



DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO LETAL (CL) DE *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUIL. À *CERATITIS CAPITATA* (WIED.).

Sindy Emanuelle Silva Alves, Marianne Gonçalves Barbosa, Teresinha Augusta Giustolin, Adelica aparecida Xavier, Clarice Diniz Alvarenga

Introdução

A mosca-do-Mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) é considerada uma importante praga da fruticultura, pois causa grandes danos a estas culturas. O método mais utilizado pelos produtores de frutas do Brasil consiste em pulverizações de iscas tóxicas que são constituídas por inseticidas associados a um atraente alimentar da mosca como, melação ou proteína hidrolisada de milho (AGROFIT [1]). Uma alternativa ao uso de inseticidas químicos nas iscas atrativas pode ser o controle biológico, utilizando como agentes os fungos entomopatogênicos.

Mota *et al.* [2] avaliou a patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. a adultos de *C. capitata* e selecionaram o isolado CG 460 como um dos mais virulentos. Este isolado causou 100% de mortalidade desse inseto após 10 dias de avaliação.

A elevada virulência constatada para o isolado CG 460 a adultos de *C. capitata* o torna promissor para ser utilizado no controle da mosca-do-mediterrâneo. A viabilização da sua utilização em campo, no manejo desse inseto passa, necessariamente, pela determinação de sua concentração letal (CL). Assim, o conhecimento da CL pode otimizar a quantidade de inóculo a ser aplicada no campo, para que esta seja a necessária e suficiente para reduzir a população da praga abaixo do nível de dano. Dessa forma, este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a concentração letal do isolado CG 460 de *B. bassiana* aos adultos de *C. capitata*.

Material e métodos

O ensaio foi realizado nos laboratórios de Entomologia da UNIMONTES, Campus de Janaúba, MG. Os adultos de *C. capitata* utilizados no ensaio foram criados em laboratório (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $65 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h) e alimentados na fase larval e adulta com dietas artificiais (CARVALHO; CARVALHO e NASCIMENTO [3,4]), e água. O isolado CG 460 de *B. bassiana* avaliado no ensaio foi obtido junto ao Banco de Microrganismos Entomopatogênicos deste Laboratório, onde está armazenado sob refrigeração, na forma de conídios puros. O fungo foi multiplicado no meio de cultura sólido B.D.A. (batata (200 g), dextrose (20 g), ágar (20 g) e água destilada (1 L)) previamente esterilizado e incubado em câmara climatizada tipo B.O.D. ($26 \pm 0,5^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas), durante 10 dias.

As suspensões do fungo foram obtidas a partir da adição de 10 mL de água destilada esterilizada em cada uma das placas de cultivo do fungo e, com o auxílio de um pincel esterilizado, realizou-se a suspensão do mesmo. Os conídios suspensos foram filtrados em gaze e transferidos para um tubo de ensaio (8,5 cm de altura x 2,5 cm de diâmetro) esterilizado para ser homogeneizado em Vortex. A contagem do número de conídios foi feita em câmara de Neubauer, sob microscópio óptico (40 vezes). Esta suspensão original foi utilizada na preparação das concentrações de 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios/mL.

Para estimar a CL do isolado CG 460 à *C. capitata*, 5 mL de cada uma das concentrações de 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 conídios/mL foram aplicados sobre os adultos recém-emergidos da mosca, utilizando um pulverizador manual. Os adultos do controle foram pulverizados somente com água destilada esterilizada. Os adultos das moscas tratadas e não (controle) foram transferidas para gaiolas e alimentadas com água e dieta artificial. As gaiolas foram mantidas em laboratório sob condições controladas ($25 \pm 1,0^\circ\text{C}$, UR $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas).

Diariamente, durante 20 dias foi avaliada a mortalidade dos adultos da mosca nas gaiolas. A confirmação da mortalidade causada pelo fungo foi feita a partir da desinfestação externa dos insetos (álcool 70%, por três minutos, hipoclorito de sódio (4%), por um minuto e tríplice lavagem com água destilada esterilizada). Os adultos desinfestados e separados por tratamento foram acondicionados em placas de Petri forradas com papel-filtro umedecido com água destilada estéril. As placas foram mantidas em B.O.D., visando a esporulação do fungo.

O ensaio foi realizado em DIC com quatro tratamentos (concentrações do fungo) e um controle (sem fungo), cada um com cinco repetições (gaiolas), contendo 10 adultos de *C. capitata*.

A estimativa da CL foi analisada utilizando os resultados de mortalidade confirmada que foram comparados pelo método de Probit, utilizando o programa SAS Statistical, versão 9.0.



Resultados

As diferentes concentrações de conídios do fungo causaram crescentes mortalidades dos adultos de *C. capitata*, ao longo dos 20 dias de avaliação do ensaio (Fig. 1). As mortes dos insetos se iniciaram no 4º dia após a infecção (DAI) pelo fungo nas concentrações iguais ou superiores a 10^5 conídios/mL, mas somente no 9º DAI na suspensão de 10^4 con./mL. No final da avaliação do ensaio, no 20º DAI, as porcentagens de mortalidade dos adultos variaram de 70,0% para o tratamento 10^4 con./mL a 100,0% para a concentração de 10^7 con./mL. No controle, a porcentagem de mortalidade das moscas foi baixa e não ultrapassou os 14,0% no final da avaliação do ensaio. A morte de todos os insetos avaliados ocorreu no 13º DAI nos tratamentos 10^7 con./mL e 10^6 con./mL e no 17º DAI no tratamento 10^5 con./mL. No tratamento 10^4 con./mL o máximo de mortalidade atingido no 20º DAI foi de 70,0%.

A CL do isolado CG 460 aos adultos de *C. capitata* foi determinada a partir dos resultados de mortalidade confirmada observada no 10º DAI dos insetos. Foram esses os dados que atenderam as pressuposições do modelo da análise de Probit. A CL_{50} do isolado CG 460 de *B. bassiana* foi de $3,7 \times 10^5$ con./mL e a CL_{99} de $3,9 \times 10^8$ con./mL (Tabela 2). Assim, para matar 50,0% da população de mosca é necessária uma concentração cerca de 1.000 vezes menor do que aquela que é necessária para matar 99,0% da população. O valor obtido para o X^2 demonstra a homogeneidade dos dados utilizados na análise de Probit para a obtenção da equação de regressão através da estimativa dos parâmetros, com modelo logarítmico.

Discussão

O isolado CG 460 de *Beauveria bassiana* se manteve patogênico aos adultos de *C. capitata* (Tabela 1 e Fig. 1), como constatado por Mota et al. [2], quando avaliaram a patogenicidade e virulência deste isolado sobre os adultos da mosca, ou seja, este isolado invadiu a cutícula do inseto adulto de *C. capitata* e iniciou a infecção.

Os resultados demonstraram que o isolado CG 460 nas concentrações entre 10^5 a 10^7 con./mL, em condições de laboratório, possui potencial patogênico para controlar os adultos de *C. capitata*. Entretanto, as concentrações avaliadas variaram muito quanto ao tempo necessário para causar a morte dos insetos (Fig. 1). Osorio-Fajardo e Canal [5] constataram que quanto maior foi a concentração de conídios avaliada, menor foi o tempo necessário para causar a maior mortalidade de *Anastrepha obliqua* (Macquart) por *B. bassiana*. Neste ensaio, as concentrações de 10^6 e 10^7 con./mL foram os tratamentos que iniciaram as mortes dos insetos antes, ou seja, no 4º DAI e, provocaram 100,0% de mortalidade no 13º dia (Fig. 1). Entretanto, foi no tratamento 10^7 con./mL que ocorreu o maior incremento das mortes nos 13 DAI. A CL_{50} do isolado CG 460 de *B. bassiana* é $3,7 \times 10^5$ conídios/mL (Tabela 1). Sendo assim, o isolado CG 460 é bastante promissor para o controle de *C. capitata*.

Conclusão

A CL_{50} do isolado CG 460 de *Beauveria bassiana* é $3,7 \times 10^5$ conídios/mL.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, pela concessão de bolsa de mestrado, à FAPEMIG, pela bolsa de incentivo à pesquisa e de Iniciação Científica e ao CNPq, pela bolsa de pesquisa.

Referências

- [1] AGROFIT. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2014. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 28 de novembro de 2014.
- [2] MOTA, L. H. C.; GIUSTOLIN, T. A.; XAVIER, A. A.; ALVARENGA, C. D.; BARBOSA, P. R. R.; BARBOSA, M. G. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. à adultos de *Ceratitiscapitata*. In: XXIII Congresso Brasileiro De Entomologia, 2010, Natal. **Anais...**, 2010. CD ROM.
- [3] CARVALHO, R. da S. **Metodologia para monitoramento populacional de moscas-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas, BA, 2005. Circular Técnica.
- [4] CARVALHO, R. da S.; NASCIMENTO, A. S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas (Tephritidae). In: Parra, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitoide e predadores**. São Paulo: Manole, 2002, p. 113-117.
- [5] OSORIO-FAJARDO, A.; CANAL, N. A. Selección de cepas de hongos entomopatógenos para el manejo de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) em Colômbia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, v. 64, n. 2, p. 6129-6139, 2011.

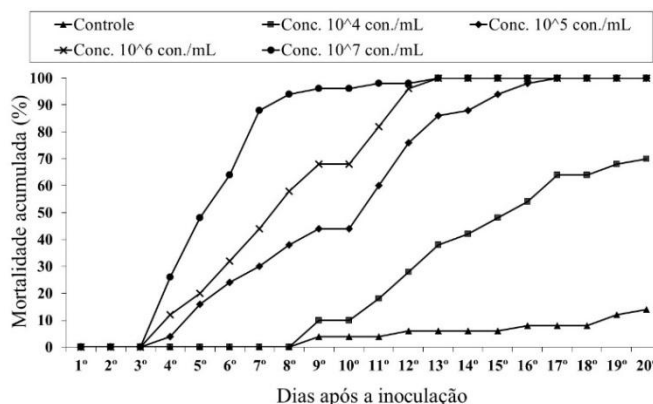


FIGURA 1 - Mortalidade (%) acumulada de adultos de *Ceratitis capitata* pulverizados com diferentes concentrações de conídios do isolado CG 460 de *Beauveria bassiana*.

TABELA 1 - Mortalidade confirmada e não confirmada de adultos de *Ceratitis capitata* obtidas no 5º, 10º, 15º e 20º dia após a exposição dos insetos a diferentes concentrações do isolado CG 460 de *Beauveria bassiana*.

Concentração (con./mL)	Mortalidade (%) (confirmação)							
	Não		Sim		Não		Sim	
	Tempo (dias)*							
	5º		10º		15º		20º	
Controle	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	4,0 ± 3,9 c	0,0 ± 0,0 c	6,0 ± 3,9 c	0,0 ± 0,0 c	14,0 ± 5,9 c	0,0 ± 0,0 c
10 ⁴	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	10,0 ± 4,4 c	10,0 ± 4,5 c	48,0 ± 7,9 b	40,0 ± 8,3 b	70,0 ± 9,9 b	52,0 ± 8,5 b
10 ⁵	16,0 ± 2,4 b	16,0 ± 2,4 b	44,0 ± 7,5 b	40,0 ± 6,3 b	94,0 ± 2,4 a	82,0 ± 4,8 a	100,0 ± 0,0 a	94,0 ± 2,4 a
10 ⁶	20,0 ± 4,5 b	18,0 ± 3,7 b	68,0 ± 7,3 b	58,0 ± 4,8 b	100,0 ± 0,0 a	84,0 ± 3,9 a	100,0 ± 0,0 a	100,0 ± 0,0 a
10 ⁷	48,0 ± 8,5 a	42,0 ± 6,6 a	96,0 ± 3,9 a	88,0 ± 3,7 a	100,0 ± 0,0 a	92,0 ± 3,7 a	100,0 ± 0,0 a	100,0 ± 0,0 a
CV (%)	25,5	22,4	28,6	22,6	13,2	16,7	15,2	12,9

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. *Dados de mortalidade com 5 dias foram transformados para $\sqrt{x + 1,0}$.

TABELA 2 – Concentração letal (CL) e intervalo de confiança (IC) do isolado CG 460 de *Beauveria bassiana* a adultos de *Ceratitis capitata*.

Concentração letal (CL)	Intervalo de confiança (IC 95%)	X ²
CL ₅₀	3,7 x 10 ⁵	2,0 x 10 ⁵ – 6,5 x 10 ⁵
CL ₇₅	2,7 x 10 ⁶	1,3 x 10 ⁶ – 7,2 x 10 ⁶
CL ₉₀	1,7 x 10 ⁷	6,4 x 10 ⁶ – 7,6 x 10 ⁷
CL ₉₅	5,0 x 10 ⁷	1,6 x 10 ⁷ – 3,2 x 10 ⁸
CL ₉₉	3,9 x 10 ⁸	8,5 x 10 ⁸ – 5,0 x 10 ⁹

Equação de regressão - y = - 4,2238963 + 0,76157788*log x