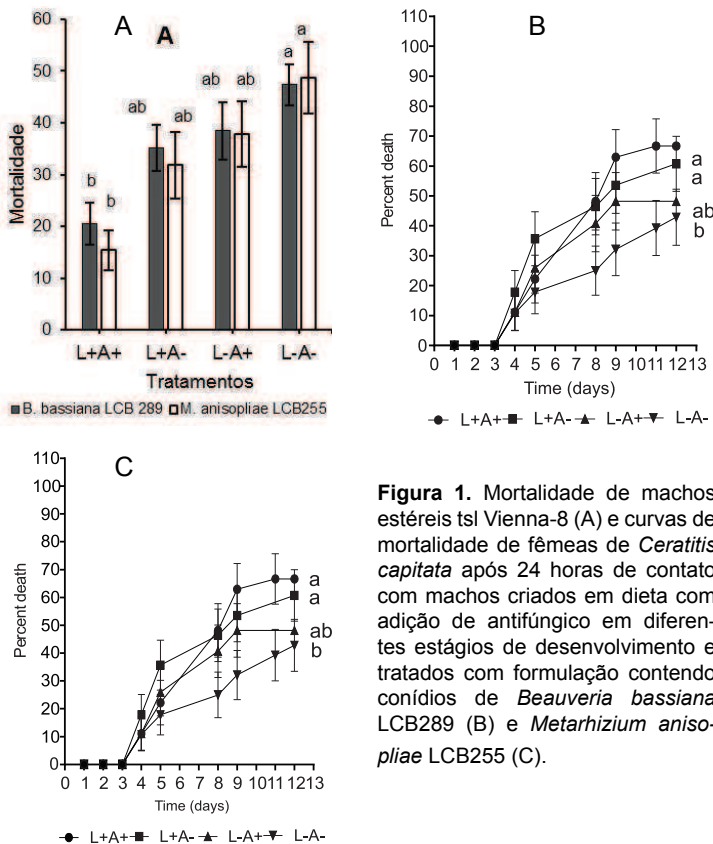


Figura 1. Mortalidade de machos estéreis tsetse (A) e curvas de mortalidade de fêmeas de *Ceratitis capitata* após 24 horas de contato com machos criados em dieta com adição de antifúngico em diferentes estágios de desenvolvimento e tratados com formulação contendo conídios de *Beauveria bassiana* LCB289 (B) e *Metarhizium anisopliae* LCB255 (C).

Nos tratamentos com infestação dos machos com o *M. anisopliae* LCB255, houve diferença significativa ($\chi^2=3,75$; $DF=1$; $P<0,05$), também, entre a curva de mortalidade de fêmeas expostas aos machos do tratamento L+A+, resultando em TL_{50} de 8 dias, e os machos do tratamento L-A-, que resultou em $TL_{50} > 12$ dias. Para o mesmo fungo, não houve diferença significativa na curva de mortalidade de fêmeas expostas ao tratamento L+A+ e o tratamento L+A- ($DL_{50} = 9$ dias).

A adição de metilparabeno, composto com ação fungicida a ser aplicado em criação massal de *C. capitata*, aumentou a sobrevivência do macho estéril tsl Vienna-8 tratado com isolados virulentos de fungos entomopatogênicos. Além disso, houve maior mortalidade das fêmeas em contato com machos que receberam MPB na fase larval e adulta. Esses resultados indicam que com o MPB aplicado nas dietas, um maior número de machos tratados realizou a transferência do inóculo ao entrar em contato direto com maior número de fêmeas, causando maior mortalidade (Toledo et al., 2017).

A partir dos resultados obtidos, infere-se que o prolongamento da viabilidade dos machos em decorrência da adição de MPB às dietas pode ser uma estratégia importante a ser adotada para a criação de machos estéreis de *C. capitata* com a finalidade de serem usados como vetores de propágulos de fungos virulentos como ação complementar ao seu uso no controle de populações da mosca-das-frutas.

Conclusão

A adição de metilparabeno em dietas ofertadas nas fases de larva e adultos reduziu a mortalidade de machos estéreis de *C. capitata* tsl Vienna-8 após o tratamento com estirpes virulentas de fungos entomopatogênicos.

A adição de metilparabeno em dietas de larvas e de larvas e adultos de machos estéreis de *C. capitata* tsl Vienna-8 aumentou em 82,5% e 67% a mortalidade de fêmeas quando expostas a machos previamente tratados com *B. bassiana* LCB289 e *M. anisopliae* LCB255, respectivamente.

Referências

ALMEIDA, J. E. M.; ROCHA, T. C.; FILHO, A. B. Desenvolvimento de método para extração física de conídios de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para formulação pó seco e molhável de bioinseticidas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 4, p. 369-371, 2007.

GONÇALVES, J. S.; TAVARES, P. F. S.; COELHO, R. S.; PARANHOS, B. A. J.; GAVA, C. A. T. Efeito de conservantes usados em dietas de moscas-das-frutas sobre a patogenicidade de fungos entomopatogênicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 2012, Curitiba. **SEB - 40 anos de avanços da Ciência Entomológica Brasileira**. Curitiba: SEB, 2012. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/68909/1/1801-1.pdf>>. Acesso em: 5 fev. 2018.

NASCIMENTO, A. S.; AGUIAR, W.; SÁ, R. F. de; CARVALHO, R. S.; CASTELLANI, M. A.; MOREIRA, A. A.; SÃO JOSÉ, A. R.; WALDER, J. M. M.; SILVA, V. E. S.; MALAVASI, A.; PARANHOS, B. A. J. Técnica do Inseto Estéril (TIE): nova tecnologia para o controle de moscas-das-frutas no Brasil; Projeto Piloto Livramento de Nossa Senhora. **Bahia Agrícola**, v. 8, n. 2, p. 53-57, 2008.

ROSA, W. de la; LOPEZ, F. L.; LIEDO, P. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 1, p. 36-43, 2002.

TOLEDO, J.; LIEDO, P.; FLORES, S. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for fruit fly control: a novel approach. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 7., 2006, Salvador. **Proceedings...** [Juazeiro: Moscamed Brasil], 2006. Disponível em: <<http://www.moscamed.org.br/symposium.html>>. Acesso em: 7 ago. 2018.

TOLEDO, J.; CAMPOS, S. E.; FLORES, S.; LIEDO, P.; BARRERA, J. F.; VILLASEÑOR, A.; MONTOYA, P. Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* in *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) under laboratory and field cage conditions. **Journal of economic entomology**, v. 100, n. 2, p. 291-297, 2007.

TOLEDO, J.; FLORES, S.; CAMPOS, S.; VILLASEÑOR, A.; ENKERLIN, W.; VALLE, P. L. A.; MONTOYA, P. Pathogenicity of three formulations of *Beauveria bassiana* and efficacy of autoinoculation devices and sterile fruit fly males for dissemination of conidia for the control of *Ceratitis capitata*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 164, n. 3, p. 340-349, 2017.