BACILLUS THURINGIENSIS (BACILLALES: BACILLACEAE) PODE AFETAR O INTESTINO MÉDIO DOS ADULTOS DE *CHRYSOPERLA EXTERNA* (HAGEN, 1861) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)?

Caroline Fetzner (PIBIC/CNPq/ UEM), Bruno Vinícius Daquila (Coorientador), Helio Conte (Orientador). E-mail: hconte@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Maringá, PR.

Ciências biológicas/ Biologia geral

Palavras-chave: Controle biológico; Seletividade; MIP.

RESUMO

Bacillus thuringiensis (Bt) (Bacillales: Bacillaceae) é um agente entomopatogênico amplamente utilizado em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), devido a sua eficiência e baixo impacto ambiental. Muitas vezes sua aplicação ocorre em agroecossistemas onde estão presentes larvas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae), inimigo natural relevante em diversas culturas e que deve ser preservado. A compatibilidade de bioinsumos a base de Bt com organismos benéficos requer avaliação contínua, uma vez que seus efeitos subletais podem modular a densidade populacional dos predadores. Portanto, este estudo avaliou os efeitos do bioinseticida Agree®, à base de esporos e proteínas de *B. thuringiensis aizawai* GC-91 (Bta), sobre a viabilidade e o intestino médio de adultos de *C. externa* alimentados com dieta artificial contaminada. Para isso, a viabilidade do produto comercial foi previamente verificada. Adultos recém-emergidos foram alimentados com dieta artificial contaminada em concentrações de 0,62, 1,25, 2,5 e 5,0 g L^{-1}, com registro de mortalidade realizado por 360 h, e o intestino médio dissecado 24 e 48 h após os bioensaios, para análises histológicas. Observou-se uma relação dose-resposta não monotônica: a maior concentração apresentou 12% de mortalidade, não diferindo do controle (0%), enquanto as concentrações intermediárias apresentaram mortalidade de 100% e diferiram significativamente do controle. As análises histológicas revelaram alterações no epitélio intestinal, incluindo projeções celulares e secreções apicais. Os resultados indicam que a formulação avaliada induziu efeitos letais e histológicos inesperados em *C. externa*, reforçando a necessidade de avaliações de seletividade na aplicação de bioinseticidas em programas de MIP.

INTRODUÇÃO

Crisopídeos ocorrem naturalmente em quase todo planeta. Dentre as espécies, *C. externa* destaca-se por seu hábito predatório e polífago durante a fase larval, alimentando-se de ovos e pequenos artrópodes de tegumento mole, enquanto os adultos são polinizadores e considerados benéficos aos agroecossistemas por

sua ampla dispersão e, portanto, devem ser preservados (SOARES e MACEDO, 2000).

O controle biológico, é um pilar do MIP que utiliza agentes vivos para reduzir a população de pragas em agroecossistemas, minimizando o uso de inseticidas sintéticos, sendo os fungos e as bactérias os principais ativos utilizados em bioinsumos microbianos. Bt é uma bactéria cosmopolita e esporulante que sintetiza proteínas inseticidas com elevada atividade entomopatogênica, sendo amplamente utilizadas no MIP. Após ingestão, os cristais são solubilizados no intestino, e as proteínas clivadas por proteases, podendo assim, ligar-se a receptores presentes no epitélio intestinal, causando degeneração e morte celular (BRAVO et al., 2021; CRICKMORE et al., 2026).

Considerando o papel benéfico de *C. externa* no controle natural de pragas, bioinseticidas à base de Bt devem demonstrar seletividade às diferentes fases de desenvolvimento desse predador. Assim, objetivou-se avaliar os efeitos do bioinseticida Agree® (contendo esporos e proteínas inseticidas de Bta) sobre o intestino médio de adultos de *C. externa* alimentados com dieta contaminada, contribuindo para o uso seguro desses produtos e a conservação de inimigos naturais em sistemas agrícolas sustentáveis.

MATERIAIS E MÉTODOS

Adultos recém-emergidos (com idades 0-12 h) de *C. externa* foram obtidos da criação massal do Laconbio/UEM. Utilizou-se o bioinseticida Agree® (Certis USA LLC), à base de esporos e proteínas de Bta GC-91, contendo 10^9 esporos viáveis/g, equivalente a 38,0 g/kg de endotoxina cuja viabilidade foi verificada por contagem de UFC/g a partir de diluições seriadas em meio TSA (Tryptic Soy Agar) e incubados em estufa à 28 °C por 24 h.

Para os bioensaios, o produto foi diluído em água destilada nas concentrações 0,62; 1,25; 2,50 e 5,00 g L^{-1} (DAQUILA et al., 2021) e incorporado à dieta artificial (mel: levedo de cerveja, 1:1 [m:m]); o controle recebeu água destilada. Adultos foram mantidos em potes plásticos (n = 5 repetições/tratamento, 10 indivíduos cada), alimentados *ad libitum*, em sala climatizada (25 ± 2 °C, fotoperíodo 12: 12 h, UR 70 ± 10%), com mortalidade registrada por 360 h.

Para as análises histológicas, intestinos médios (n = 5/tratamento/horário) foram dissecados 24 e 48 h após os bioensaios, fixados em Bouin alcoólico, incluídos em parafina, seccionados (6 µm) e corados com Hematoxilina-Eosina. Os dados foram analisados no software R (v. 4.5.2): normalidade e homogeneidade (*Shapiro-Wilk* e *Levene*), seguidos de *Kruskal-Wallis*, post-hoc de *Dunn* (correção de *Holm*) e *Jonckheere-Terpstra* para tendência dose-dependente (α = 0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade do produto comercial foi confirmada (1,23 × 10^9 UFC/g), e não houve rejeição ao alimento contaminado em nenhuma concentração testada. Ao final de 360 h, 100% dos adultos do grupo controle sobreviveram (Fig. 1), enquanto

as concentrações de 0,62; 1,25 e 2,5 g L^{-1} causaram mortalidade de 100% em até 192 h, diferindo significativamente do controle ($\chi^2(4) = 23,24$; $p < 0,001$) (Fig. 1). A concentração de 5 g L^{-1}, por sua vez, resultou em apenas 12% de mortalidade, não diferindo do controle, sem tendência dose-dependente (Jonckheere-Terpstra: $JT = 132,5$; $p = 0,719$) (Fig. 1).

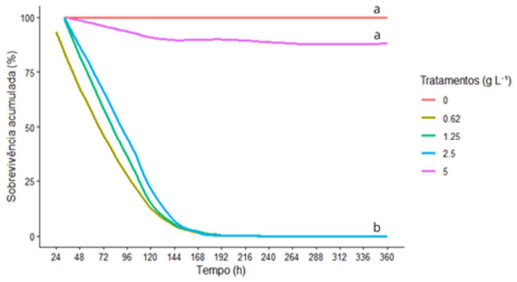


Figura 1. Sobrevivência acumulada (%) de adultos de *C. externa* alimentados com dieta artificial contaminada com *B. thuringiensis aizawai* CG91 em diferentes concentrações (0,62; 1,25; 2,5 e 5 g L^{-1}) por 360 h. Letras idênticas indicam similaridades entre os tratamentos (*Kruskal-Wallis* e *Dunn* com $\alpha = 0,05$).

Histologicamente, as concentrações intermediárias promoveram vacuolizações citoplasmáticas (Fig. 2B-C), projeções celulares em direção ao lúmen e desorganização do epitélio intestinal, alterações compatíveis com o mecanismo clássico de ação das proteínas Cry (CRICKMORE et al., 2026). Esse padrão indica que, nessas concentrações, *C. externa* respondeu de forma semelhante a espécies-alvo suscetíveis.

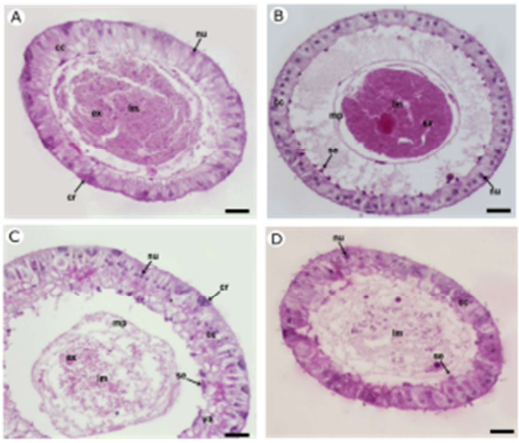


Figura 2. Microscopia de luz do intestino médio de adultos de *C. externa* alimentados com dieta contaminada com diferentes concentrações de *B. thuringiensis aizawai* GC91 (HE). (A) Controle 48h, com epitélio íntegro, células colunares (cc) e regenerativas (cr), lúmen (lm), excreções sólidas insolúveis (ex) envoltas pela membrana peritrófica (mp); (B) 0,65 g L^{-1} 48h, com secreções (se) apicais; (C) 2,5 g L^{-1} 24h, com vacuolizações citoplasmáticas (va); (D) 5,0 g L^{-1} 48h, com alterações histológicas mais discretas. Barra de escala: 50 µm

A ausência de relação dose-resposta monotônica na maior concentração (5 g L^{-1}), acompanhada de alterações histológicas mais discretas (Fig. 2D), sugere possível ativação de mecanismos fisiológicos compensatórios, como reparo epitelial

acelerado ou respostas de tolerância à intoxicação, já descritos em outros sistemas inseto-Cry (BRAVO et al., 2021).

Em conjunto, os resultados indicam que a seletividade de bioinseticidas à base de Bt sobre *C. externa* não é uniforme ao longo do desenvolvimento, com implicações diretas para programas de MIP: recomendações de seletividade baseadas exclusivamente em bioensaios com larvas podem subestimar o risco à população adulta do predador.

CONCLUSÕES

O bioinseticida Agree® não demonstrou seletividade sobre adultos de *C. externa* nas concentrações de 0,62, 1,25 e 2,5 g L^{-1}, promovendo alterações no epitélio do intestino médio e resposta dose-resposta não monotônica, com a maior concentração (5 g L^{-1}) apresentando efeitos similares ao controle. Esses resultados sugerem que há mecanismos fisiológicos ainda não elucidados. Assim, não é recomendado o uso de Bta em culturas onde adultos de *C. externa* estejam presentes, reforçando a importância de avaliações de compatibilidade entre bioinseticidas à base de Bt e agentes de controle biológico para o aperfeiçoamento de programas de MIP.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos, à Universidade Estadual de Maringá (UEM), e ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP/UEM), pelo suporte técnico na obtenção das imagens de microscopia.

REFERÊNCIAS

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Response mechanisms of invertebrates to *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 85, n. 2, e00007-20, 2021.

CRICKMORE, N.; BRAVO, A.; HECKEL, D. G.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; NIELSEN-LEROUX, C.; SOBERÓN, M. How *Bacillus thuringiensis* kills its insect host. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 210, art. 108643, 2026.

DAQUILA, B. V.; DOSSI, F. C. A.; MOI, D. A.; MOREIRA, D. R.; CALEFFE, R. R. T.; PAMPHILE, J. A.; CONTE, H. Bioactivity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs. *Pest Management Science*, v. 77, p. 2019–2028, 2021.

SOARES, J. J.; MACEDO, L. P. M. Criação de *Chrysoperla externa* para o controle biológico de pragas do algodoeiro. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2000. (Circular Técnica, 36). Disponível em:

https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/271623/1/CIRTEC36.pdf. Acesso em: 25 jun. 2026.