

Efeito de Conservantes Antimicrobianos Usados em Dietas de Moscas-das-Frutas sobre a Virulência de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

Effect of Antimicrobial Compounds Used in Fruit Flies (*Ceratitis capitata*) Hearing Diets in the Virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Isolates

Paula Fernannda de Souza Tavares¹, Josélia Santana Gonçalves¹, Rosamara Souza Coelho¹, Beatriz Aguiar Jordão Paranhos², Carlos Alberto Tuão Gava¹³

Resumo

As moscas-das-frutas são importantes pragas de fruteiras, com sérias restrições quarentenárias sobre a exportação de frutos frescos. Por causa das restrições impostas pelos mercados consumidores ao uso de inseticidas, o controle microbiano dessa praga apresenta grande potencial. Contudo, no processo de seleção de entomopatógenos em laboratório, a composição das dietas em que são criados pode interferir nos resultados. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito dos conservantes usados na dieta de larvas de *Ceratitis capitata*

¹Estudante de Ciências Biológicas - UPE, estagiária da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

²Engenheira-agrônoma, Ph.D. em Entomologia Agrícola, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, carlos.gava@embrapa.br.

na patogenicidade dos fungos a larvas e adultos. Os fungos foram aplicados a pupas e adultos criados em dietas contendo os conservantes nipagin e benzoato de sódio, avaliando-se a mortalidade e a conidiogênese ao longo de 10 dias. A mortalidade média de pupas da dieta completa foi de 8,33%, enquanto na dieta sem adição de conservantes foi de 17,5%. O conservante com maior restrição à patogenicidade sobre as pupas foi o benzoato de sódio, com média de mortalidade de 3,33%. A dieta sem adição de conservantes apresentou maior mortalidade de adultos, com média de 63,25%, e na dieta completa essa média foi de 26,45%. As dietas apenas com nipagin ou benzoato de sódio resultaram em mortalidade similar, com 30,10% e 32,53%, respectivamente.

Palavras-chave: controle biológico, fungistáticos, fungo entomopatogênico.

Introdução

Entre os principais problemas associados à produção de frutas no Vale do Submédio São Francisco, destaca-se a mosca-das-frutas (*Ceratitis capitata*), responsável por danos elevados em diferentes culturas (CALKINS; MALAVASI, 1995; SALLES, 1995). No Brasil, o controle de *C. capitata* tem sido realizado por meio do uso de inseticidas altamente tóxicos, principalmente do grupo químico dos organofosforados, trazendo sérios prejuízos ao meio ambiente e à saúde humana. Nos modernos sistemas de produção, deve-se investir em métodos de controle com o menor impacto possível sobre organismos não alvos, que sejam inócuos do ponto de vista ambiental e com baixo risco de resíduos tóxicos nos alimentos. Dos princípios ativos registrados para o controle de moscas-das-frutas, os mais utilizados apresentam carência de 14 a 21 dias, mas esse período é considerado muito longo, uma vez que a maior ocorrência da praga se dá nas fases de pré-colheita e colheita. Além disso, esses produtos enquadram-se na categoria dos fosforados que apresentam baixo limite máximo de resíduo (LMR) para exportação, o que limita sua utilização.

Nesse contexto, o controle biológico de moscas-das-frutas torna-se uma alternativa viável. As principais vantagens do uso de micro-organismos entomopatogênicos para o controle de pragas são a especificidade, a seletividade desses agentes de controle e a ausência de riscos de poluição ambiental e toxicidade ao homem (ALVES, 1998).

Os resultados obtidos nos experimentos em laboratório na Embrapa Semiárido levaram à hipótese de que a utilização de conservantes nas dietas artificiais das moscas-das-frutas pode interferir no desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos e, consequentemente, no processo patogênico.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos produtos, comumente utilizados em laboratórios e biofábricas para o crescimento das moscas-das-frutas, sobre o crescimento e patogenicidade de isolados de *B. bassiana*.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Semiárido, utilizando-se insetos nos estágios de desenvolvimento de pupa e adulto. No experimento com pupas e adultos de mosca-das-frutas, os insetos foram criados em dieta para produção massal contendo os diferentes conservantes individualmente, dieta completa. No tratamento controle não foram adicionados conservantes. Os isolados foram avaliados quanto à patogenicidade a adultos de mosca-das-frutas aplicando-se suspensões de 1×10^8 conídios.mL⁻¹ em Triton X-100 0,05%, utilizando-se uma torre de Potter (Burkhard, UK). Após a pulverização, as moscas foram separadas em grupos de 15 indivíduos em gaiolas de PVC transparente e em seguida transferidas para câmara de incubação a 28 °C.

No experimento com pupas, os pupários foram imersos na suspensão de conídios (10^8 conídios. mL⁻¹) por um período de 1 minuto e, em seguida, acomodados em potes que continham vermiculita com 50% de umidade. Em ambos os experimentos, a avaliação ocorreu ao longo de um período de 10 dias consecutivos e, ao constatar a morte, os insetos passaram por assepsia em álcool 70%, hipoclorito de sódio e água esterilizada e foram colocados em papel filtro umedecido com o objetivo de avaliar a conidiogênese.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições para cada dose dos conservantes. A mortalidade foi corrigida em relação à mortalidade no tratamento controle sem aplicação dos isolados pela fórmula de Abbott (ALVES, 1998).

Resultados e Discussão

De modo geral, foi observado que os diferentes conservantes utilizados na dieta artificial das moscas-das-frutas influenciaram significativamente a virulência dos isolados de fungos entomopatogênicos a pupas e adultos ($P < 0,05$). Além disso, percebeu-se que houve variabilidade entre os isolados testados. Na fase de pupa, ocorreu maior mortalidade total e conidiogênese entre os insetos oriundos da dieta sem conservantes (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade corrigida de moscas-das-frutas tratadas com diferentes isolados de *Beauveria bassiana* durante a fase de pupa.

Isolados	Mortalidade de pupas			
	Dietas			
	Completa	Benzoato de sódio	Nipagin	Controle
LCB52	16,67 aA ¹	6,67 aB	6,67 cB	20,00 Ba
LCB56	3,33 Cb	6,67 aAB	6,67 cAB	10,00 c A
LCB62	10,00 bBC	3,33 bC	16,67 bBC	30,00 Aa
LCB244	0,00 dC	0,00 cC	26,67 aA	13,33 cB
LCB245	6,67 bcA	3,33 bA	6,67 cA	6,67 dA
LCB313	3,33 cC	6,67 aC	16,67 bB	33,33 aA
Controle	0,00 d	0,00 c	0,00 d	0,00 d
Média	6,67	4,44	13,33	18,89
Mortalidade em adultos após a emergência				
LCB52	17,65 aA	15,63 aA	17,50 abA	20,00 abA
LCB56	8,93 bB	12,50 aB	14,29 bB	25,00 aA
LCB62	11,67 bB	11,11 aB	28,13 aA	11,48 bcB
LCB244	16,13 aA	14,71 aB	25,00 aA	8,89 cB
LCB245	6,25 bA	10,00 aA	12,20 bA	12,50 bcA
LCB313	15,38 abB	15,79 aB	27,27 aA	17,07 bB
Controle	0,00 c	0,00 b	0,00 c	0,00 d
Média	12,67	13,29	20,73	15,82

¹Médias, na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas iguais e as médias, na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A menor mortalidade nessa fase foi observada entre os insetos oriundos da dieta completa e contendo apenas benzoato de sódio. Nesse experimento, constatou-se que houve mortalidade de insetos

causada pelos isolados mesmo após a emergência, confirmada pela conidiogênese (Tabela 1). O isolado LCB313 apresentou a maior taxa de mortalidade na ausência de conservantes. No entanto, houve variabilidade significativa entre os isolados para os diferentes conservantes.

Nas condições experimentais, houve mortalidade significativa de mosca-das-frutas após a conclusão da fase pupal e emergência. O resultado foi comum a todas as dietas e aos isolados utilizados e pode ser atribuído à maior concentração dos conservantes na hemolinfa durante a fase de larva e pupa. Durante o período de desenvolvimento pupário, os insetos não se alimentam e podem ter metabolizado os compostos. Além disso, nessa fase de desenvolvimento, o inseto permanece protegido em um envoltório altamente esclerotizado e resistente à penetração fúngica (ORTU et al., 2009). Ainda há a síntese de diversos metabólitos antibióticos; entre esses, aminopeptídeos envolvidos na proteção da pupa durante seu estágio no solo (CHAPMAN, 1998).

Na Tabela 2, são apresentados os resultados obtidos com a pulverização de insetos adultos com suspensões de conídios de diferentes isolados de *B. bassiana*. Nessa fase de desenvolvimento, a dieta que apresentou maior mortalidade confirmada foi aquela em que não houve adição de conservantes e a menor foi a dieta completa, com médias de 61,7% e 21,45%, respectivamente; enquanto a dieta apenas com nipagin apresentou 32,6% e com benzoato de sódio, 31,69%.

Tabela 2. Mortalidade corrigida em adultos de *Ceratitis capitata* criadas em dieta artificial contendo diferentes conservantes e pulverizadas com suspensões de conídios de isolados de fungos entomopatogênicos.

Fungos	Dietas			
	Completa	Benzoato de sódio	Nipagin	Controle
LCB52	41,48 aB ¹	35,90 abB	46,36 aAB	60,87 bA
LCB56	22,88 bC	46,67 aB	39,64 abB	77,66 abA
LCB62	48,16 aB	36,19 abC	46,54 aB	83,14 abA
LCB244	0 cC	35,56 abA	23,21 bB	17,72 dB
LCB245	16,19 bB	22,50 bB	4,32 cC	91,30 aA
LCB313	0 cC	13,33 cB	35,55 abA	39,30 cA
Controle	0 c	0 c	0 d	0,00 e
Média	21,45	31,69	32,60	61,66

¹Médias, na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas iguais e as médias, na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Houve elevada mortalidade entre os insetos tratados com os isolados LCB56, LCB245 e LCB62. No entanto, ficou evidenciada a seletividade dos isolados de fungo aos insetos e aos conservantes utilizados. O isolado LCB245, por exemplo, promoveu a maior mortalidade entre os adultos de *C. capitata* na dieta com ausência de conservantes, porém, na dieta contendo todos os conservantes na dose recomendada, a mortalidade foi significativamente inferior. O mesmo ocorreu com o isolado LCB245 que, com a adição de conservantes nas dietas, apresentou significativa ($P < 0,05$) redução da mortalidade.

Estudos tratando do efeito do uso de conservantes em dieta sobre a patogenicidade de entomopatógenos não foram encontrados na literatura, mas outros estudos relataram a influência de defensivos sobre a eficiência de controle de *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (BATISTA FILHO et al., 2001; MOCHI et al., 2006).

Conclusões

Houve redução significativa na mortalidade de pupas e adultos de *C. capitata* ocasionada pela adição de conservantes fungistáticos na dieta.

Houve especificidade entre os isolados avaliados quanto à virulência a adultos e pupas de *C. capitata* e suscetibilidade aos conservantes utilizados na dieta.

Os experimentos para seleção de fungos para o controle microbiano de *C. capitata* deverão ser realizados utilizando-se insetos criados em dieta artificial sem adição de conservantes.

Referências

- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289- 381.
- BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 437-447, 2001.
- CALKINS, C. O.; MALAVASI, A. Biology and control of fruit flies (Anastrepha) in tropical and temperate fruit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 17, p. 36-45, 1995.

- CHAPMAN, R. F. Circulatory system, blood and immune system. In: CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. p. 94-130.
- MOCHI, D. A.; MONTEIRO, A. C.; BORTOLI, S. A. ; DÓRIA, H. O. S.; BARBOSA, J. C. Pathogenicity of metarhizium anisopliae for *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in soil with different pesticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 382-389, 2006.
- ORTU, S.; COCCO, A.; DAU, R. Evaluation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain ATCC 74040 for the management of *Ceratitis capitata*. **Bulletin of Insectology**, Bologna v. 62, n 2, p. 245-252, 2009.
- SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1995. 58 p.