

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do devir



TRANSMISSÃO HORIZONTAL DE *Metarhizium anisopliae* (CG 34) EM ADULTOS DE *Musca domestica* LINNAEUS, 1758 (Diptera, Muscidae)

CÁRCAMO, Marcial Corrêa^{1,2*}; FELCHICHER, Francielly^{1,3}; BERNARDI, Eduardo^{1,2}; PINTO, Diego Moscarelli¹; KRÜGER, Rodrigo Ferreira¹; RIBEIRO, Paulo Bretanha¹

¹ Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP/IB/UFPel)

² Bolsista CAPES

³ Bolsista CNPQ

* marcial.carcamo@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae), é uma praga de importância médica e veterinária e um vetor significativo de patógenos entéricos (Moon, 2002). Programas de controle contra esta praga são normalmente baseados no uso de inseticidas químicos em adulto. Porém, existem riscos potenciais para o ambiente, para a saúde humana e ainda o desenvolvimento de resistência (Jespersen & Keiding, 1990).

Desta forma, a procura por estratégias alternativas ao uso de substância química para controle é crescente, inclusive o uso de agentes microbianos. No Brasil, a utilização de fungos entomopatogênicos como agentes de controle biológico vem sendo aplicada utilizando-se principalmente as espécies *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff, 1879) (Hypocreales, Clavicipitaceae) e *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Ascomycetes: Sordariomycetidae), sendo que poucos são os estudos direcionados ao controle biológico de moscas por fungos entomopatogênicos (Senna-nunes et al., 2002).

A contaminação de insetos por fungos pode ocorrer de várias formas, dentre elas está a transmissão horizontal, que consiste na transmissão de um fungo de um inseto contaminado para outro inseto (não descendente) (Roy et. al., 2006).

O objetivo do presente trabalho é avaliar a ocorrência de transmissão horizontal do fungo entomopatogênico *M. anisopliae* entre adultos de *M. domestica*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A colônia de *M. domestica* foi mantida durante todo o período de experimentação em câmara climatizada com temperatura variando de 26° C ± 2° C, umidade relativa do ar acima de 75% e com fotofase de 12h, no Laboratório de Biologia de Insetos (DEMP/IB/UFPel). Os adultos foram mantidos em gaiolas teladas (30 x 30 x 30 cm) e alimentados com açúcar refinado e farinha de carne, em uma proporção de 2:1, respectivamente, sendo oferecida água em *becker* com espuma de poliestireno cobrindo a superfície do líquido. As larvas foram alimentadas com

uma dieta composta de 66% de farinha de carne, 34% de serragem e água até tornar o meio pastoso.

O isolado de *M. anisopliae* (CG34), estocado sob refrigeração em meio de cultivo batata-dextrose-agar (BDA) foi repicado para tubos de ensaio contendo o mesmo meio de cultivo sendo em seguida incubados em estufa a 25° C com fotoperíodo de 12h. Após a esporulação das culturas foram feitas suspensões na concentração de 10⁷ conídios/mL, em água destilada estéril adicionada de espalhante adesivo (Tween 80) na proporção de 0,01%.

Para a avaliação da transmissão horizontal de *M. anisopliae* as moscas foram sexadas e separadas logo após a emergência, os adultos ficaram separados por quatro dias. Na gaiola contendo apenas fêmeas foi colocado um substrato de oviposição para maturação do sistema reprodutor feminino. Após os quatro dias os machos foram mergulhados por um segundo na suspensão fúngica supracitada, sendo o tratamento controle composto apenas por água destilada estéril adicionada de 0,1% de Tween 80, durante todo o experimento os adultos dos bioensaios foram alimentados da mesma forma que os das colônias de manutenção. Foram utilizados 120 casais de *M. domestica*, separados em seis gaiolas teladas, cada uma contendo 20 casais, sendo três gaiolas do grupo controle e três do tratamento com a suspensão fúngica.

As gaiolas foram revisadas diariamente e os adultos encontrados mortos foram acondicionados em placas de Petri com papel filtro umedecido e levados a estufa climatizada (25°C e UR>70%) para observar o crescimento ou não de *M. anisopliae*.

Os tratamentos contendo os adultos foram observados ao longo de 14 dias para análise de sobrevivência com distribuição de Weibull ($Y = e^{-\mu^{-\alpha} \cdot \text{tempo}^{\alpha}}$), considerando probabilidade de qui-quadrado (X²) menor que 0,05, seguida de análise de contrastes para verificação das diferenças entre as concentrações para cada estágio. Todos os testes foram realizados no programa estatístico R (R Development Team 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento no qual os machos foram previamente mergulhados na suspensão fúngica de *M. anisopliae* (MR) foi efetivo na redução da sobrevivência quando comparado ao tratamento controle (CR) (GL=237; X²= 781,50; p<0,001),

conforme os modelos $survival_{CR} = e^{-19,51^{-3,86} \cdot x^{3,86}}$ e $survival_{MR} = e^{-7,74^{-3,86} \cdot x^{3,86}}$ (Figura 1).

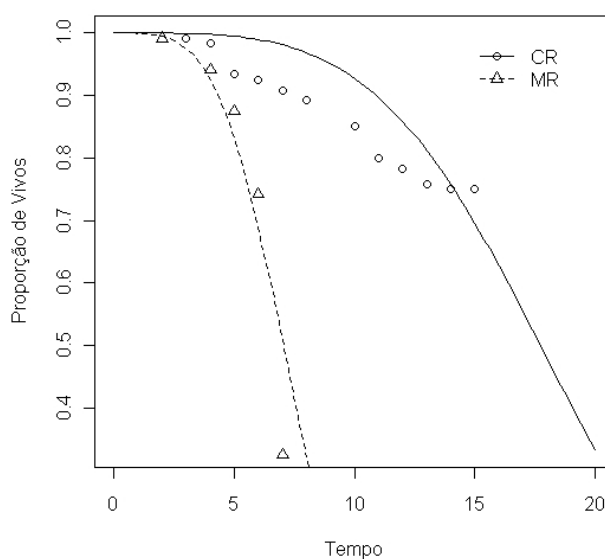


Figura 1 - Curva de sobrevivência de *Musca domestica* em função do tempo (dias) para machos e fêmeas a 25°C, umidade relativa do ar acima de 70% e fotofase de 12 horas em condições de laboratório. CR, tratamento controle; MR, tratamento com suspensão fúngica de *Metarhizium anisopliae*.

A mortalidade em adultos de *M. domestica* chegou a 100% em 12 dias quando estes foram expostos ao fungo entomopatogênico *M. anisopliae*, isso indica que esse fungo pode ser um bom agente para controle de dípteros, já tendo sido observado efeitos similares sobre outros muscídeos (Lohmeyer & Miller, 2006).

No presente trabalho foi possível observar que houve transmissão horizontal do fungo entre os adultos de *M. domestica*, já que 100% das fêmeas que foram expostas aos machos previamente infectados apresentaram germinação de *M. anisopliae*, depois de mortas. O uso dessa estratégia é proposto em outros trabalhos, pois causa pouca ou nenhuma poluição ambiental (Scholte et al., 2004; Ekesi et al., 2007). Renn et. al. (1999) observaram que adultos de *M. domestica* podem infectar-se ao entrar em contato com moscas mortas contaminadas pelo fungo entomopatogênico *M. anisopliae*.

O maior número de adultos encontrados mortos no tratamento com *M. anisopliae* foi ao sétimo dia, sendo que, o sexo não influencia no padrão de mortalidade (tempo) de fêmeas e machos independentemente do tratamento testado (GL=235; $X^2= 777,55$; $p=0,102$), não havendo diferença na mortalidade de machos e fêmeas dentro dos tratamentos (GL=237; $X^2= 781,50$; $p=0,259$). O fato de não haver diferenças significativas entre a morte de machos e fêmeas indica que a contaminação das fêmeas por conídios de *M. anisopliae* se deu logo após a colocação dos machos infectados nas gaiolas.

No presente trabalho foram utilizados machos com quatro dias de idade, sendo infectados e logo colocados nas gaiolas contendo fêmeas virgens. Para facilitar a estratégia de soltura dos adultos infectados com *M. anisopliae*, poderia ser usado como alternativa a colocação de uma camada de substrato de pupariação umedecida com a suspensão fúngica, o que levaria os adultos a auto-infecção, um dos problemas dessa alternativa seria que os machos de *M. domestica* só começam a acasalar 24h após a emergência (Murvosh et. al., 1964), mas segundo Quesada-Moraga et. al. (2008) os machos de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae) infectam 95% das fêmeas com as quais copulam, mesmo após 24 horas da infecção por *M. anisopliae*.

Nos dípteros, além da mortalidade causada pela transmissão horizontal de *M. anisopliae*, esse microrganismo pode causar redução na fertilidade e na fecundidade das fêmeas contaminadas (Scholte et. al., 2006; Quesada-Moraga et al., 2006). Além dos dípteros a transmissão horizontal de *M. anisopliae* é relatada em *Blattella germanica* (L.) (Blattaria, Blattellidae), sendo que, o fungo causa mortalidade e efeitos sub-letais nos adultos, como: redução no número de ootecas produzidas por fêmea e a redução do número de ninfas produzidas por ooteca (Quesada-moraga et. al., 2004).

Este sistema oferece outras vantagens adicionais sobre tratamentos convencionais com inseticida, pois os adultos previamente contaminados podem disseminar os conídios em superfícies de pouso, substratos de alimentação e oviposição, aumentando assim a probabilidade de contaminação de outras moscas e preservando as populações não alvo.

4. CONCLUSÃO

A transmissão horizontal de *M. anisopliae* ocorre em adultos de *M. domestica* e esse fungo reduz a sobrevivência desses muscídeos.

5. REFERÊNCIAS

- EKESI, S., DIMBI, S., MANIANIA, N.K. The role of entomopathogenic fungi in the integrated management of tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) with emphasis on species occurring in Africa. In: Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management. Kerala: ed. Research SignPost, 2007. p. 239–274.
- JESPERSEN, J.B. & KEIDING, J. The effect of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on *Musca domestica* L. larvae resistant to insecticides. In: Biocontrol of Arthropods Affecting Livestock and Poultry. Boulder: Westview, 1990. P. 215-229.
- LOHMEYER, K.H.; MILLER, J.A. Pathogenicity of Three Formulations of Entomopathogenic Fungi for Control of Adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v.99, n.6, p.1943-1947. 2006.
- MOON RD (2002) Muscid flies. **Medical and Veterinary Entomology** (ed. by G. Mullen & L Durden), pp. 279–301. Academic Press, London, UK.
- MURVOSH, C.M.; FYE, R. L.; LABRECQUE, G. C. Studies on the mating behavior of the house fly, *Musca domestica* (L.). **The ohio journal of science**, v.64, n.4, p. 264-271, 1964.
- QUESADA-MORAGA, M.E.; MARTIN-CARBALLO, I.C.; GARRIDO-JURADO, I.J.; SANTIAGO-ÁLVAREZ C.A. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Biological Control**, v.47, n.1, p.115-124, 2008.
- QUESADA-MORAGA, E.; SANTOS-QUIROS, R.; VALVERDE-GARCIA, P.; SANTIAGO-ÁLVAREZ C. Virulence, horizontal transmission, and sublethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* (Anamorphic fungi) on the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.87, p.51–58. 2004.
- RENN, N.; BYWATER A.F.; BARSON, G. A bait formulated with *Metarhizium anisopliae* for the control of *Musca domestica* L. (Dipt., Muscidae) assessed in large-scale laboratory enclosures. **Journal Appl Ent**, v.123, p.309-314. 1999.

ROY, H.E.; STEINKRAUS, D.C.; EILENBERG, J.; HAJEK, A.E.; PELL, J.K. Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic Fungi and Their Arthropod Hosts. **Annu. Rev. Entomol.** v.51, p.331–357, 2006.

SENNA-NUNES, M.; COSTA, G.L.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; SOUZA, E.J. Avaliação in vitro dos fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium corylophilum* em larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Parasitología Latinoamericana**, v.57, n.3/4, p.134-140, 2002.

SCHOLTE, E.J.; KNOLS, B.G.J.; TAKKEN, W. Autodissemination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* amongst adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. **Malaria Journal**, v.3, n.45, p.1-6. 2004.

SCHOLTE, E.J.; KNOLS, B.G.J.; TAKKEN, W. Infection of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* reduces blood feeding and fecundity. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.91, p.43–49. 2006.