

Avaliação do fungo *Beauveria bassiana*, associado a mosquicida com método de controle biológico de dípteros de interesse médico veterinário sob condições de laboratório

Avaliation of fungo *Beauveria bassiana*, associated the mosquicida with method of biological control of dípteros of medical interest veterinarian under laboratory conditions

Ingrid Dantas Sampaio da Silva¹;
Glauber Henrique de Sousa Nunes¹;
Elza Áurea de Luna Alves Lima²;
Nilza Dutra Alves¹;
Francisco Marlon Carneiro Feijó¹

Resumo

Os defensivos agrícolas podem causar efeitos prejudiciais aos entomopatógenos, sendo necessária a utilização de produtos compatíveis com estes inimigos naturais. Quando utilizados indiscriminadamente, os produtos químicos podem alterar o desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos, diminuindo a sua eficiência, favorecendo o aumento populacional das pragas. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do produto cipermetrina utilizado nas concentrações de 0,1mg, 0,5mg, 1,0mg, 5,0mg, 10,0mg sobre o diâmetro de colônia, a esporulação, a germinação e a toxicidade dos conídios produzidos pelo fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* no produto. O fungo foi inoculado em meio BDA contendo o produto químico, para posterior avaliação do diâmetro médio de colônia e esporulação. A porcentagem de germinação dos conídios produzidos, em meio BDA, foi mensurada após 16 horas. O inseticida em questão diminui o diâmetro de colônia em todas as concentrações testadas. Em relação ao número de conídios utilizados nas diferentes concentrações, houve uma redução no número de conídios de acordo com aumento da concentração de cipermetrina utilizado. O aumento da dose foi inversamente proporcional ao número de conídios germinados. Todas as concentrações testadas foram tóxicas para o fungo *B. bassiana*.

Palavras-chave: Fungos entomopatogênicos; conídios; esporulação; germinação.

Abstract

Action of insecticide on entomopathogens may cause harmful effects to them, the use of chemicals more compatible to these natural enemies being needed. When utilized indiscriminately chemicals may alter development entomopathogenic fungi, decreasing their efficiency, favoring thus the fly's population increase. The objective of the present study was to evaluate the effect of the insecticide cipermetrina using the concentrations 0,1mg , 1mg, 5mg, 1,0mg, 5,0mg, 10,0mg on the germination, vegetative growth, sporulation and toxicity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. The fungus was inoculated in PDA medium containing the chemicals for further evaluation of the mean diameter and sporulation. The germination percentage of the conidia produced was measured by means of viability test in PDA medium after 16 hours. The insecticide decreased the mean diameter, sporulation and the number of conidia. All the evaluated concentrations were toxic to the fungus *B. bassiana*.

Key Words: Fungi entomopathogenic; conidia; sporulation; germinacion.

Introdução

A *Cochliomyia macellaria* e a *Chrysomya albiceps* são dípteros calíptros que se manifestam, permanentemente, do ponto de vista sócio econômico, como vetores potenciais de microrganismos patogênicos, como bactérias, protozoários e helmintos, e já foram isolados da superfície externa do corpo e do intestino, enteropatógenos como óvulos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*, poliovírus 1, 2 e 3, vírus Pólio e Coxsackie e várias espécies de bactérias como as do gênero *Salmonella*, *Shigella* e *Escherichia coli* (Furlaneto, 1984; Greenberg, 1971 a/b; Catts & Goff, 1992). Além destes dípteros serem considerados vetores de vários microrganismos, são responsáveis por miíases secundárias em animais de produção, como bovinos. Na tentativa de se evitar ou minimizar os prejuízos causados por estes insetos, medidas de controle, são adotadas, sendo o controle químico e o controle biológico, as medidas mais utilizadas. A importância dos patógenos de insetos-praga num ecossistema é vital, porém, sua eficácia depende da compatibilidade com os outros componentes deste ecossistema. Estudos da compatibilidade com pesticidas químicos é um fator importante na determinação da eficácia do uso de entomopatógenos em programas de manejo de pragas. Os entomopatógenos são afetados de forma adversa por agentes fungicidas e fungistáticos, porém, não por todos os inseticidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do Experimento

O estudo do comportamento de *B. bassiana* foi realizado no Laboratório de Microbiologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Semi-árido-UFERSA.

Linhagem Utilizada

Foi utilizada *Beauveria bassiana* (CL1), depositada na Coleção de Cultura (Micoteca – URM) do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, sob o número de acesso 3447.

Princípio Ativo Utilizado e Concentrações Utilizadas no Teste de Compatibilidade

Foi utilizado o princípio ativo cipermetrina com as seguintes concentrações 0,1mg; 0,5mg; 1,0mg; 5,0mg; 10,0mg.

Diâmetro de Colônia, Determinação do Percentual de Esporulação, Determinação do percentual de Germinação e Índice de Toxicidade.

Um disco de 5mm de diâmetro da colônia do fungo foi transferido para o centro de uma placa de Petri com BDA. As observações foram feitas no período: 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-15. As mensurações foram realizadas em triplicata com o auxílio de uma régua e em seguida foi calculada a média aritmética. Para determinar o percentual de esporulação, Da colônia do fungo, foi retirado um disco de 5mm de diâmetro e inoculado no centro da placa de Petri (em triplicata). Aos 3, 6, 9, 12 e 15 foi adicionado em cada placa, 5mL da solução de etanol (75%) para inativar os conídios. Posteriormente, cada placa foi lavada dez vezes, com 9,5mL da solução “Tween 80”. Em seguida, a suspensão foi colocada em frasco Erlenmeyer (125mL) e agitado para promover a desagregação dos conídios. Em seguida, o número de conídios foi determinado em câmara de Neubauer (Alves, 1998). De cultura com doze dias de crescimento, foi retirado um disco de 5mm de diâmetro e transferido para tubos de ensaio contendo 10mL de “Tween” a 0,05%. A suspensão foi agitada para desagregação dos conídios. O número de conídios foi determinado em câmara de Neubauer. A suspensão foi diluída, de maneira a atingir 100 conídios/mL⁽⁻¹⁾. Desta suspensão, foi espalhado 0,1mL com o auxílio da alça de “Drigalsky”, por toda a superfície das placas de Petri contendo BDA. O experimento foi realizado em triplicata para cada dia de observação. O percentual de germinação foi determinado após 16 horas pós-inoculação. Foram contados 500 conídios por placa após a semeadura, considerou-se, como conídio germinado aquele cujo tubo germinativo se apresentou maior que um terço do tamanho do conídio. (Moahmed *et al.*, 1997). O índice de toxicidade foi verificado através da seguinte fórmula:

$$T = 20.NE + 80.DC/100.$$

Análise Estatística

Os dados observados foram analisados nos pacotes estatísticos Statistic 99 Editor, Table Curve e SAS.

Resultados e Discussão

O diâmetro da colônia de *B. bassiana* quando utilizado as concentrações 0,1mg, 0,5mg, 1,0mg, 5,0mg, 10,0mg estão demonstrados na Figura 1a. Observou-se que o inseticida em questão diminui o diâmetro de colônia em todas as concentrações testadas, diferindo dos resultados de Athayde *et al.*, (2001) quando observou os resultados de compatibilidade de deltametrina em associação ao fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*.

Os resultados observados, no que diz respeito ao número de conídios avaliados com as diferentes concentrações utilizadas estão apresentados na figura 1b. Os dados observados afirmam que houve uma redução no número de conídios de acordo com aumento da concentração de cipermetrina utilizado, concordando com os resultados de Cavalcanti *et al.*, (2002). Os resultados encontrados diferem dos achados descritos por Guimarães (2001) quando esta caracterizou a compatibilidade do fungo *M. flavoviride*. Em estudo com o inseticida imidaclopride. Moino Jr. & Alves (1998)

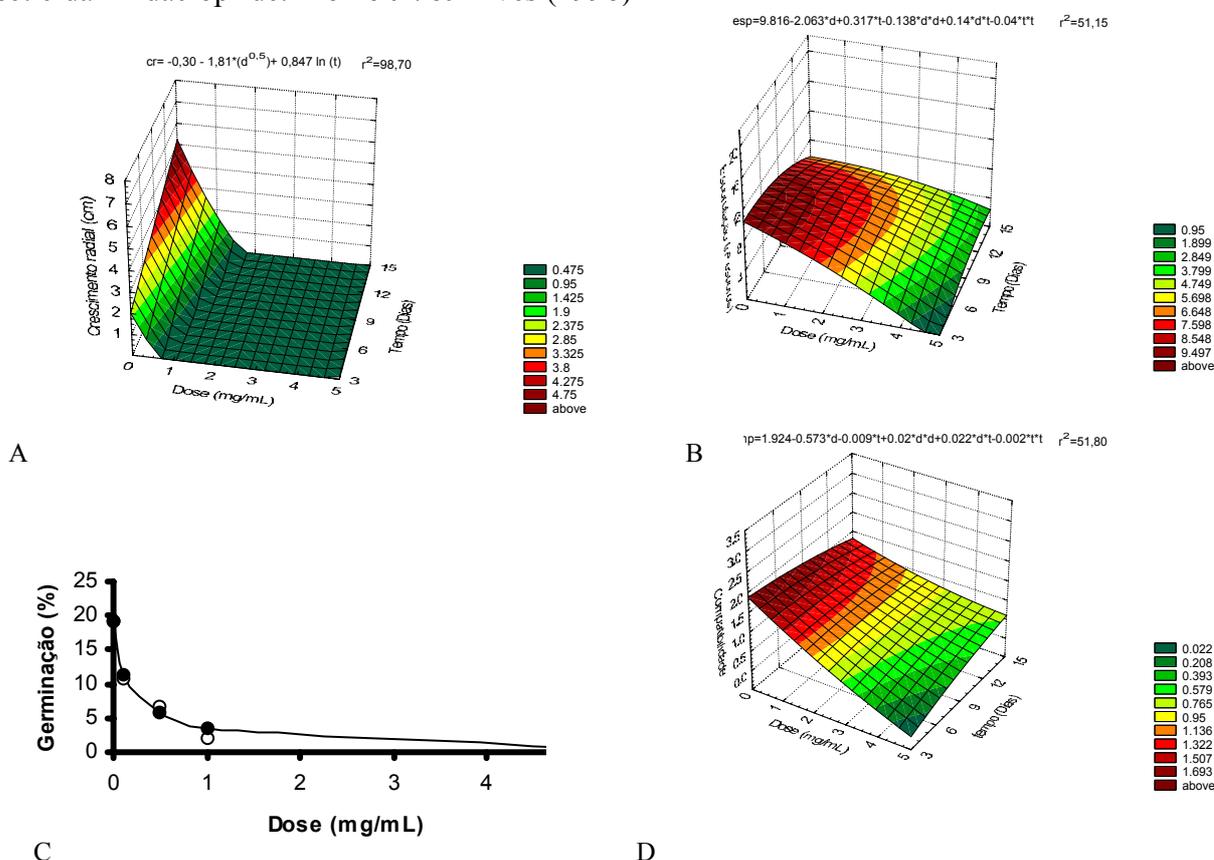


Figura 01: a) Crescimento radial, b) Número de conídeos, c) Toxicidade, d) Germinação de conídeos, de *Beauveria bassiana* associada a diferentes concentrações de cipermetrina em relação ao tempo.

não observou efeitos prejudiciais sobre a esporulação e o crescimento vegetativo dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo compatível com ambos os patógenos avaliados pela classificação de toxicidade sobre fungos entomopatogênicos. Já em estudo de Oliveira *et al.*, (2004), foi observado que as formulações pertencentes ao grupo químico do organofosforado e organostânico afetaram drasticamente a esporulação, bem como a germinação de conídios e crescimento vegetativo. O percentual médio de germinação de conídios de *Beauveria bassiana* associada a diferentes concentrações de cipermetrina está apresentado na figura 1d.

O aumento da dose foi inversamente proporcional ao número de conídios germinados. Estes dados corroboram com os resultados de Moahmed *et al.* (1997) e Lecuona (1999), mas diferem dos resultados de Cavalcanti *et al.*, (2002), que observaram os produtos fenpropratrina, imidaclopride, iprodione e tiametoxam não afetaram o fungo *B. bassiana* no parâmetro germinação; e também diferem dos dados obtidos no estudo realizado por Neves *et al.*, (2001), em que os produtos químicos não afetaram a viabilidade dos conídios do isolado 447 do fungo *B. bassiana*. O índice de toxicidade de cipermetrina está disposto na figura 1c. Todas as concentrações testadas foram tóxicas para o fungo *B. bassiana*, pois de acordo com Alves (1998), a compatibilidade é possível apenas quando o índice é superior a 60. Estes resultados devem ao efeito inibitório da colônia de *B. bassiana*. Estes dados diferem dos resultados encontrados por Athayde (2002) quando realizou experimento *in vitro* de compatibilidade entre o fungo *M. anisopliae* e cipermetrina, justificado pela dose utilizada naquele experimento, inferior ao deste trabalho. Em trabalhos realizados por Cavalcanti *et al.*, (2002), verificou-se quanto à sua toxicidade aos fungos entomopatogênicos, os inseticidas imidaclopride e tiametoxam foram compatíveis com o isolado UFLA – 4 de *B. bassiana*, o acaricida fenpropratrina foi tóxico e o fungicida iprodione muito tóxico.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o diâmetro de colônias e número de esporos diminui com o aumento da concentração do inseticida, sendo a cipermetrina tóxica para a *B. bassiana* nas doses utilizadas. Assim, o fungo não deverá ser utilizado em associação com cipermetrina para controle de dípteros como *C. albiceps*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Coord.) *Controle Microbiano de Insetos*. São Paulo: Manole, p.289-381, 1998.
- ATHAYDE, A.C.; GUIMARÃES, A.M.T.; QUEIROZ, C. F. & LUNA-ALVES LIMA, E.A. Compatibilidade de *Metarhizium anisopliae* com carrapaticidas químicos. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA, III, 2001, Águas de Lindóia. Anais... São Paulo: *Sociedade Brasileira de Micologia*, p.36-37, 2001.
- ATHAYDE, A.C. *Patogenicidade de Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae e Metarhizium flavoviride sobre ovos, larvas e teleoginas de Boophilus microplus da região semi-árida paraibana*. 2002, 135f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- CAVALCANTI, R.S.; MOINO, A.JR.; SOUZA, G.C.; ARNOSTI, A. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropratrina, imiclopride, iprodione, tiametaxon sobre o desenvolvimento de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. *Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo*, v.69, n.3, p.17-22, 2002.
- CATTS, E.P. & GOFF, M.L. Forensic entomology in criminal investigation. *Annual Review. Entomology*, v.37, p.253-272, 1992.
- FURLANETTO, S.M.P. Microrganismo enteropatogênico em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Díptera, Calliphoridae) no Brasil. *Revista Microbiológica*, v.15, n.3, p.170-174, 1984.
- GREENBERG, B. *Flies and Diseses: Ecology, Classification and Biotic Association*. Princeton Univ. Press., N. Y., v.1, p.865, 1971.
- GREENBERG, B. *Flies and Diseses: Biology and Diseses Trasmision*. Princeton Univ. Press., N. Y., v.2, p.447, 1971.
- GUIMARÃES, A.M.T.; QUEIROZ, C.F.; ATHAYDE, A.C.R. & LUNA-ALVES LIMA, E.A. Efeito de carrapaticidas químicos e observações citológicas no crescimento de *Metarhizium flavoviride* (Nota Prévia). In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE MICOLOGIA., III, 2001, Águas de Lindóia. Anais... São Paulo: *Sociedade Brasileira de Micologia*, p.37, 2001.

- LECUONA, R.E. Control microbiano com hongos entomopatogenos em la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomologica Argentina*. v.58, p.301-306, 1999.
- LOUREIRO, E.S. *Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com outros produtos fitossanitários e sua interação com Myzus persicae (Sultzer, 1776), Aphis gossypii Glover, 1877 (Hemiptera, Aphididae) e Orius insidiosus (Say, 1832) (Hemiptera, Anthocoridae)*. 2001 121f. [Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MOHAMED, A.K.A.; PRATT, J.P. & NELSON, F.R.S. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* with chemical pesticides. *Mycopathologia*, v.99, p.99-105, 1987.
- MOINO JUNIOR, A. & ALVES, S.B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metharhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). *Anais da Sociedade de Entomologia Brasileira*, v.27, n.4, p.611- 619, 1998.
- NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO JUNIOR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. *Neotropical Entomology*, v.30, n.2, p.263-268, 2001.
- OLIVEIRA, R.C.; NEVES, P.M.O.J. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com acaricidas. *Neotropical Entomology*, v.33, n.3, p.353-358, 2004.
- ROBERTS, D.W. & CAMPBELL, A.S. Stability of entomopathogenic fungi. *Miscely Publication Entomology Society American*, v.10, p.19-75, 1977.
- RODRIGUES, J.A. *Características Comportamentais de Metarhizium anisopliae após passagem em meio mais carrapaticida*. 2002. 27f Monografia (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.