

## Seletividade de *Beauveriabassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. a *Apismellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)

## Selectivity of *Beauveriabassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. to *Apismellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)

Raiza Abati

[raizaabati@gmail.com](mailto:raizaabati@gmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Michele Potrich

[michelepotrich@utfpr.edu.br](mailto:michelepotrich@utfpr.edu.br)

Orientadora/ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Fernanda Caroline Colombo

[fer.colombo@hotmail.com](mailto:fer.colombo@hotmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a seletividade do fungo entomopatogênico *Beauveriabassiana*, através de pulverização direta e ingestão, sobre *Apismellifera*. O experimento foi conduzido a partir da obtenção de operárias de favos de cria operculada. Os tratamentos utilizados para os testes foram: Água destilada esterilizada e *Beauveriabassiana* ( $1,0 \times 10^8$  conídios mL<sup>-1</sup>). No bioensaio de pulverização as abelhas foram anestesiadas com CO<sub>2</sub>, e colocadas em caixas gerbox onde foram pulverizadas com os tratamentos e posteriormente transferidas para gaiolas de PVC, com pasta cândi e algodão embebido em água. Já no bioensaio de ingestão, as abelhas foram anestesiadas e transferidas diretamente para as gaiolas, onde em um dos tratamentos receberam pasta cândi com incremento de *B. bassiana* e a testemunha com pasta cândi pura. Ambos os bioensaios foram mantidos em sala climatizada (27± 2°C, U.R. 60 ± 10%, fotofase 12h) onde foram realizadas avaliações periódicas, quanto a mortalidade, entre 1 até 240 horas. *B. bassiana* reduziu a longevidade de operárias de *A. mellifera* para 159,36 horas no bioensaio de pulverização, e 172,56 horas no de ingestão, enquanto das testemunhas foram 177,4 e 183,6 horas, respectivamente, além disto, observou-se queda mais acentuada na sobrevivência no bioensaio de pulverização direta. Nas condições dos bioensaios o fungo *B. bassiana* não mostrou-se seletivo a operárias de *A. mellifera*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fungo entomopatogênico. Abelhas. Seletividade.

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the selectivity of the entomopathogenic fungi *Beauveriabassiana* through direct spraying and on ingestion on *Apismellifera*. The experiment was conducted from workers obtained of flavor with creates operculada. The treatments used for the tests were: sterile distilled water and *Beauveriabassiana* ( $1,0 \times 10^8$  conidia mL<sup>-1</sup>). In the bioassay of spraying the bees were anesthetized with CO<sub>2</sub>, and placed in seed dispersal in boxes where they were sprayed with the treatments and later were transferred to PVC cages, with candy and cotton soaked in water for food. In the bioassay of ingestion, the bees were anaesthetised and transferred directly to the cages, where in one of the treatments received folder candy with increment of *B. bassiana* and the control with pure candy. Both bioassays were kept in climatized room (27± 2°C, U.R. 60 ± 10%, photophase 12h) where periodic evaluations were carried out, as the mortality between 1 up to 240 hours. *B. bassiana* reduced longevity of workers of *A. mellifera* to 159,36 hours in the bioassay of spraying, and 172,56 hours in the ingestion, while the control were 177,4 and 183,6 hours, respectively, in addition, it was observed fall sharper on survival in the bioassay direct spray. In the conditions of the bioassays the fungus *B. bassiana* did not prove to be selective to workers of *A. mellifera*.

**KEYWORDS:** Entomopathogenic fungi. Honey Bees. Selectivity.

**Recebido:** 31 ago. 2018.

**Aprovado:** 04 out. 2018.

#### Direito autoral:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.





## INTRODUÇÃO

As abelhas são insetos sociais pertencentes a ordem Hymenoptera, família Apidae, que possuem importância econômica devido à produção de mel, própolis, geleia real, apitoxina e por serem consideradas os principais agentes polinizadores, tanto para cultivos agrícolas como florestais. No Brasil, a espécie *Apis mellifera* possui maior ocorrência e é a abelha mais criada por apicultores, devido a produção de mel. No entanto, recentemente alguns apicultores e cientistas da área notaram que *A. mellifera* começou a desaparecer em vários países.

Considera-se a utilização de inseticidas sintéticos um dos fatores de principal relevância ao desaparecimento desta espécie, já que com o forrageamento realizado pelas operárias, é grande o contato com as culturas tratadas com estes produtos. Desta forma, as moléculas, quando não ocasionam a morte imediata das abelhas, podem afetar negativamente na orientação e capacidade de voo, dificultando a volta da mesma para a colônia, ou quando conseguem retornar, levam consigo os produtos químicos, enfraquecendo e até mesmo causando a morte da colônia (AMARO; GODINHO, 2012).

Contrapondo os inseticidas químicos, está o controle biológico que utiliza de inimigos naturais para manter a densidade populacional de um inseto-praga abaixo do nível de dano econômico. Neste sentido, são utilizados os fungos entomopatogênicos devido ao seu grande espectro de abrangência, tendo em vista que seu modo de ação ocorre por contato e possui capacidade epizootica. Entre os fungos estudados está *Beauveria bassiana*, que possui patogenicidade descrita sobre ampla gama de insetos. Sabendo-se dos benefícios ocasionados a partir da utilização de fungos entomopatogênicos, perante as moléculas de inseticidas sintéticos, há a necessidade de avaliar a segurança dos mesmos para com os insetos não-alvo, principalmente as abelhas *A. mellifera*. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a seletividade do fungo entomopatogênico *B. bassiana* através de pulverização direta e ingestão sobre *A. mellifera*.

## MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico I e na Unidade de Ensino e Pesquisa de Apicultura (UNEPE – Apicultura) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos.

A obtenção das operárias foi realizada a partir de favos de cria operculada no apiário experimental da UNEPE – Apicultura, onde foram retirados os quadros, acondicionados em sacos de papel Kraft, lacrados e com algumas perfurações, e transportados até o Laboratório de Controle Biológico I.

A partir disso foram realizados bioensaios de pulverização direta e ingestão de *B. bassiana* sobre *A. mellifera*. Onde as abelhas foram anestesiadas com CO<sub>2</sub> durante 120 segundos e então foram transferidas para caixas gerbox, nas quais foram colocadas dez abelhas por caixa, totalizando cem abelhas por tratamento. Foram pulverizadas com solução contendo *B. bassiana* (1.0 x 10<sup>8</sup> conídios.mL<sup>-1</sup>). Foram pulverizados 290 µL do tratamento, utilizando-se um aerógrafo Pneumatic Sagyma® acoplado a uma bomba Fanem® de pressão constante (1,2 kgf/cm<sup>2</sup>).

Em seguida as abelhas foram transferidas para gaiolas de PVC, de 20 cm de comprimento e 20 cm de diâmetro, contabilizando vinte abelhas por gaiola, fechadas com tecido tipo *voile*, sobre o mesmo, foram acrescentadas pequenas porções de pasta cândi e algodões embebidos em água. As gaiolas foram levadas à sala climatizada ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , U.R.  $60 \pm 10\%$ , fotofase 12h) onde foram avaliadas quanto a mortalidade da 1 as 240 horas após a pulverização (metodologia adaptada BAPTISTA et al., 2009). O mesmo procedimento foi realizado com as testemunhas, no entanto, a pulverização foi realizada com água destilada esterilizada.

Para o bioensaio de ingestão, foi preparada pasta cândi com acréscimo de *B. bassiana* em seguida as abelhas foram anestesiadas e acondicionadas em gaiolas, conforme procedimentos descritos no bioensaio 1

Os resultados foram tabulados em planilhas Excel® e posteriormente realizadas as análise de variância (ANOVA) pelo teste de Kruskal-Wallis e comparação de médias pelo Teste de Dunn a 5% de probabilidade, para verificação da longevidade, além da análise de Sobrevivência Kaplan-Meier, ambos através do software estatístico Bioestat 5.0® (AYRES et al., 2007).

## RESULTADOS

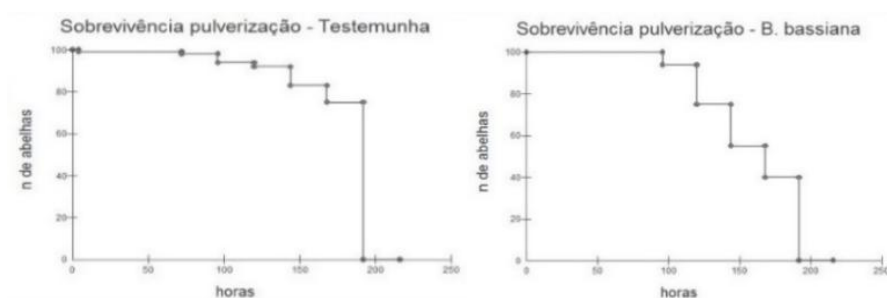
Houve diferença significativa entre a longevidade média das operárias do tratamento testemunhas e das operárias do tratamento de pulverização e incremento à dieta com *B. bassiana*.

Tabela 1 – Longevidade das operárias de *A. mellifera* após pulverização direta e ingestão de *B. bassiana*

Tratamento	Longevidade (horas)	
	Pulverização	Ingestão
Testemunha (água destilada esterilizada)	177,4 ± 5,65 a	183,6 ± 5,03 a
<i>B. bassiana</i>	159,36 ± 5,66 b	172,56 ± 6,05 b
P	< 0,05	< 0,05

Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 1– Análise de Sobrevivência Kaplan-Meier para o bioensaio de pulverização de *B. bassiana* sobre *A. mellifera*.

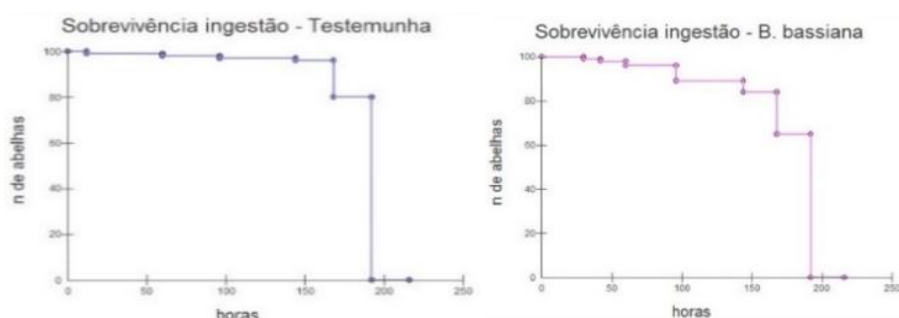


Fonte: Autoria própria (2018).

Através dos gráficos de análise de sobrevivência pode-se observar diferença entre as amostras (Figura 1). Na testemunha ocorreu um decréscimo populacional mais lento, sendo que às 168 horas após a pulverização a população total era de 75%, enquanto na pulverizada com *B. bassiana* de 40%.

Neste bioensaio, nota-se maior similaridade entre os gráficos, no entanto, as abelhas provenientes do tratamento testemunha apresentaram sobrevivência mais constante nas primeiras horas, ocorrendo queda significativa em 168 horas, enquanto no tratamento com ingestão de *B. bassiana*, o decréscimo na sobrevivência começa a ser notório com 96 horas.

Figura 2 – Análise de Sobrevivência Kaplan-Meier para o bioensaio de ingestão de *B. bassiana* por *A. mellifera*



Fonte: Autoria própria (2018).

## DISCUSSÃO

O decréscimo acentuado na sobrevivência iniciado próximo às 100 horas, observado em ambos os bioensaios, pode estar relacionado ao modo de ação do fungo, que ocorre por contato, onde em 72 horas após a inoculação, leva a morte do inseto por falta de nutrientes ou acúmulo de micotoxinas (ALVES, 1998).

Colombo (2016) avaliando *A. mellifera* após fornecimento de dieta incorporada com *B. bassiana*, observou redução na longevidade das operárias para aproximadamente 60,45 horas. No entanto, ao analisar o mesêntero de operárias de *A. mellifera* utilizando microscopia eletrônica de varredura, não foram observados danos ou rupturas causadas pelo fungo, e nem sua presença.

Em estudo realizados por Potrich et al. (2018) foi observada a redução na sobrevivência de *A. mellifera* após pulverização direta de *B. bassiana*, que foi de 62,6 horas e ingestão deste fungo, 117,3 horas. Assim como no presente trabalho, pode-se notar que o bioensaio de ingestão causa menor interferência na sobrevivência das abelhas, quando comparado à pulverização direta.

Libardoni (2017) ao analisar a ação de diferentes inseticidas químicos sobre *A. mellifera* identificou que nenhum deles foi seletivo, sendo que após a pulverização direta sobre as abelhas a longevidade das mesmas variou entre 1 e 2,2 horas. Já na avaliação por ingestão a longevidade média das operárias foi de 22,0 ao passo que da testemunha foi de 90,5 horas. Neste sentido, embora o teste de longevidade realizado no presente trabalho tenha apontado para diferença significativa entre os tratamentos, quando compara-se com estudos utilizando produtos químicos comerciais, pode-se afirmar que a redução na longevidade é pequena.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fungo entomopatogênico *B. bassiana*, nas condições em que o bioensaio foi conduzido, não apresentou seletividade a *A. mellifera*.

## REFERÊNCIAS

ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 1998

AMARO, P.; GODINHO, J. Pesticidas e Abelhas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, p. 53-62, 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0871-018X2012000200005](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2012000200005)>. Acesso em: 06 ago. 2018.

AYRES, M.; AYRES-JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A. A. **BIOESTAT: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas**. OngMamiraua. Belém, PA. 2007.

BAPTISTA, A. P. M.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, S. M.; CARVALHO C. F.; BUENO-FILHO, J. S. S. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados em citros para *Apismellifera*. **Ciência Rural**, v.39, 2009, p. 955-961. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n4/a155cr473.pdf>>. Acesso em: 01 ago, 2018.

COLOMBO, F. C. **Longevidade de operárias de Apismellifera alimentadas com dieta incorporada com entomopatógenos**. 2016. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2016.

LIBARDONI, G. **Efeito de Bacillusthuringiensis e produtos fitossanitários sintéticos na longevidade de operárias Apismellifera L. (Hymenoptera: Apidae)**. 2017. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2017. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2493>>. Acesso em 01 ago. 2018.

POTRICH, M.; SILVA, R. T. L.; MAIA, F. M. C.; SILVA, E. R. L.; ROSSI, R. M.; COLOMBO, F. C.; TEDESCO, F. G.; GOUVEA, A. EffectofentomopathogenonAfricanizedApismellifera L. (Hymenoptera: Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 1, p. 23-28, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0085562617301322>>. Acesso em 07 ago. 2018.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo fomento ao projeto. À Capes pela concessão de bolsas à terceira autora.