

## Efeito de bioinseticidas formulados a partir de fungos entomopatogênicos sobre *Plebeia droryana* (Hymenoptera: Apidae) em laboratório

Erick Pereira<sup>1</sup>, Marcia Regina Faita, Alex Sandro Poltronieri

### RESUMO

As abelhas-sem-ferrão são polinizadoras de plantas agrícolas e nativas. Durante o forrageamento podem ser expostas a inseticidas não seletivos. Bioinseticidas formulados a partir de fungos entomopatogênicos (FE) são uma alternativa ao uso de produtos sintéticos. Entretanto, poucas pesquisas avaliam a ação destes bioinseticidas sobre abelhas-sem-ferrão. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de bioinseticidas formulados a partir de *Beauveria bassiana* (Boveril<sup>®</sup>WP), *Isaria fumosorosea* (Octane<sup>®</sup>SC) e *Metarhizium anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>WP) sobre *Plebeia droryana*. Para isso, abelhas forrageiras foram coletadas e expostas, via contato direto, a concentração de 10<sup>7</sup> conídios mL<sup>-1</sup> de cada um dos bioinseticidas. A mortalidade foi avaliada em intervalos de 24h durante cinco dias. Até 48h após o contato com os FE, houve uma mortalidade similar entre os tratamentos. Entretanto, após 72h o bioinseticida Octane<sup>®</sup>SC foi mais letal para *P. droryana*, causando uma mortalidade 75% maior que os demais produtos e mantendo-se como o mais tóxico até o final das avaliações.

**Palavras-chave:** Polinizadores; abelhas; controle biológico; inseticidas microbiológicos

### INTRODUÇÃO

As abelhas-sem-ferrão são importantes polinizadoras em ambientes agrícolas e silvestres, existindo mais de 300 espécies no Brasil (Silveira et al., 2002). A abelha *Plebeia droryana* (Hymenoptera: Apidae) é generalista quanto suas fontes de alimento, visitando uma grande diversidade de espécies (Silveira et al., 2002). Durante o forrageamento, as abelhas podem entrar em contato com resíduos de inseticidas ao visitarem plantas previamente pulverizadas, ocorrendo sua morte ainda no campo, ou podem transportar resíduos para as colmeias, afetando todo o enxame. Em 2019, aproximadamente 50 milhões de abelhas foram mortas em Santa Catarina devido a contaminação por inseticidas de amplo espectro, evidenciando os riscos aos quais estão expostas. Além dos efeitos letais, ocorrem efeitos subletais, entretanto, a maioria dos estudos abordando estes danos são realizados com *A. mellifera*, sendo esta espécie mais tolerante a inseticidas que ASF (Pires et al., 2016). Neste contexto, estudos com ASF são necessários para compreender os efeitos sobre estas espécies e assim propor estratégias de controle que reduzam o uso de inseticidas químicos, preservando estes polinizadores.

O controle biológico por meio de fungos entomopatogênicos (FE) é uma alternativa ao uso de inseticidas. Entre as razões para seu emprego, destaca-se sua eficácia, compatibilidade com outros métodos de controle e seletividade a organismos não alvo. Entretanto, são escassos os estudos que avaliem a ação de bioinseticidas formulados a partir de FE sobre ASF. Deste modo, este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito de três bioinseticidas formulados a partir dos FE *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea* sobre operárias de *Plebeia droryana* em laboratório.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Obtenção de *Plebeia droryana*

As colônias de *P. droryana* foram mantidas em caixas de madeira no Meliponário Experimental do Parque Cidade das Abelhas (27°32'13.2''S e 48°30'09.5''O). Antes do início dos bioensaios, foram manejadas para apresentar o mesmo padrão de desenvolvimento e estarem livres de doenças. As abelhas foram obtidas a partir da coleta de forrageiras na entrada das caixas, sendo acondicionadas em gaiolas (10×10cm) e mantidas a 28±2°C e UR: 70% por 1h, até a exposição ao

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Catarina. \*Autor para correspondência: pereiraerick1201@gmail.com

bioinseticidas.

### Produtos utilizados

Foram utilizados os bioinseticidas comerciais formulados a partir de *Beauveria bassiana* (Boveril®WP -  $1,0 \times 10^8$  conídios viáveis  $g^{-1}$ ), *Metarhizium anisopliae* (Metarril®WP -  $1,39 \times 10^8$  conídios viáveis  $g^{-1}$ ) e *Isaria fumosorosea* (Octane®SC -  $2,5 \times 10^9$  conídios viáveis  $mL^{-1}$ ). Cada bioinseticida foi diluído em água destilada, formando uma solução com concentração de  $10^7$  conídios  $mL^{-1}$ .

### Bioensaio

A exposição das abelhas aos bioinseticidas foi feita via contato direto (Potrich et al., 2018). Os bioinseticidas foram diluídos a concentração de  $10^7$  conídios  $mL^{-1}$  e posteriormente, grupos de cinco abelhas foram pulverizadas com 1 mL de cada um dos bioinseticidas, além de um controle formado por água destilada esterilizada. Após a pulverização, os insetos foram transferidos para gaiolas plástica e mantidos a  $28 \pm 2^\circ C$ , UR: 70% e fotofase de 1h. O alimento foi fornecido *ad libitum*, por meio de algodão embebido em mel e água. A mortalidade foi avaliada em intervalos de 24h, durante cinco dias. Foram consideradas mortas as abelhas que não responderem ao estímulo causado pelo toque de um pincel de cerdas finas. Os insetos mortos foram mantidos em câmara húmida para extrusão do patógeno. O delineamento foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição formada por uma gaiola com cinco abelhas.

### Análises

A mortalidade diária acumulada foi submetida a análise de variância usando modelos lineares generalizados e as interações significativas tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha:0,05$ ). As análises de sobrevivência foram realizadas por meio do método de Kaplan-Meier e as diferenças entre as curvas foram avaliadas por meio o teste de log-rank (Minitab 18.1).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade de abelhas forrageiras foi similar entre os tratamentos até 48h após a pulverização, entretanto em avaliações com 72h, o bioinseticida Octane®SC causou uma mortalidade 75% superior aos demais. Em avaliações com 96 e 120h, Octane®SC continuou ocasionando o maior percentual de mortalidade, não diferenciando-se do Boveril®WP (96 e 120h) e Metarril®WP (120h) (Tabela 1).

Tabela 1. Mortalidade acumulada (%) de forrageiras de *Plebeia droryana* (Hymenoptera: Apidae) expostas via contato direto a  $10^7$  esporos  $mL^{-1}$  de *Beauveria bassiana* (Boveril®WP), *Isaria fumosorosea* (Octane®SC) e *Metarhizium anisopliae* (Metarril®WP) sob condições controladas ( $28 \pm 2^\circ C$ , UR: 70% e fotofase de 1h).

| Tratamentos | Mortalidade Acumulada (%)         |                                  |                                   |                        |                        |
|-------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|------------------------|
|             | 24h                               | 48h                              | 72h                               | 96h                    | 120h                   |
| Boveril®WP  | 12.0 ( $\pm 8.0$ ) <sup>ns1</sup> | 16.0 ( $\pm 9.8$ ) <sup>ns</sup> | 16.0 ( $\pm 9.8$ ) b <sup>2</sup> | 40.0 ( $\pm 19.0$ ) ab | 52.0 ( $\pm 18.5$ ) ab |
| Metarril®WP | 4.0 ( $\pm 4.0$ )                 | 8.0 ( $\pm 4.9$ )                | 16.0 ( $\pm 4.0$ ) b              | 28.0 ( $\pm 13.6$ ) b  | 44.0 ( $\pm 14.7$ ) ab |
| Octane®SC   | 36.0 ( $\pm 17.2$ )               | 40.0 ( $\pm 16.7$ )              | 64.0 ( $\pm 11.7$ ) a             | 84.0 ( $\pm 11.7$ ) a  | 84.0 ( $\pm 11.7$ ) a  |
| Controle    | 12.0 ( $\pm 4.9$ )                | 12.0 ( $\pm 4.9$ )               | 12.0 ( $\pm 4.9$ ) b              | 20.0 ( $\pm 6.3$ ) b   | 28.0 ( $\pm 4.9$ ) b   |
| F (p-valor) | 1,92 (0,167)                      | 1,95 (0,162)                     | 9,00 (0,001)                      | 4,53 (0,018)           | 3,08 (0,05)            |

<sup>1</sup> Não significativo; <sup>2</sup> Letras distintas na coluna diferenciam-se entre si ( $p > 0,05$ )

Os FE são considerados inócuos para abelhas, sendo utilizados contra parasitas como *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) (James, 2009). Trabalhos mostram que concentrações letais para insetos praga, são seletivas a abelhas (Al Mazra'awi et al., 2006). Nesse contexto, a maioria dos bioinseticidas formulados a partir de FE são recomendados para emprego na concentração  $10^7$  conídios  $mL^{-1}$ , sendo esta concentração seletiva para *A. mellifera* e também para outras espécies

como *Bombus lucorum* e *Bombus lapidarius* (Hymenoptera: Apidae) (Hokkanen et al., 2003), além das ASF *Melipona beecheii*, *Tetragonisca angustula* e *Scaptotrigona mexicana* (Hymenoptera: Apidae) (Toledo-Hernández et al., 2015). Entretanto, a toxicidade de um biopesticida é dependente de fatores inerentes ao inseto e ao biopesticida. Entre os fatores que tornam um inseto suscetível a ação de FE estão os fisiológicos e biológicos, como a idade. Neste aspecto, Conceição et al. (2014) verificaram que *B. bassiana* ( $10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>) causou uma mortalidade significativa de neonatas de *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae).

Os fatores que contribuem para a toxicidade de um biopesticida formulado a partir de FE estão ligados ao micro-organismo (virulência e afinidade com o inseto alvo) e formulação. O sucesso de uma infecção fúngica está relacionado com a adesão do esporo na cutícula do hospedeiro, germinação, penetração no tegumento e colonização (Zimmermann, 2007). A formulação torna o produto adequado para uso e preserva a viabilidade dos esporos. A formulação WP é uma das mais utilizadas para viabilizar o uso comercial de FE, promovendo o aumento na vida útil dos esporos, miscibilidade em água, formação de suspensão homogênea e tem baixo custo (Ezzati-Tabrizi et al., 2009). A formulação SC, tem os esporos incorporados em óleos (minerais ou vegetais), inertes não reativos e adjuvantes que melhoram o desempenho do produto formulado. Neste sentido, é possível que a formulação SC tenha contribuído com a maior mortalidade de *P. droryana*, pois a sobrevivência de insetos expostos a Octane®SC foi significativamente inferior a verificada para os demais tratamentos ( $\chi^2$ : 47,73; gl: 3; *p*-valor < 0,001) (Figura 1).

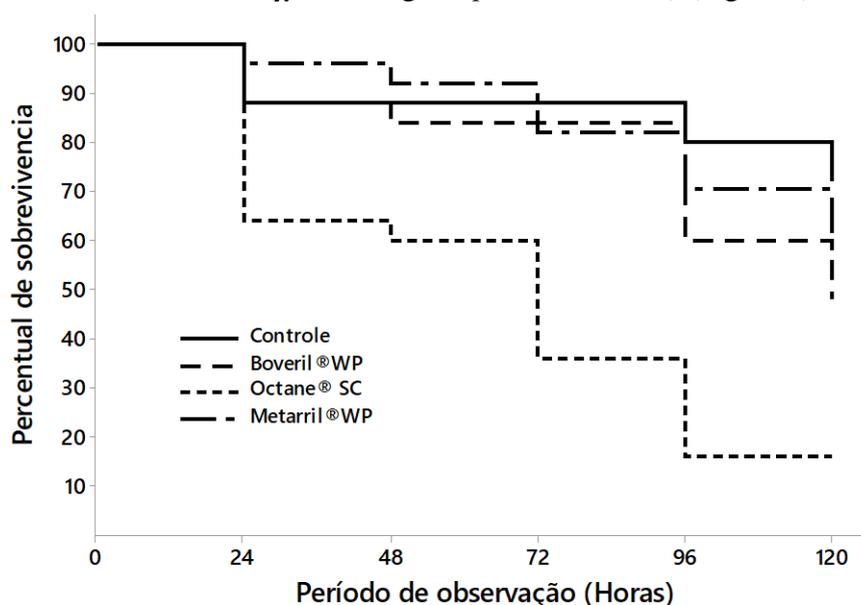


Figura 1. Curvas de sobrevivência para forrageiras de *Plebeia droryana* expostas via contato direto a  $10^7$  esporos mL<sup>-1</sup> de *Beauveria bassiana* (Boveril®WP), *Isaria fumosorosea* (Octane®SC) e *Metarhizium anisopliae* (Metarriil®WP), sob condições controladas ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR: 70% e fotofase de 1h).

A maior mortalidade ocasionada por Octane®SC pode ser atribuída a ação mecânica dos óleos que podem bloquear os espiráculos, matando o inseto por asfixia. Nesse sentido, além da escolha do produto adequado, deve-se observar o horário mais adequado para pulverização, evitando períodos em que abelhas apresentam maior atividade de forrageio de modo a não favorecer o contato direto com biopesticidas.

## CONCLUSÃO

O bioinseticida Octane<sup>®</sup>SC, formulado a partir de *I. fumosorosea*, foi mais nocivo para *P. droryana* expostas via contato direto na concentração de 10<sup>7</sup> esporos mL<sup>-1</sup> em condições de laboratório, quando comparado às formulações de *B. bassiana* (Boveril<sup>®</sup>WP) e *M. anisopliae* (Metarril<sup>®</sup>WP).

## AGRADECIMENTOS:

A Koppert Biological Systems pelo fornecimento dos bioinseticidas, a CAPES pela bolsa de pós doutorado PNPd e CNPq e UFSC pela concessão da bolsa de iniciação científica (PIBIC).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL MAZRA'AWI, M.S.; SHIPP, L.J.; BROADBENT, B.A.; KEVAN, P.G. Dissemination of *Beauveria bassiana* by honeybees (Hymenoptera: Apidae) for control of tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) on canola. *Environmental Entomology*, Annapolis, MD, v. 35, n. 6, p. 1569-1577, 2006.

CONCEIÇÃO, P.J.; NEVES, C. M.; SODRÉ, G.S.; CARVALHO, A.L.; SOUZA, A.V.; RIBEIRO, G.S.; PEREIRA, R. Susceptibility of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) worker bees to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Sociobiology*, Feira de Santana, v. 61, n. 2, p. 184-188, 2014.

EZZATI-TIBRIZI, R.; TALAEI-HASSANLOUI, R.; POURIAN, H.R. Effect of formulating of *Beauveria bassiana* conidia on their viability and pathogenicity to the onion thrips, *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Plant Protection research*, Poznań, v. 49, p. 97-104, 2009.

HOKKANEN, H.M.T.; ZENG Q.Q.; MENZEL-HOKKANEN, I. Assessing the Impacts of *Metarhizium* and *Beauveria* on Bumblebees. *Environmental impacts of Microbial Insecticides*, *Progress in Biological Control*, Springer, Dordrecht, v. 1, p. 63-72, 2003.

JAMES, R.R. Microbial control for invasive arthropod pests of honeybees. In: HAJEK, A.E.; GLARE, T.R.; O'CALLAGHAN, M. Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods (pp. 271–288). Berlin: Springer, 2009.

PIRES, C.S.S.; PEREIRA, F.M.; LOPES, M.T.R.; NOCELLI, R.C.F.; MALASPINA, O.; PETTIS, J.S.; TEIXEIRA, É.W. Enfraquecimento e perda de colônias de abelhas no Brasil: há casos de CCD? *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 51, n. 5, p. 422-442, 2016.

POTRICH, M.; da SILVA, R.T.L.; MAIA, F.M.C.; LOZANO, E.R.; ROSSI, R.M.; COLOMBO, F.C.; TEDESCOM, F.G.; de GOUVEIA, A. Effect of entomopathogens on Africanized *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 6, p 23-28, 2018.

TOLEDO-HERNÁNDEZ, R. A.; RUÍZ-TOLEDO, J.; TOLEDO, J.; SÁNCHEZ, D. Effect of three entomopathogenic fungi on three species of stingless bees (Hymenoptera: Apidae) under laboratory conditions. *Journal of Economic Entomology*, v. 0, n. 0, p. 1-5, 2015.

SILVEIRA, F. A., MELO, G. A., & ALMEIDA, E. A. *Abelhas brasileiras: sistemática e identificação*. P. imprensa: Belo Horizonte, MG (Brasil). 253 p., 2002.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and technology*, v. 17, pp 553 – 596, 2007.