

## ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *BACILLUS spp.* EM LARVAS DE 3º INSTAR DE *CERATITIS CAPITATA* (DIPTERA: TEHRITIDAE)

**RUTE CAROLINE B. TREPTOW<sup>1</sup>; NYCOLE DE SOUZA ACUNHA<sup>2</sup>; LILIANE NACHTIGALL MARTINS<sup>3</sup>; FERNANDA CARLA GEISLER SANTOS<sup>4</sup>; FÁBIO PEREIRA LEIVAS LEITE<sup>2</sup>; DANIEL BERNARDI<sup>3,4</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel)-FAEM - karoltreptow@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel)-CDTec - nycoleacunha@hotmail.com/ fabio@leivasleite.com.br

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel) Programa de Pós-graduação em Fitossanidade - lilinachtigall@hotmail.com

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel) Programa de Pós-graduação em Entomologia – fernandageisler@yahoo.com.br

<sup>1,3,4</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – Dbernardi2004@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos maiores exportadores de frutos, com uma produção anual que ultrapassa os 40 milhões de toneladas (BRASIL, 2016). Entretanto, um dos principais problemas na produção de frutos esta associado com a ocorrência da *Ceratitis capitata* (Wied. 1824) (Diptera: Tephritidae) conhecida popularmente como mosca-do-mediterrâneo (PARANHOS et al., 2008).

Os danos ocasionados por esta espécie é mediante a abertura de puncturas nas frutas realizadas pelas fêmeas durante a oviposição e pelas larvas na parte interna das frutas frente a abertura de galerias internas (SOUZA-FILHO et al, 2003). São considerados insetos que apresentam desenvolvimento holometabólico, cujas larvas no terceiro instar larval realizam a pupação no solo (SOUZA-FILHO et al, 2003).

Uma das principais estratégias de manejo da espécie nos campos de produção têm sido a utilização de inseticidas químicos e iscas tóxicas. Entretanto, nos últimos anos tem-se constatado o controle microbiano, com resultados promissores para o uso no manejo de moscas-das-frutas (MARTINS et al., 2018). Dentro deste contexto, destaca-se o uso de isolados de *Bacillus* spp, que produzem inclusões cristalinas (Cry), que após a ingestão pelo alvo de controle, ligam-se a receptores específicos no intestino médio e liberam as toxinas que atravessam a membrana peritrófica causando lise celular e morte do inseto por inanição (SCHNEPF et al., 1998).

Visando ser uma alternativa promissora para o manejo de moscas-das-frutas objetivou-se avaliar a atividade biológica de isolados bacterianos sobre larvas de 3º instar de *C. capitata*.

### 2. METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no Laboratório de Biologia de Insetos, no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. As larvas de *C. capitata* foram obtidas a partir da criação de manutenção em dieta artificial. Os isolados bacterianos (tratamentos) *Bacillus circulans* (*Bc*), *B. thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*), *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*) e *B. thuringiensis* var. *oswaldo cruz* (*Bto*) (Bacillales: Bacillaceae) foram obtidos do banco de microrganismos do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas.

Para a caracterização da atividade biológica (tratamentos) das linhagens de *B. thuringiensis* sobre larvas de 3º instar de *C. capitata* foi utilizado o método de bioensaio por contato e ingestão. Placas de Petri (9 cm de diâmetro) foram previamente esterilizadas com álcool 70% e, após a secagem, as mesmas foram forradas com papel filtro (dois círculos por placa). Feito isso, foi adicionado 1 mL de suspensão bacteriana de (*Bc*, *Bti*, *Btk* e *Bto*) na concentração de  $32 \times 10^7$ ,  $4 \times 10^8$ ,  $12 \times 10^8$ ,  $8 \times 10^8$  UFC  $^{-ml}$  (Unidade Formadoras de Colônias), respectivamente.

Posteriormente, foram inoculadas 10 larvas de 3º instar de *C. capitata* por placa e, vedadas na parte superior com a respectiva tampa. O bioensaio foi mantido em sala climatizada (Temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , Umidade Relativa de  $70 \pm 5\%$  e fotofase 12h). Como controle negativo, foi utilizado apenas água destilada junto ao papel filtro.

As avaliações foram realizadas 48 Horas Após a Exposição (HAE) das larvas aos tratamentos. Os parâmetros biológicos avaliados foram: mortalidade e viabilidade (%). Foram consideradas larvas mortas aquelas que não correspondiam ao estímulo de um pincel de ponta fina e larvas deformadas aquelas que possuíam forma e coloração alteradas em comparação com as larvas provenientes do tratamento testemunha.

Os dados referentes a mortalidade e viabilidade larval foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Shapiro Wilk e homogeneidade de variância pelo teste de Hartley. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey ( $P > 0.05$ ) (PROC ANOVA, SAS Institute 2011).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 48 HAE, foi verificado diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) na mortalidade de larvas de 3º instar de *C. capitata* (Figura 1). Larvas de *C. capitata* expostas ao isolado bacteriano *Bto* apresentou uma maior mortalidade larval (60% de mortalidade), sendo superior aos demais isolados bacteriano *Bc* (23,4% de mortalidade), *Bti* (50% de mortalidade), *Btk* (46,7% de mortalidade) (Figura 1). No tratamento negativo, houve uma mortalidade de 6,7%, isso pode ter sido devido ao manuseio da mesma com auxílio de pinças no momento da montagem dos experimentos.

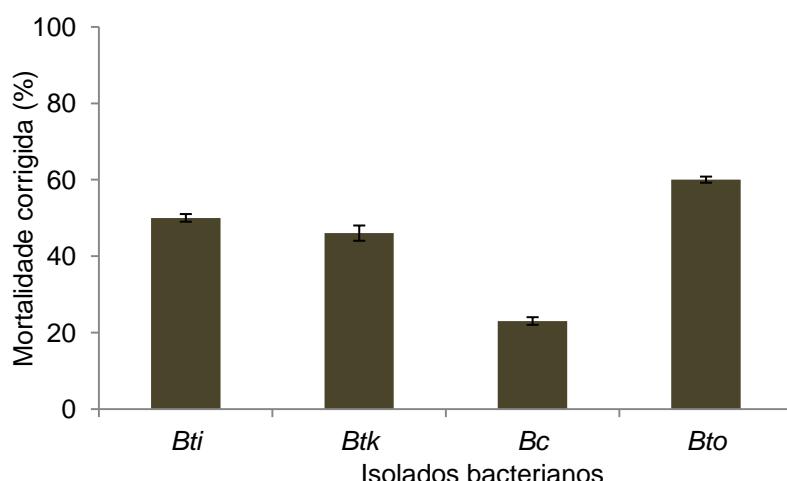


Figura 1. Mortalidade de larvas de 3º instar de *C. capitata* quando expostas a diferentes isolados bacterianos.

O isolado (*Bti* e *Bto*) que proporcionaram a maior mortalidade larval de *C. capitata* no presente estudo, também apresentaram elevada atividade biológica sobre larvas de *Anastrepha fraterculus* (Wied. 1830) (Diptera: Tephritidae) (MARTINS et al, 2018), demonstrando ser isolados bacterianos promissores para a utilização no manejo de moscas-das-frutas. Larvas de *C. capitata* que não foram mortas após o contato com os isolados bacterianos apresentaram uma redução significativa na viabilidade larval (Figura 2). A menor viabilidade larval (40%) foram observadas em larvas de *C. capitata* quando expostas ao isolado *Bto*, diferindo estatisticamente ( $P>0,05$ ) dos demais tratamentos, que apresentaram viabilidade larval de 76, 50, 53 %, respectivamente, para os isolados *Bc*, *Bti*, *Btk* (Figura 2). Em contraste, o tratamento testemunha apresentou 93% de viabilidade larval (Figura 2).

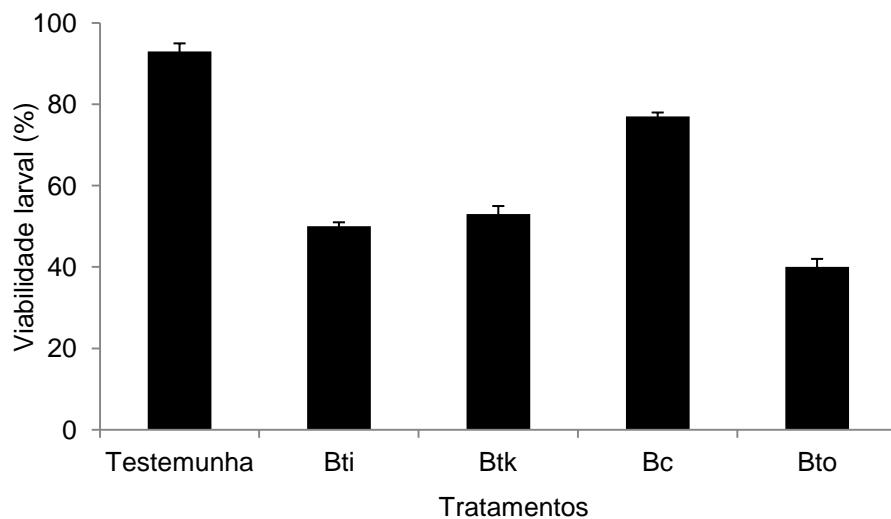


Figura 2. Viabilidade larval de *C. capitata* quando expostos a isolados bacterianos.

A baixa viabilidade larval de *C. capitata* após o contato e ingestão de isolados de *Bt*, afetou o processo de esclerotização das larvas no ultimo instar larval não proporcionando o desenvolvimento das pupas do inseto. Este fato é de suma importância para o manejo de *C. capitata*, uma vez com que afetará diretamente a dinâmica populacional dos insetos (SCHNEPF et al., 1998).

#### 4. CONCLUSÕES

Os isolados Bacteriano *Bti* e *Bto* nas concentrações de  $4\times10^8$ ,  $8\times10^8$  UFC  $^{ml}$  apresentaram elevada atividade biológica sobre larvas de 3º instar de *C. capitata* em laboratório.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento - MAPA. **Uva.** Brasília, DF, 2016a. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/uva/>>. Acesso em: 10 ago. 2018.
- MARTINS, L.N.; LARA, A.P.S.S.; SANTOS, L. A.; FERREIRA, M. S.; LEITE, F. P. L.; GARCIA, F. R. M. Biological Activity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales:Bacillaceae) in *Anastrepha fraterculus* (Diptera:Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 3, p. 1486–1489, 2018.
- PARANHOS, B.A.J.; NASCIMENTO, A.S.; BARBOSA, F.R.; VIANA, R.; SAMPAIO, R.; MALAVASI, A.; WALDER, J.M.M. Técnica do Inseto Estéril: nova tecnologia para combater a mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata*, no Submédio do Vale do São Francisco. Petrolina: **Embrapa Semiárido, 2008. 6 p. (Comunicado Técnico, 137)**.
- SCHNEPF, E. et al. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington DC, v.62, n.1, p.775-806, 1998.
- SOUZA FILHO, M.F. de; RAGA, A.; ZUCCHI, R.A. Moscas-das-frutas no estado de São Paulo: ocorrência e dano. **LARANJA, Cordeirópolis**, v.24, n.1, p.45-69, 2003.