

## EFEITOS DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE IMATUROS DE *Anastrepha fraterculus* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) EM LABORATÓRIO

MÁRCIO SOARES FERREIRA<sup>1</sup>; LILIANE NACHTIGALL MARTINS<sup>2</sup>; ANA PAULA DE SOUZA STORI DE LARA<sup>2</sup>; ADRISE MEDEIROS NUNES<sup>2</sup>; FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE<sup>2</sup>; FLÁVIO ROBERTO MELLO GARCIA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – marcisoferr@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – lili Nachtigall@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – ana.paula.central@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – adrisenunes@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas – fabio@leivasleite.com.br

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas – flaviormg@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas sul-americana *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1930) ocorre do Sul dos Estados Unidos ao Norte da Argentina, sendo considerada uma das principais pragas da fruticultura, causando danos diretos e indiretos, através da depreciação dos frutos e restrições comerciais ao mercado externo (DUARTE; GARCIA; ANDALO, 2016).

No Brasil, são registradas a ocorrência de três gêneros de tefritídeos: *Anastrepha*, *Bractocera* e *Ceratitis* (GARCIA, 2009). No Rio Grande do Sul, a espécie que apresenta maior importância é *A. fraterculus*, sendo considerada a principal praga da fruticultura na região (GARCIA & CORSEUIL, 2004).

Em virtude de restrições impostas ao uso de alguns produtos para o controle químico na fruticultura, buscando uma maior segurança alimentar e redução de impacto ambiental, a utilização de métodos de controle biológico vem ganhando destaque. Bactérias entomopatogênicas como *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) já estão sendo aplicadas no controle de lagartas desfolhadoras e larvas de pernilongos (ALMEIDA, 2001).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de *B. thuringiensis* variedades *israelensis* (*Bti*), *kurstaki* (*Btk*) e *osvaldo cruz* (*Bto*) sobre larvas de terceiro instar até a emergência de adultos de *A. fraterculus*.

### 2. METODOLOGIA

As larvas utilizadas para a realização do ensaio são provenientes da criação estoque do Laboratório de Biologia de Insetos, FAEM, UFPel. As variedades de *B. thuringiensis* utilizadas foram disponibilizadas pelo Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da UFPel, através da coleção de microrganismos.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado arranjado em esquema unifatorial, com três repetições. O fator de tratamento testado foi o tipo de bactéria (*Bti*, *Btk*, *Bto*, além da testemunha com água destilada).

Cada repetição foi composta por uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) forrada com papel filtro autoclavado. Sobre o papel filtro foi adicionado 1 mL de suspensão bacteriana das diferentes variedades, na concentração de  $1 \times 10^9$  UFC mL, e para a testemunha foi adicionada a mesma quantidade de água destilada. Posteriormente, foram adicionadas 30 larvas de terceiro instar sobre a suspensão. As placas foram fechadas com atilho de borracha e acondicionadas em câmara climatizada BOD a  $25 \pm 1^\circ$  C,  $75 \pm 10\%$  U.R. e 12h de fotofase. Após 24h de

exposição as larvas foram transferidas para caixas Gerbox contendo vermiculita expandida para promover a pupação. Posteriormente foram avaliadas as pupas e os adultos, sendo separados os indivíduos normais e deformados.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos do tipo de bactéria foram comparados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) e em relação a testemunha pelo teste de Dunnett ( $p \leq 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão expressos os valores (%) de pupas e adultos de *A. fraterculus* que apresentaram deformação após ensaio de contato com diferentes variedades de *B. thuringiensis*.

Tabela 1. Percentual de pupas e adultos normais e deformados de *Anastrepha fraterculus* em bioensaio de contato com *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*), *kurstaki* (*Btk*) e *osvaldo cruz* (*Bto*).

Tratamento	Repetição	Nº de larvas de 3º ínstar	% Pupas normais	% Pupas deformadas	% Adultos normais	% Adultos deformados
Testemunha	1	30	100	0	70	30
Testemunha	2	30	96,6	0	100	0
Testemunha	3	30	100	0	100	0
<i>Bti</i>	1	30	40	60	58.3	41.6
<i>Bti</i>	2	30	40	60	58.3	41.6
<i>Bti</i>	3	30	56.6	43.3	29.4	70.5
<i>Btk</i>	1	30	16.6	83.3	20	80
<i>Btk</i>	2	30	20	80	33.3	66.6
<i>Btk</i>	3	30	20	80	33.3	66.6
<i>Bto</i>	1	30	33.3	66.6	70	30
<i>Bto</i>	2	30	73.3	26.6	31.8	68.1
<i>Bto</i>	3	30	53.3	46.6	31.2	68.7

Foi observado uma grande quantidade de pupas deformadas em todos os tratamentos, destacando-se o tratamento com *Btk*. Da mesma forma, também foi verificado deformações em adultos, especialmente deformação de asas e dificuldade na emergência.

Tabela 2 – Médias ( $\pm$  erro padrão) de pupas e adultos de *A. fraterculus* normais e com deformação após ensaio de contato com diferentes variedades de *B. thuringiensis*.

Tratamento	Pupas normais	Pupas deformadas	Adultos normais	Adultos deformados
Testemunha	98,89 $\pm$ 1,11	0,00 $\pm$ 0,00	90,00 $\pm$ 10,00	10,00 $\pm$ 10,00
<i>Bti</i>	45,55 $\pm$ 5,55 ab <sup>1/ *</sup>	54,44 $\pm$ 5,56 ab *	48,69 $\pm$ 9,64 a *	51,30 $\pm$ 9,64 a *
<i>Btk</i>	18,89 $\pm$ 1,11 b *	81,11 $\pm$ 1,11 a *	28,89 $\pm$ 4,44 a *	71,11 $\pm$ 4,45 a *
<i>Bto</i>	53,33 $\pm$ 11,55 a *	46,66 $\pm$ 11,55 b *	44,35 $\pm$ 12,82 a *	55,64 $\pm$ 12,82 a *
C.V. (%)	20,6	24,4	31,7	35,8

<sup>1/</sup> Médias ( $\pm$  erro padrão) acompanhadas por mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p\leq 0,05$ ) comparando as bactérias. \* Significativo pelo teste de Dunnett ( $p\leq 0,05$ ) em relação à testemunha. C.V.: coeficiente de variação.

Obteve-se a significância estatística demonstrada pelo teste F, ( $F = 26.56$ ,  $p = 0.0002$ ). Para o teste de médias, não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos para adultos normais e deformados. No entanto, foi verificada diferença significativa entre os tratamentos com *Btk* e *Bto* em relação ao número médio de pupas normais e deformadas, sendo o maior percentual de pupas deformadas observado no tratamento com *Btk* pelo teste de Tukey ( $p\leq 0,05$ ). Na comparação dos tratamentos com a testemunha foi verificada diferença significativa para todos os tratamentos pelo teste de Dunnett ( $p\leq 0,05$ ) (Tabela 2).

A variedade *Btk* já vem sendo utilizado através de produtos formulados e comercialmente disponíveis. A eficiência de controle dessa cepa já foi verificada para diferentes espécies de insetos de importância econômica como *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae), *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae), *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) (PRAÇA et al., 2004). Essa variedade também vem sendo estudada para controle de moscas da família Tephritidae, sendo que a  $\beta$ -exotoxina presente nessa bactéria proporciona elevada mortalidade no período larval, deformação de pupas e adultos de *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* e *A. serpentina* (TOLEDO et al., 1999).

Martins et al. (2016) observaram bons resultados utilizando *Bti* sobre imaturos de *A. fraterculus*. Da mesma forma, existem relatos de alta mortalidade de larvas e adultos de mosca-das-frutas devido a atividade de  $\delta$ -endotoxinas da espécie *Bti*, porém somente quando utilizada em elevadas doses (TOLEDO et al., 1999).

A variedade *Bto* foi desenvolvida recentemente, e portanto, vem sendo testada para diferentes ordens de insetos. O presente estudo foi o primeiro teste dessa cepa com dípteros, apresentando resultado semelhante ao observado para *Bti*.

#### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se que as cepas *Bti*, *Btk* e *Bto* são promissores no controle biológico de *A. fraterculus*. Nesse contexto, estudos estão sendo conduzidos por nossa equipe para identificar toxinas específicas e fatores de virulência, além de uma melhor abordagem dessas cepas para inclusão em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.E.M.; Banco de microrganismos entomopatogênicos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.20, p33, 2001

DUARTE, P.A.S.; ANDALO, VANESSA; GARCIA, F.R.M. Faunal analysis and population density of fruit flies (Diptera: tephritidae) in an orchard located in the central western region of Minas Gerais, Brazil. **Bioscience Journal**, v. 32, n.4, p. 960-968, 2016.

GARCIA, F.R.M. e CORSEUIL, E. Lista documentada das Moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Ambiental Catarinense**, v.3, n.1, p.23-32, 2004.

GARCIA, F. R. M. Fruit fly: biological and ecological aspects. In: BANDEIRA, R.R.. (Org.). **Current trends in fruit flies control on perennial crops and research prospects**. Kerala: Transworld Research Network, 2009, p. 1-35.

MARTINS, L.N.; LARA, A.P.S.S.; SANTOS, L. A.; FERREIRA, M. S.; LEITE, F. P. L.; GARCIA, F. R. M. Efeitos de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sobre imaturos e adultos de *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae) em laboratório. In: IX Congresso Latino-americano de Entomologia, 2016, Maceió. **ANAIS DO IX CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENTOMOLOGIA**. Maceió: SEB, 2016. p. 4-4.

PRAÇA, L.B.; BATISTA, A.C.; MARTINS, E.S.; SIQUEIRA, C.B.; DIAS, D.G.S.; GOMES, A.C.M.M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R.G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.1, p.11-16, 2004.