

Formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para aplicação em machos estéreis como vetores para fêmeas de *Ceratitis capitata*

Clayton Moreira Leal¹; Carlos Alberto Tuão Gava²;
Beatriz Aguiar Jordão Paranhos³; Maylen Gomèz⁴;
José Osmã Teles Moreira⁵

Resumo

Este trabalho teve como objetivo selecionar adjuvantes para aplicação de conídios de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para aplicação em machos estéreis tsl Vienna-8 e transmissão horizontal para fêmeas selvagens de *Ceratitis capitata*. O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido, utilizando-se dois isolados previamente selecionados quanto à virulência a *C. capitata*, *M. anisopliae* LCB255 e *B. bassiana* LCB289. As formulações continham 10^{10} conídios g^{-1} . Utilizou-se arroz, amido de mandioca, amido de milho, amido de batata e sílica micronizada como agentes dispersantes. Foi adotado um esquema fatorial de $(4 \times 2) + 1$, sendo quatro adjuvantes, dois fungos e um controle com cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. Todos os machos tratados com dióxido de sílica (SiO_2) morreram 4 horas após a aplicação dos tratamentos. O amido de mandioca permite o voo do macho estéril com teor de inóculo capaz de transmiti-lo para as fêmeas durante a cópula.

Palavras-chave: controle biológico, moscas-das-frutas, técnica do inseto estéril.

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

² Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, carlos.gava@embrapa.br.

³ Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE

⁴ Bióloga, D.Sc. em Ciências Biológicas, Moscamed Brasil, Juazeiro, BA.

⁵ Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Ciências Biológicas, professor da Uneb, Juazeiro, BA.

Introdução

A mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* é considerada praga-chave para a maioria das fruteiras em todo o mundo, acarretando grandes prejuízos à produção. Os danos são causados diretamente nos frutos, onde as larvas podem permanecer alojadas na fase de comercialização, implicando no estabelecimento de barreiras quarentenárias pelos países importadores indenes. Os métodos empregados para o controle desta praga são principalmente a adoção de medidas de manejo cultural e profilático, além da aplicação de iscas tóxica à base de inseticidas (Botton et al., 2014). No Submédio do Vale do São Francisco, a adoção das medidas recomendadas é baixa e os resultados têm sido insatisfatórios.

Uma das estratégias mais eficientes no controle das moscas-das-frutas é o uso da técnica do inseto estéril (TIE). No entanto, sua aplicação é recomendada apenas para campos com baixa infestação da praga, promovendo a manutenção dessas taxas ou a erradicação da população (Paranhos et al., 2010). Nas condições atuais de infestação das áreas de produção no Submédio do Vale do São Francisco, o uso da TIE não é recomendado. Contudo, sua aplicação em conjunto com técnicas alternativas, como sua associação a entomopatógenos, pode aumentar a sua eficiência e viabilizar a aplicação.

O controle microbiano de insetos é uma alternativa viável para ampliar os métodos de controle de *C. capitata*, principalmente se utilizado de forma sinérgica com a TIE. No entanto, para melhorar a aplicação de conídios dos fungos no controle biológico nos machos estéreis, é necessário o desenvolvimento de formulações mais adequadas para esta finalidade.

Este trabalho teve como objetivo selecionar adjuvantes para aplicação de conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em machos estéreis tsl Vienna-8 de forma a alcançar a transmissão horizontal de inóculo para fêmeas selvagens de *C. capitata*.

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido, no período de 4 junho a 26 de julho de 2018, utilizando-se dois isolados previamente selecionados quanto à virulência a *C. capitata*, *M. anisopliae* LCB255 e *B. bassiana* LCB289).

Adotou-se um esquema fatorial de $(4 \times 2) + 1$, sendo quatro adjuvantes, dois fungos e um controle com cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. Para a obtenção dos conídios, os isolados foram cultivados em

meio de batata dextrose ágar (BDA) a $28 \pm 0,5$ °C durante 15 dias. Uma suspensão de conídios foi obtida de placas densamente colonizadas, utilizando-se uma solução de Triton X-100 0,05% como dispersante. A suspensão foi padronizada a 10^8 conídios mL⁻¹ e inoculadas em erlenmeyers contendo 200 mL de arroz parboilizado com 50% de umidade e autoclavado. Após a inoculação, foi incubado a $28 \pm 0,5$ °C por 15 dias até a obtenção da máxima esporulação aparente.

A biomassa fúngica foi removida e transferida para estufa de desidratação com circulação forçada de ar a 35 °C até atingir teor de umidade em torno de 10%. Após a desidratação, os conídios foram separados dos grãos utilizando-se extrator de conídios Mycoharvester M5 (ACIS R&D, Devon, UK). Os conídios foram utilizados na preparação de cinco formulações utilizando-se farinha de arroz, amido de mandioca, amido de milho, amido de batata e sílica micronizada. As formulações continham 10^{10} conídios g⁻¹ e foram mantidas em refrigeração a 8 °C até seu uso.

Os machos estéreis utilizados foram obtidos da colônia de *C. capitata* linhagem mutante tsl Vienna-8 da Biofábrica Moscamed Brasil, Juazeiro, BA. Os insetos foram nocauteados por exposição a frio (-10 °C por 30s) e, ainda letárgicos, receberam tratamento de 100 mg de cada formulação para 100 machos nocauteados. Em seguida, os insetos foram transferidos para gaiolas em grupos de 15, nas quais foram introduzidas fêmeas saudáveis e sexualmente maduras, 4 horas após o tratamento inicial. Cinco machos estéreis tratados de cada tratamento foram recuperados e o número de conídios aderidos foi avaliado pela extração em Triton X-100 0,1% e contagem em câmara de Neubauer.

O experimento foi conduzido por duas vezes, utilizando-se lotes de insetos independentes, avaliando-se o número de conídios aderidos ao corpo dos insetos, a recuperação dos machos estéreis tsl Vienna-8, 2 horas após o tratamento, e a mortalidade causada pela transferência horizontal para fêmeas saudáveis de *C. capitata*. Todos os adjuvantes foram aplicados isoladamente para a correção da mortalidade dos machos tsl Vienna-8. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância e teste de Tukey a 5% de significância para a mortalidade corrigida acumulada de fêmeas em 8 dias.

Resultados e Discussão

Todos os insetos tratados com a formulação utilizando dióxido de sílica (SiO₂) morreram 4 horas após a aplicação dos tratamentos e os dados foram descartados. Houve interação significativa entre os adjuvantes e os isolados na recuperação dos machos estéreis pelo teste de F.

Não houve diferença significativa na recuperação dos insetos tratados apenas com os adjuvantes (Figura 1). No entanto, os machos tratados com formulação de LCB255 em amido de arroz, seguido de amido de milho, tiveram a menor recuperação entre os tratamentos ($P < 0,05$). A maior taxa de recuperação para LCB255 foi obtida com amido de mandioca e batata. A recuperação dos machos tratados com *B. bassiana* LCB289 não diferiu significativamente ($P > 0,05$) do controle, independentemente do tipo de adjuvante (Figura 1).

De modo geral, obteve-se maior aderência de conídios nos machos tratados com o isolado *B. bassiana* LCB289. Contudo, a maior carga de conídios no corpo dos insetos foi obtida quando se utilizou formulações contendo amido de arroz para os dois fungos, enquanto a menor foi obtida com o amido de batata. A maior adesão dos conídios, observada com formulações de LCB289, pode estar relacionada com suas menores dimensões. As formulações com amido de arroz, por sua vez, possuem maior granulometria, provavelmente, permitindo maior superfície de contato com os conídios.

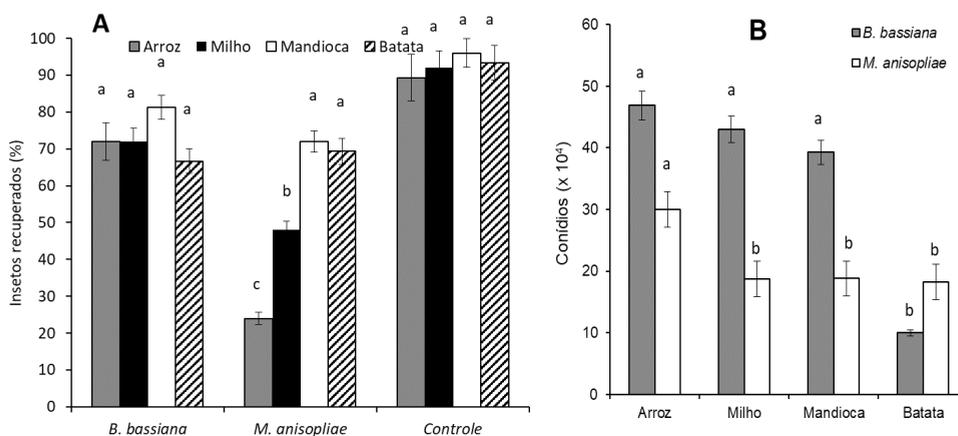


Figura 1. Sobrevivência de machos estéreis de *Ceratitits capitata* mutante tsl Vienna-8 (A) e número de conídios aderidos ao corpo dos insetos (B) após tratamento com formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* contendo amido de diferentes fontes como adjuvantes 4 horas após a aplicação.

Houve interação significativa entre os adjuvantes e os isolados na mortalidade de fêmeas, com valores significativamente maiores com a aplicação de *B. bassiana* LCB289 utilizando amido de batata como adjuvante (Figura 2). Contudo, não houve diferença significativa entre os adjuvantes usando o *M. anisopliae* LCB 255.

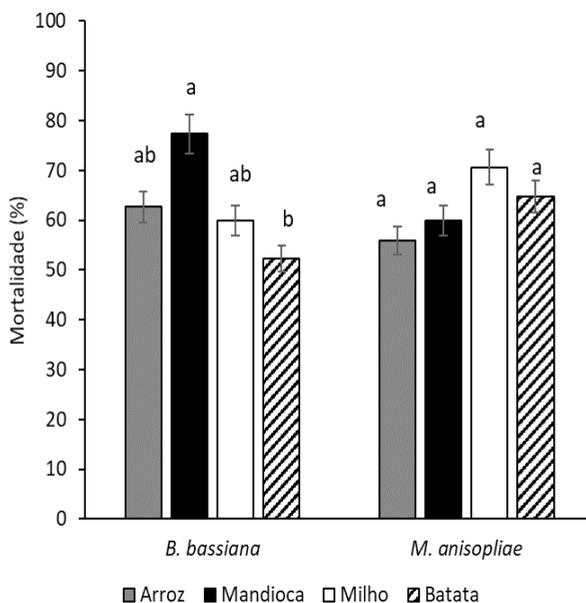


Figura 2. Mortalidade de fêmeas de *Ceratitís capitata* 8 dias após a liberação em gaiolas com machos estéreis tsl Viena-8 previamente tratados com formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* contendo amido de diferentes fontes como adjuvantes.

Poucos estudos foram realizados com o objetivo de selecionar formulações para uma maior eficiência na transferência horizontal de propágulos infecciosos. No estudo de Ugine et al. (2005), por exemplo, o objetivo foi a comparação entre formulações em óleo e pó molhável (WP) para a adesão ao tegumento de tripes, concluindo-se que a formulação WP foi a mais eficiente. Neste estudo, buscou-se um adjuvante que permitisse a adesão de número adequado de conídios ao corpo dos machos estéreis, mas que permita a rápida recuperação e dispersão dos insetos. O amido de mandioca apresentou a melhor recuperação dos machos após o tratamento, tanto para *B. bassiana* LCB289, *M. anisopliae* LCB255 e no controle. Isso sugere que este adjuvante permitiu menor aderência dos conídios aos machos, mas suficiente para realizar a transmissão horizontal e causar elevada mortalidade entre as fêmeas. Resultados similares foram alcançados por Ment et al. (2010) que, em seus estudos com carrapatos aplicando uma formulação aquosa, obtiveram número de conídios aderidos similar ao obtida neste experimento, variando em torno de 2 a 3 x10⁴ conídios por indivíduo.

Conclusão

O uso de amido de mandioca nas formulações resultou em recuperação de maior número de machos com teor de inóculo capaz de transmitir quantidade suficiente de inóculo para as fêmeas durante a cópula, causando elevada mortalidade.

Referências

BOTTON, M.; NAVA, D. E.; ARIOLI, C. J.; GRÜTZMACHER, A. D.; PARANHOS, B. A. J., MACHIOTA JUNIOR, R. Novas tecnologias para o manejo de moscas-das-frutas no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 25., 2014, Goiânia, GO. **Resumos...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão; Universidade Federal de Goiás, 2014. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/117962/1/DoriNava-Marcos-Botton.pdf>>. Acesso em: 7 de ago. 2018.

MENT, D.; GINDIN, G.; ROT, A.; SOROKER, V.; GLAZER, I.; BAREL, S.; SAMISH, M. Novel technique for quantifying adhesion of *Metarhizium anisopliae* conidia to the tick cuticle. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 11, p. 3521-3528, 2010.

PARANHOS, B. J.; PAPADOPOULOS, N. T.; MCINNIS, D.; GAVA, C. A. T.; LOPES, F. S. C.; MORELLI, R.; MALAVASI, A. Field dispersal and survival of sterile medfly males aromatically treated with ginger root oil. **Environmental Entomology**, v. 39, n. 2, p. 570-575, 2010.

UGINE, T. A.; WRAIGHT, S. P.; SANDERSON, J. P. Acquisition of lethal doses of *Beauveria bassiana* by western flower thrips exposed to foliar spray residues of formulated and unformulated conidia. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 90, p. 10-23, 2005.