

## AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE *Beauveria bassiana* (HYPOCREALES, CLAVICIPITACEAE) SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE *Periplaneta americana* (BLATTARIA, BLATTIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

**DUARTE, Jucelio Peter<sup>1</sup>; CÁRCAMO, Marcial Corrêa<sup>2</sup>; BERNARDI, Eduardo<sup>2</sup>; RIBEIRO, Paulo Bretanha<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – Ciências Biológicas (Bacharelado); <sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. juceli@hot.com.

### 1 INTRODUÇÃO

*Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758) (Blattaria, Blattidae), conhecida também como barata dos esgotos, é de grande importância médica. A alternância de habitats dessa barata durante o dia e à noite, lhes confere condições verdadeiramente excelentes como contaminadores de ambientes, e com isso, podem atuar como vetores de ovos e larvas de helmintos (THYSSEN et al., 2004), fungos (FOTEDAR; BANERJEE, 1992 apud THYSSEN et al., 2004), bactérias (CLOAREC et al., 1992), vírus (BAUMHOLTZ et al., 1997) e cistos de protozoários (PAI; KO; CHEN, 2003).

Devido à importância deste inseto em áreas urbanas o seu controle se faz necessário. Este é geralmente feito com o uso de inseticidas químicos, que, por sua vez, apresentam alguns problemas como: poluição ambiental, intoxicação de humanos e animais domésticos, além da possibilidade de aparecimento de resistência nas populações do inseto (PARRA et al., 2002).

Para a redução desses problemas vem se buscando como ferramenta o uso do controle biológico com diversos entomopatógenos, como vírus, bactérias, fungos e nematódeos. Já foi relatado que o fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales, Clavicipitaceae) causa mortalidade em diversas ordens de insetos, como Coleoptera (CHERRY; ABALO; HELL, 2005), Hemiptera (LELAND et al., 2005) e também em Blattaria (MOHAN; LAKSHMI; DEVI, 1999).

Porém ainda pouco se sabe sobre a ação desse fungo em *P. americana*. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação de *B. bassiana* em diferentes concentrações em adultos de *P. americana*, em condições de laboratório.

### 2 METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no Laboratório de Biologia de Insetos (DEMP/IB/UFPEL). A colônia de *P. americana* foi mantida durante todo o período de experimentação em câmara climatizada (26°C ± 2°C, UR > 75% e fotofase de 12h). Os adultos foram mantidos em caixas teladas (30 x 30 x 30cm) contendo placas de Petri com algodão embebido em água, e alimentados com dieta composta de açúcar e farinha de carne, na proporção de 1:1.

O isolado de *B. bassiana* (CG6), foi repicado em tubos de ensaio contendo um meio batata-dextrose-ágar (BDA) sendo em seguida incubados em estufa a 25°C com fotofase de 12h. Após a esporulação das culturas foram feitas suspensões fúngicas nas concentrações de 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> e 10<sup>7</sup> conídios.ml<sup>-1</sup>, em água destilada estéril adicionada de espalhante adesivo (Tween 80), na proporção de 0,01%.

Foram utilizados 15 casais de *P. americana* em cada tratamento testado ( $10^0$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  conídios.ml<sup>-1</sup>). Os tratamentos foram feitos em triplicata, consistindo de cinco casais em cada uma das réplicas. Para cada tratamento, os insetos foram imersos em 5ml de suspensão fúngica por 5 segundos. Todos os indivíduos de cada repetição foram colocados em gaiolas teladas, contendo alimento e água e colocadas em câmara climatizada supracitada. Não foi utilizada suspensão fúngica para o tratamento controle, os insetos somente foram imersos em 5ml água destilada estéril adicionada de espalhante adesivo (0,01%).

As repetições foram observadas diariamente por um período de 30 dias, e os indivíduos encontrados mortos eram retirados e colocados em câmara úmida a 25°C, com o objetivo de observar a esporulação do fungo.

Para as análises estatísticas, foi feita uma análise de sobrevivência de Kaplan-Meier. A comparação entre os tratamentos foi feita por Logrank test ( $p < 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo entomopatogênico *B. bassiana* causou uma redução significativa na sobrevivência de *P. americana*, quando comparada a sobrevivência do grupo controle, sendo essa redução diretamente proporcional ao aumento das concentrações ( $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  conídios.ml<sup>-1</sup>) ( $X^2=91,04$ ;  $p < 0,01$ ; GL=4), porém, entre a concentração de  $10^4$  conídios.ml<sup>-1</sup> e o grupo controle não houve diferença significativa ( $p=0,1538$ ).

Na maior concentração utilizada, o TL50 e o TL90 foram de sete e 15 dias, respectivamente. Nenhuma das outras concentrações esteve abaixo de 50% de insetos sobreviventes ao término do período de experimentação (Fig. 1).

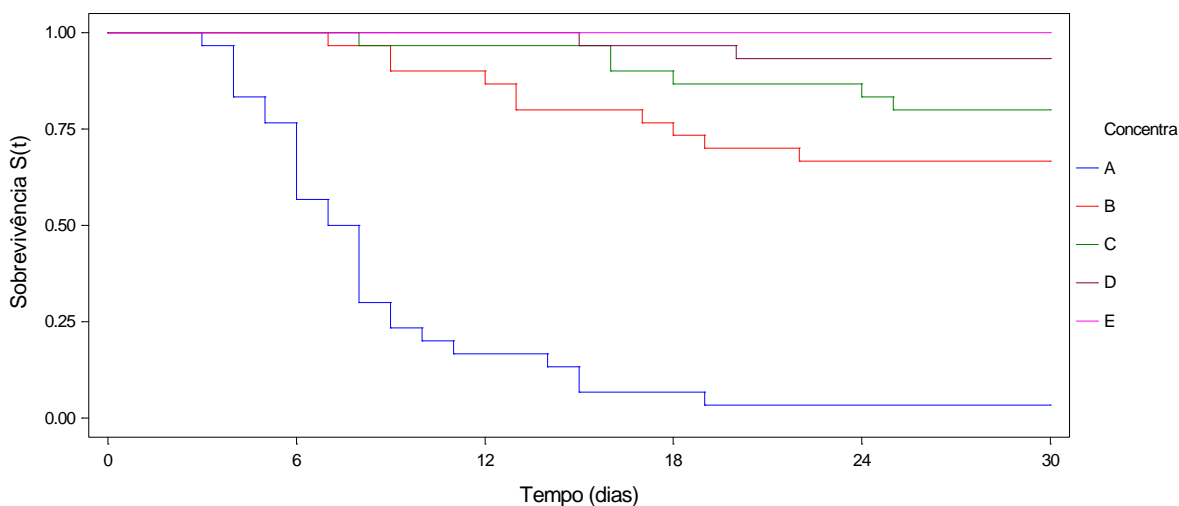


Figura 1 – Análise de sobrevivência de *Periplaneta americana* contaminados com *Beauveria bassiana* em diferentes concentrações. A =  $10^7$  conídios.ml<sup>-1</sup>; B =  $10^6$  conídios.ml<sup>-1</sup>; C =  $10^5$  conídios.ml<sup>-1</sup>; D =  $10^4$  conídios.ml<sup>-1</sup>; E = grupo controle.

A sobrevivência diminuiu conforme o aumento da concentração utilizada, fato que também foi observado para diversas espécies de insetos (CASTILLO et al., 2000; CHERRY; ABALO; HELL, 2005), inferindo que a carga patogênica é de grande importância no impacto que essa espécie de fungo causa nas populações de insetos.

O impacto causado também pode variar com a cepa utilizada, pois Mohan, Lakshmi e Devi (1999) relataram 75% de mortalidade ao décimo dia de experimentação, o que difere do presente estudo, onde foi obtido em torno de 30% de mortalidade, na mesma concentração, em um período três vezes maior. Outro fator a ser considerado, é a condição ambiental em que o entomopatógeno é aplicado, pois Hernandez-Ramirez, Sanchez-Arroyo e Alatorre-Rosas (2008) relataram uma baixa mortalidade (menos de 10%) quando testado em condições ambientais.

Todos os insetos mortos apresentaram esporulação do fungo em questão quando colocados em câmara úmida, sugerindo que a morte deve ter ocorrido pela ação do entomopatógeno.

Foi encontrado um total de seis insetos canibalizados pelos outros indivíduos da colônia nas concentrações de  $10^5$  e  $10^6$  conídios.ml<sup>-1</sup>. Esses insetos também foram considerados mortos pela ação do fungo, já que, também ocorreu a esporulação do entomopatógeno quando em câmara úmida. O comportamento de canibalismo nessa espécie já havia sido relatado por Duarte et al. (2010) quando essa espécie foi infectada com *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales, Clavicipitaceae). Estes autores sugerem que o canibalismo pode ter ocorrido como uma estratégia para eliminar o foco de infecção da colônia, ou então, como estratégia alimentar, já que, o indivíduo vulnerável provavelmente apresenta um valor nutricional maior que a dieta oferecida.

Fungos, além de causarem mortalidade quando aplicados diretamente sobre blatódeos, também podem ser transmitidos horizontalmente para outros indivíduos da mesma espécie, como relatado por Quesada-Moraga et al. (2004) ao observar que *M. anisopliae* era transmitido na população de *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) (Blattaria, Blattellidae), maximizando a eficiência do uso desses patógenos como método de controle.

#### 4 CONCLUSÃO

O fungo *Beauveria bassiana* causa uma redução na sobrevivência de adultos de *Periplaneta americana* diretamente proporcional ao aumento da concentração utilizada.

#### 5 REFERÊNCIAS

BAUMHOLTZ, Michael A.; PARISH, Lawrence Charles; WITKOWSKI, Joseph A.; NUTTING, William B. The medical importance of cockroaches. **International Journal of Dermatology**, Hoboken, v. 36, p. 90 - 96, 1997.

CASTILLO, Maria-Angeles; MOYA, Pilar; HERNÁNDEZ, Enrique; PRIMO-YÚFERA, Eduardo. Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. **Biological Control**, London, v. 19, p. 274 - 282, 2000.

CHERRY, A. J.; ABALO, P.; HELL, K. A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. **Journal of Stored Products Research**, London, v. 41, p. 295 - 309, 2005.

CLOAREC, A.; RIVAUULT, C.; FONTAINE, F.; LE GUYADER, A. Cockroaches as carriers of bacteria in multi-family dwellings. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 109, n. 3, p. 483 - 490, 1992.

DUARTE, Jucelio Peter; CÁRCAMO, Marcial Corrêa; FELCHICHER, Francielly; BERNARDI, Eduardo; RIBEIRO, Paulo Bretanha. Comportamento de adultos saudáveis de *Periplaneta americana* frente a adultos contaminados com *Metarhizium anisopliae*. In: **CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 19., Pelotas, 2010. Anais do XIX Congresso de Iniciação Científica, Pelotas, 2010.

HERNÁNDEZ-RAMÍREZ, Gabriela; SÁNCHEZ-ARROYO, Hussein; ALATORRE-ROSAS, Raquel. Patogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the american cockroach (Dictyoptera: Blattidae). In: **INTERNATIONAL CONFERENCE OF URBAN PESTS**, 6., Budapest, 2008. Anais do International Conference of Urban Pests, Budapest, 2008.

LELAND, Jarrod E.; MCGUIRE, Michael R.; GRACE, Julie A.; JARONSKI, Stefan T.; ULLOA, Mauricio; PARK, Young-Hoon; PLATTNER, Ronald D. Strain selection of a fungal entomopathogen, *Beauveria bassiana*, for control of plant bugs (*Lygus* spp.) (Heteroptera: Miridae). **Biological Control**, London, v. 35, p. 104 - 114, 2005.

MOHAN, C. Murali; LAKSHMI, K. Aruna; DEVI, K. Uma. Laboratory evaluation of the pathogenicity of three isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin on the american cockroach (*Periplaneta americana*). **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 9, p. 29 - 33, 1999.

PAI, Hsiu-Hua.; KO, Y. C.; CHEN, E. R. Cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*) as potential mechanical disseminators of *Entamoeba histolytica*. **Acta Tropica**, London, v. 87, p. 355 - 359, 2003.

PARRA, José Roberto; BOTELHO, Paulo Sérgio M.; CORRÊA-FERREIRA, Beatriz S.; BENTO, José Maurício S. Controle Biológico: Terminologia. In: PARRA, José Roberto; BOTELHO, Paulo Sérgio M.; CORRÊA-FERREIRA, Beatriz S.; BENTO, José Maurício S. **Controle Biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 1, p. 1 - 16.

QUESADA-MORAGA, Enrique; SANTOS-QUIRÓS, R.; VALVERDE-GARCÍA, P.; SANTIAGO-ÁLVAREZ, Cándido. Virulence, horizontal transmission, and sublethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* (anamorphic fungi) on the german cockroach (Blattodea: Blattellidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, Córdoba, v. 87, n. 1, p. 51 - 58, 2004.

THYSSEN, Patricia Jacqueline; MORETTI, Thiago de Carvalho; UETA, Marlene Tiduko; RIBEIRO, Odair Benedito. O papel de insetos (Blattodea, Diptera e Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, 2004.