

INFLUÊNCIA NO PERÍODO DE INFECÇÃO NA TRANSMISSÃO HORIZONTAL GENÉRICA CRUZADA DE *Beauveria bassiana* EM ADULTOS DE *Musca domestica*

SANTOS, Thamiris Barbosa¹; CÁRCAMO, Marcial Corrêa²; BERNARDI, Eduardo³; RIBEIRO, Paulo Bretanha³.

¹Universidade Federal de Pelotas – Ciências Biológicas (Bacharelado) (DEMP/IB/UFPEL);

²Bolsista Doutorado Cnpq (DEMP/IB/UFPEL); ³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP/IB/UFPEL)

1 INTRODUÇÃO

Musca domestica (Diptera, Muscidae) é um muscideo de importância médica e veterinária. Por ser sinantrópicas, onívoras e dispersar em grandes aglomerações humanas, causando incômodo em áreas urbanas e de produção animal (SKIDMORE, 1985). Esta espécie também atua como vetor mecânico de agentes patogênicos, tais como: vírus, protozoários, bactérias e ovos de helmintos (GREENBERG, 1971).

Devido aos problemas observados, se faz necessário o controle desta praga e para isso produtos químicos, ainda são muito usados, porém resultam em alguns problemas, seja para a saúde humana e poluição ambiental, ou por conta do desenvolvimento de resistência nessas populações de insetos devido ao uso contínuo dos inseticidas (PARRA, 2002).

Para diminuir o risco causado por alguns agentes químicos, faz-se o controle biológico com o uso de fungos entomopatogênicos, representando uma alternativa adequada (DE LA ROSA; LÓPEZ; LIEDO, 2002). Entre eles se destaca *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Hypocreales, Clavicipitaceae), reconhecidamente um patógeno de *M. domestica* (BARSON; RENN; BYWATER, 1994) cuja transmissão horizontal foi relatada em outros dípteros (DE LA ROSA; LÓPEZ; LIEDO, 2002). Apesar disso, pouco se sabe sobre a influência do período de infecção na transmissão horizontal cruzada.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do período de infecção de machos e fêmeas na transmissão horizontal cruzada de *B. bassiana* em adultos de *M. domestica*.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

A colônia de *Musca domestica* foi mantida em todo período de experimento em câmara climatizada (25 °C ± 2 °C; UR ≥ 75%; fotofase de 12h). Onde os adultos foram alimentadas com açúcar refinado e farinha de carne, em uma proporção de 2:1, a água foi oferecida em um *becker*, sendo que sua superfície foi coberta por poliestireno picado.

O isolado de *Beauveria bassiana* (CG6) permaneceu estocado em meio batata-dextrose-agar, sob-refrigeração, no Departamento de Microbiologia e Parasitologia. A partir do inóculo estocado, o fungo 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 10^7 conídios/mL, em água destilada estéril adicionada de espalhante adesivo (Tween 80) na proporção de 0,01%.

A avaliação da transmissão horizontal de *B. bassiana* foi realizada a partir da sexagem das moscas logo após a emergência. Os adultos ficaram separados por quatro dias. Na gaiola contendo apenas fêmeas foi colocado um substrato de oviposição, contendo a mesma dieta usada para o desenvolvimento das larvas, esta teve o propósito de estimular a maturação do sistema reprodutor.

Foram realizados dois bioensaios, utilizando 275 adultos de *M. domestica* com quatro dias. Em cada bioensaio foram mergulhados 25 adultos durante um segundo em 1mL de suspensão de *B. bassiana* na concentração de 10^7 conídios.mL⁻¹. Para avaliar a contaminação de fêmeas de *M. domestica* em função do tempo decorrido da infecção dos machos por *B. bassiana*, 250 fêmeas foram expostas a 25 machos contaminados. A exposição ocorreu em cinco tratamentos com intervalos de 0, 24, 48, 72 e 96h, cada tratamento representando um período de tempo decorrido da contaminação, contendo cinco réplicas cada. As réplicas foram constituídas de 10 fêmeas virgens (não contaminadas) e um macho contaminado, também virgem, por gaiola.

Para avaliação dos machos contaminados foi utilizada o mesmo método da avaliação da contaminação das fêmeas em função do tempo decorrido da infecção dos machos, porém cada réplica foi constituída de 10 machos saudáveis e uma fêmea contaminada.

Nos tratamentos, os espécimes não contaminados permaneceram em contato com os infectados por um período de 24h, em seguida foram isolados em microtubulos com algodão úmido e levados a estufa climatizada (25°C, UR>70% e fotoperíodo de 12h) para verificar se as moscas foram contaminadas e se haveria o crescimento de *B. bassiana*.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), para amostras desiguais e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,005$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo de infecção dos adultos de *Musca domestica* influencia significativamente a transmissão genérica cruzada de *B. bassiana*. Quanto maior o tempo decorrido do período de infecção do macho ou fêmea, menor é o número médio de contaminação de fêmeas e machos, respectivamente (Tab. 1).

Tabela 1. Influência do tempo de infecção de machos e fêmeas de *Musca domestica* na capacidade média de transmissão genérica cruzada de *Beauveria bassiana*

Horas de infecção	Transmissão de fêmeas contaminadas para machos saudáveis	Transmissão de machos contaminados para fêmeas saudáveis
	X \pm DP	X \pm DP
Zero horas	6,60 \pm 0,54 (A) (a)	5,80 \pm 0,84 (A) (a)
24 horas	4,20 \pm 2,38 (A) (ab)	0,80 \pm 0,84 (B) (b)
48 horas	3,60 \pm 1,14 (A) (bc)	1,80 \pm 1,30 (B) (b)
72 horas	2,60 \pm 1,14 (A) (bc)	0,40 \pm 0,55 (B) (b)
96 horas	1,20 \pm 0,83 (A) (c)	0,20 \pm 0,45 (B) (b)

X: média; DP: desvio padrão; Nas colunas: médias com pelo menos uma letra minúscula em comum não diferem entre si e as seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($\alpha = 0,05$); na linha: médias com letras maiúsculas em comum não diferem entre si e as seguidas de letras diferentes

diferem significativamente ($\alpha = 0,05$), ambas análises foram realizadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey.

A maior capacidade na transmissão genérica cruzada de *B. bassiana* em *M. domestica* foi encontrada naqueles tratamentos com menos tempo pós-infecção. Essa capacidade infectiva dos indivíduos recém contaminados provavelmente deve-se a forma de infecção por esse fungo, já que, esse, quando colocado sobre o inseto, germina em ± 18 horas e, imediatamente após a germinação, penetra na cutícula (PEKRUL; GRULA, 1979), o que reduz o número de conídios livres para infectar outro inseto.

Outro fator que pode ter influenciado na transmissão horizontal de *B. bassiana* nos diferentes períodos de infecção é o desenvolvimento da patogenia que os fungos causam nos insetos. Segundo Samuels, Reynolds e Charnley (1988) o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, da mesma família do usado no presente estudo, causa paralisia muscular (tetania), seguida por flacidez muscular, o que pode alterar o comportamento de acasalamento em *M. domestica*, já que, os machos fazem busca ativa para o encontro de fêmeas para a cópula (MURVOSH; FYE; LABRECQUE, 1964).

O sexo do espécime contaminado é um fator significativo na capacidade de transmissão horizontal de *B. bassiana* em todos os períodos pós-infecção, exceto no tratamento de "zero horas" foi possível observar que as fêmeas contaminaram um maior número de machos, quando comparados ao número de fêmeas que os machos conseguiram contaminar (Tab. 1). Essa maior capacidade de contaminação provavelmente refere-se ao fator anteriormente discutido, pois em condições de laboratório, a fêmea, apesar de contaminada (mesmo imóvel), ainda se apresenta receptiva à cópula, contaminando assim os machos. Já os machos executaram busca ativa pelas fêmeas e ao estarem contaminados com *B. bassiana* reduziram sua capacidade de vôo e, conseqüentemente, o número de cópulas que possivelmente realizariam.

4 CONCLUSÃO

A transmissão horizontal cruzada de *B. bassiana* apresenta queda em função dos períodos de infecção, sendo que as fêmeas contaminam um número maior de machos.

5 REFERÊNCIAS

BARSON, Graham; RENN, Nick; BYWATER, A. F. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the house fly (*Musca domestica* L.), a pest of intensive animal units. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 64, p. 107 - 113, 1994.

DE LA ROSA, W.; LÓPEZ, F. L.; LIEDO, P. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, p. 36 - 43, 2002.

GREENBERG, B. **Flies and diseases: Ecology, classification and biotic association**. Princeton: Princeton University, 1971.

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.

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.

PEKRUL, S.; GRULA, E. A. Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 34, n. 3, p. 238 - 247, 1979.

SAMUELS, R. I.; REYNOLDS, S. E.; CHARNLEY, A. K. Calcium channel activation of insect muscle by destruxins, insecticidal compounds produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, v. 90, n. 2, p. 403 - 412, 1988.

SKIDMORE, Peter. **The biology of the Muscidae of the world**. Dordrecht: Dordrecht Kunk Publishers, 1985.