

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

**Leveduras Associadas a *Spermologus rufus* Boheman  
(Coleoptera: Curculionidae)**MARLITON R. BARRETO<sup>1</sup>, ERIANA S. BARRETO<sup>1</sup> E NORIVALDO ANJOS<sup>1</sup><sup>1</sup>Departamento de Biologia Animal, CCB, UFV, 36571-000, Viçosa, MG.

An. Soc. Entomol. Brasil 27(2): 295-297 (1998)

Yeasts Associated with *Spermologus rufus* Boheman  
(Coleoptera: Curculionidae)

**ABSTRACT-** Larvae and adults of *Spermologus rufus* Boheman can cause severe damage to seeds of Brazilian pine, *Araucaria angustifolia*. In this study, yeasts were isolated from seeds of *A. angustifolia* and from the digestive tract of *S. rufus* to verify their similarity and determine the existence of feeding sites in order to elaborate an artificial diet for this insect. *Pichia* spp. were found in seeds and *Pichia* spp. and *P. stipitis* Pignal in the digestive tract of *S. rufus*. The low variability among observed microorganisms suggests a food preference, which can facilitate the elaboration of artificial diets.

**KEY WORDS:** Insecta, Coleoptera, Curculionidae, yeast, *Pichia*, artificial diets, Brazilian pine.

A associação de leveduras com insetos pode ser dividida em: puramente mecânica, quando os insetos atuam como vetores de disseminação das leveduras no meio ambiente e nenhum benefício nutricional é derivado da associação; e benéfica, quando o inseto pode atuar não somente como vetor, mas também utilizar produtos metabólicos de leveduras que crescem no seu substrato de alimentação ou de reprodução (Phaff & Starmer 1987). Leveduras formam uma dieta adequada para certas larvas de mosquitos, baratas e besouros que se desenvolvem em substâncias fermentescíveis e em decomposição (Brues 1972) e, por isso, são importantes na nutrição de larvas e adultos de insetos, criando um potencial para interações mutualísticas, sendo utilizadas também no preparo de dietas artificiais. O curculionídeo *Spermologus rufus* Boheman cria-se em sementes oleosas de dicotiledôneas, atacando-as no chão ou em

depósitos, como é o caso das amêndoas de *Virola oleifera* (Anônimo 1944), de *Theobroma cacao* (Bondar 1945), de sapotáceas e leguminosas (Delobel & Tran 1993). No pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia*), *S. rufus* causa severos danos por utilizá-lo como alimento, tanto na fase jovem quanto na adulta (Barreto *et al.* 1996). Leveduras têm sido isoladas de insetos das famílias Bostrichidae, Cerambycidae e Buprestidae (Phaff & Starmer 1987) e é conhecido, também, que coleópteros das famílias Scolytidae, Lymexylidae e Platypodidae possuem associações mutualísticas com leveduras (Kinuura 1995). Entretanto, nenhum relato foi encontrado a respeito de leveduras em Curculionidae. Desta forma, isolou-se leveduras de sementes de *A. angustifolia* e do tubo digestivo de *S. rufus*, para verificar sua similaridade e determinar a existência de sítios de alimentação, visando a

possível elaboração de uma dieta artificial para este inseto.

Os experimentos foram conduzidos nas dependências do Núcleo de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) da Universidade Federal de Viçosa (U.F.V.), MG e os insetos foram obtidos da criação existente no Laboratório de Biologia de Insetos da U.F.V.. Sementes de *A. angustifolia* foram maceradas com 5 ml de água destilada estéril, sendo 0,2 ml da mistura espalhada em placas contendo ASD (Ágar Sabouraud dextrosado) (2% de dextrose, 1% de peptona e 1,5% de ágar) e incubadas a 28°C por 72 h. As colônias de leveduras foram repicadas para tubos contendo o mesmo meio de cultura, onde cresceram por 48 h nas mesmas condições. Os tubos digestivos dos insetos foram dissecados em solução salina a 0,9% e, posteriormente, macerados de acordo com o procedimento acima citado e 0,2 ml da mistura foi espalhada em placas com ASD mais rifampicina (16 mg/ml). As placas foram incubadas na mesma temperatura e as leveduras isoladas como descrito acima. A caracterização das leveduras foi feita segundo Van der Walt & Yarrow (1984) e sua identificação pela chave de Kreger-van Rij (1984). As culturas foram mantidas em tubos contendo GYP ágar inclinado (2% de glicose, 0,5% de extrato de levedura, 1% de peptona e 2% de ágar), acrescido de óleo mineral e água destilada estéril, sob refrigeração.

Das 30 colônias isoladas e identificadas 25 foram de *Pichia* spp. e cinco de *Pichia stipitis* Pignal. As colônias de *Pichia* spp. foram isoladas de sementes e do tubo digestivo de *S. rufus* e as de *P. stipitis* apenas do tubo digestivo. Numerosas espécies de *Pichia*, um gênero de levedura considerado inócuo a humanos (Buckholz & Gleeson 1991), têm sido encontradas em associação com insetos das famílias Bostrichidae, Cerambycidae e Buprestidae (Phaff & Starmer 1987). Espécies de *Pichia* podem ser isoladas de fezes de insetos, de tubos digestivos de besouros que invadem madeira em decomposição, de larvas de *Calcephora* sp. (Phaff & Starmer 1987), de *Cetonia* sp.,

de *Dorcus parallelipedus* e de *Laphria* sp. (Kurtzman 1984), de galerias feitas na madeira por escolitídeos (Hutchison & Hiratsuka 1994, Kinuura 1995), das superfícies de *Drosophila* spp. (Morais et al. 1995) e de nitidulídeos na cactácea *Pilosocereus arrabidaei* (Rosa et al. 1994).

As leveduras parecem direcionar os sítios de alimentação dos insetos como acontece nas abelhas africanas, nas quais a similaridade entre as leveduras isoladas de seu trato digestivo e das flores que lhes servem de alimento é significativa (Phaff & Starmer 1987). As leveduras isoladas de frutos e de espécies de *Drosophila* da floresta amazônica mostraram uma boa correspondência e os isolados representaram as espécies utilizadas como alimento pelas moscas (Morais et al. 1995). As leveduras isoladas dos tratos intestinais de larvas de *Drosophila serido* Vilela e Sene foram, principalmente, as espécies que prevaleceram nos caules da cactácea *P. arrabidaei* (Morais et al. 1994). Segundo Brues (1972), parece que os microrganismos devem apresentar alguma relação com o processo digestivo dos insetos. Há evidência de que os microrganismos são ingeridos com os substratos nos quais eles estão crescendo e formam uma parte da dieta do inseto. Uma mesma similaridade parece ocorrer entre as leveduras isoladas da semente de *A. angustifolia* e do tubo digestivo de *S. rufus*. Portanto, para o desenvolvimento de uma dieta artificial, visando a criação deste inseto, o extrato de levedura adicionado à dieta poderia ser de espécies do gênero *Pichia*.

### Literatura Citada

- Anônimo. 1944.** Uma broca da bicuíba como praga do cacão. Chácaras e Quintais 69: 314-315.
- Barreto, M. R., N. Anjos & M. P. Souza. 1996.** Ocorrência de *Spermologus rufus* (Coleoptera: Curculionidae) em sementes de *Araucaria angustifolia*. An. Soc. Entomol. Brasil 25: 567-568.
- Bondar, G. 1945.** Notas Entomológicas da

- Baía XV. Rev. Entomol. 16: 112.
- Buckholz, R. G. & M. A. G. Gleeson. 1991.** Yeast systems for the commercial production of heterologous proteins. *Bio/Technology*. 9: 1067-1072.
- Brues, C. T. 1972.** Fungi and microbes as food; symbiosis with microorganisms, p. 192-242. In: *Insects Food and Ecology*. New York, Dover Publications Inc., 466 p.
- Delobel, A. & M. Tran. 1993.** Les Coleoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, Paris: Orstom, Faune Tropicale, 32, 854 p.
- Hutchison, L. J. & Y. Hiratsuka. 1994.** Some wood-inhabiting yeasts of trembling aspen (*Populus tremuloides*) from Alberta and northeastern British Columbia. *Mycologia* 86: 386-391.
- Kinuura, H. 1995.** Symbiotic fungi associated with Ambrosia beetles. *Jarq* 29: 57-63.
- Kurtzman, C. P. 1984.** Genus 21: *Pichia* Hansen, p. 295-378. In N. J. W. Kreger van-Rij (ed.) *The yeasts: a taxonomic study*, 3rd ed. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1082 p.
- Kreger-van Rij, N. J. W. 1984.** *The yeasts: a taxonomic study*, 3rd ed. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1082 p.
- Morais, P. B., M. B. Martins, L. B. Klaczo, L. C. Mendonça-Hagler & A. N. Hagler. 1995.** Yeast succession in the Amazon fruit *Parahancornia amapa* as resource partitioning among *Drosophila* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 4251-4257.
- Morais, P. B., C. A. Rosa, A. N. Hagler & L. C. Mendonça-Hagler. 1994.** Yeast communities of the cactus *Pilosocereus arrabidaei* as resources for larval and adult stages of *Drosophila serido*. *Antonie van Leeuwenhoek* 66: 313-317.
- Phaff, H. J. & W.T. Starmer. 1987.** Yeasts associated with plants, insects and soil, p. 123-180. In A. H. Rose & J. S. Harrison (eds.), *The yeasts*. London, Academic Press, 508 p.
- Rosa, C. A., P. B. Morais, A. N. Hagler, L. C. Mendonça-Hagler & R. F. Monteiro. 1994.** Yeast communities of the cactus *Pilosocereus arrabidaei* and associated insects in the sandy coastal plains of southeastern Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek* 65: 55-62.
- Van der Walt & D. Yarrow. 1984.** Methods for isolation, maintenance, classification and identification of yeasts, p 45-104. In N. J. W. Kreger van-Rij (ed.) *The yeasts: a taxonomic study*, 3rd ed. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1082 p.

Recebido em 09/07/97. Aceito em 12/03/98.

---