

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

FRANCISCO MARLON CARNEIRO FEIJÓ

**AÇÃO DE *BEAUVERIA BASSIANA*, *METARHIZIUM ANISOPLIAE* VAR.
ANISOPLIAE E *METARHIZIUM FLAVOVIRIDE* VAR. *FLAVOVIRIDE* NO
DESENVOLVIMENTO PÓS EMBRIONÁRIO DE *CHRYSOMYA ALBICEPS*
SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

**RECIFE – BRASIL
2004**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Ação de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* no desenvolvimento pós embrionário de *Chrysomya albiceps* sob condições de laboratório

Autor: Francisco Marlon Carneiro Feijó
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique de Magalhães Melo
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elza Áurea de Luna Alves Lima

RECIFE – BRASIL
2004

FRANCISCO MARLON CARNEIRO FEIJÓ

AÇÃO DE *BEAVERIA BASSIANA*, *METARHIZIUM ANISOPLIAE* VAR.
ANISOPLIAE E *METARHIZIUM FLAVOVIRIDE* VAR. *FLAVOVIRIDE* NO
DESENVOLVIMENTO PÓS EMBRIONÁRIO DE *CHRYSOMYA ALBICEPS* SOB
CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Tese apresentada ao Curso de Doutorado
em Ciências Biológicas do Centro de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de
Doutor em Ciências Biológicas, na área
de Biotecnologia

Orientador:

Prof. Dr. Eduardo Henrique de Magalhães
Melo

Coorientadora:

Prof^ª. Dr^ª. Elza Áurea de Luna Alves Lima

Recife – Brasil
2004

AÇÃO DE *BEAUVERIA BASSIANA*, *METARHIZIUM ANISOPLIAE* VAR.
ANISOPLIAE E *METARHIZIUM FLAVOVIRIDE* VAR. *FLAVOVIRIDE* NO
DESENVOLVIMENTO PÓS EMBRIONÁRIO DE *CHRYSOMYA ALBICEPS* SOB
CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

FRANCISCO MARLON CARNEIRO FEIJÓ

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Henrique de Magalhães Melo (Depto. de Bioquímica – UFPE)

Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho (Depto. de Bioquímica – UFPE)

Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo (Depto. de Genética – USP – Esalq)

Prof^a. Dr^a. Elza Áurea Luna Alves Lima (Depto. de Micologia – UFPE)

Prof. Dr. José Ferreira dos Santos (Depto. de Genética – UFPE)

Suplentes:

Prof^a. Dr^a. Ana Célia Rodrigues Athayde (Depto. de Medicina Veterinária – UFCG)

Prof. Dr. Luiz Bezerra de Carvalho Júnior (Depto. de Bioquímica – UFPE)

À Elza Luna, pelo apoio, amizade e
incentivo, sempre recebidos,

Aos meus Pais, Iracema e Ribamar,
meu eterno agradecimento e respeito.

AGRADECIMENTOS

A Deus,

À minha família, meu pai Ribamar, minha mãe Iracema, minha tia Stela, meus irmãos Fabiana, Cassiana e Marcilon, que me apoiaram e me incentivaram para que eu chegasse até aqui.

Ao meu orientador Prof Dr. Eduardo Henrique de Magalhães Melo, que sempre me compreendeu durante o decorrer destes quatro anos.

À minha orientadora Prof^ª Dr^ª Elza Áurea de Luna Alves Lima, que sempre me incentivou, me apoiou, me compreendeu, me estimulou, me elogiou e também me repreendeu nas horas necessárias. Com certeza, sem a atenção e presteza desse ser humano, a realização desse trabalho, não teria sido possível. A prof^ª Elza, minha eterna gratidão.

À pesquisadora Dr^ª Maria José Paes Santos, pelas instruções na manutenção das colônias de moscas.

À Prof^ª Dr^ª Ana Célia Athayde Rodrigues, pelo incentivo, apoio e sugestões.

À Prof^ª Dr^ª Janete Magali de Araújo pela concessão do microscópio para a produção das microfotografias.

Ao Departamento de Medicina Veterinária da Escola Superior de Agricultura de Mossoró, pela minha liberação para conclusão do curso de doutorado na Universidade Federal de Pernambuco.

Ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, pelas dependências para realização da caracterização dos fungos no laboratório de Citologia e Genética.

Aos meus companheiros de laboratório de Controle Biológico e Citologia e Genética do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, Ubirany Lopes Ferreira, Maria do Livramento Ferreira, Auristela Correia de Albuquerque, Ana Paula Silva, Adna Batista, Franciene Santos Briand do Nascimento, Ginarajadaça Ferreira dos Santos pelos momentos de colaboração e incentivo.

Aos amigos Onaldo Guedes e Ricardo Chioratto, pelos momentos de convivência.

Às discentes do curso de Medicina Veterinária da Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Michelline do Vale Maciel, Bernardette Dantas Queiroz, Maria de Fátima

Lima, Ylanna Burgos Kelner e Roméria Santos pela colaboração durante os experimentos de patogenicidade.

Ao técnico de laboratório João Batista Bispo Soares pela prestação de serviços durante a realização dos experimentos de patogenicidade.

Aos professores e amigos Nilza Dutra Alves e Moacir Franco de Oliveira, pela presteza na resolução de problemas junto a Escola Superior de Agricultura de Mossoró, e acima de tudo pelo apoio e incentivos.

Ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas da UFPE, na representação da sua Coordenação e do seu Colegiado, pelo apoio administrativo.

Às secretárias da Coordenação do Programa Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas da UFPE, na pessoa de Adenilda, pela presteza e responsabilidade em executar as suas funções.

À CAPES através do Programa de Capacitação de Pessoal Docente e Técnico pelo apoio financeiro.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, com amizade e confiança.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Controle biológico de moscas	03
2.2. Taxonomia e aspectos biológicos de <i>Beauveria bassiana</i>	08
2.2.1. Taxonomia	08
2.2.2. Ciclo biológico	09
2.2.3. Ciclo parassexual	10
2.2.4. Aspectos citológicos	11
2.3. Potencial de <i>Beauveria bassiana</i> no controle biológico	12
2.4. Taxonomia e aspectos biológicos de <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> e <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i>	17
2.4.1. Taxonomia	17
2.4.2. Ciclo biológico	18
2.4.3. Ciclo parassexual	19
2.4.4. Aspectos citológicos	20
2.5. Potencial biológico de <i>Metarhizium anisopliae</i> e <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> no controle biológico.	21

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
4. CAPÍTULOS	41
CAPÍTULO 1: “EFEITO DE <i>Beauveria bassiana</i> SOBRE <i>Chrysomya albiceps</i> EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.”	42
CAPÍTULO 2: “AÇÃO DE <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> e <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> EM <i>Chrysomya albiceps</i> (Diptera: Calliphoridae) SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.”	61
CAPÍTULO 3: ANÁLISE DO COMPORTAMENTO E ASPECTOS CITOLÓGICOS DE <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> e <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> APÓS PASSAGEM EM OVO, LARVA E ADULTO DE <i>Chrysomya albiceps</i>.”	82
CAPÍTULO 4: “COMPORTAMENTO E ASPECTOS CITOLÓGICOS DE <i>Beauveria bassiana</i> APÓS PASSAGEM EM OVO, LARVA E ADULTO DE <i>Chrysomya albiceps</i>.”	105
5. CONCLUSÕES GERAIS	126
6. ANEXOS	127

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1: EFEITO DE *Beauveria bassiana* SOBRE *Chrysomya albiceps* EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.

Tabela 1: Percentual de eclosão de larvas de *Chrysomya albiceps* a partir de ovos infectados por *Beauveria bassiana*. 54

Tabela 2: Período médio do estágio de pré-pupa, estágio pupal e percentual médio de emergência de adultos a partir de larvas L₃ de *Chrysomya albiceps* infectadas com *Beauveria bassiana*. 55

Tabela 3: Média de morte acumulativa de machos e fêmeas tratados com diferentes concentrações de *Beauveria bassiana*. 56

Tabela 4: Longevidade de machos e fêmeas tratados com diferentes concentrações de *Beauveria bassiana*. 57

Tabela 5: Período médio de postura e percentual médio de eclosão de larvas L₃ de *Chrysomya albiceps* a partir de fêmeas infectadas por *Beauveria bassiana*. 58

CAPITULO 2: AÇÃO DE *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* E *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* EM *Chrysomya albiceps* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE) SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.

Tabela 1: Percentual de eclosão de larvas de *Chrysomya albiceps* infectadas por *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 75

Tabela 2: Período de estágio de pré-pupa e estágio pupal de *Chrysomya albiceps* infectadas com *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 76

Tabela 3: Percentual de emergência de machos e fêmeas de *Chrysomya albiceps* infectadas por *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 77

Tabela 4: Ritmo de emergência de *Chrysomya albiceps* infectados por *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 78

Tabela 05: Morte acumulativa de fêmeas e machos de *Chrysomya albiceps* infectados com *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 79

Tabela 6: Longevidade de machos e fêmeas tratados com diferentes concentrações de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 80

Tabela 7: Período de postura e percentual de eclosão de larvas L₃ de *Chrysomya albiceps* a partir de fêmeas infectadas por *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*. 81

CAPÍTULO 3: ANÁLISE DO COMPORTAMENTO E ASPECTOS CITOLÓGICOS DE *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* E *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* APÓS PASSAGEM EM OVO, LARVA E ADULTO DE *Chrysomya albiceps*

Tabela 1: Percentual de germinação de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps*. 93

Tabela 2: Esporulação de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps*. 94

Tabela 3: Número de colônia de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* após reisolamento de ovo, larva e adultos de *Chrysomya albiceps*. 95

Tabela 4: Diâmetro de colônia de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* após reisolamento de ovo, larva e adultos de *Chrysomya albiceps*. 96

Capítulo 4: Comportamento e Aspectos Citológicos de *Beauveria bassiana* após passagem em ovo, larva e adulto de *Chrysomya Albiceps*.

Tabela 1: Percentual médio de germinação de *Beauveria bassiana* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps* após 12 dias de inoculação 118

Tabela 2: Esporulação média de *Beauveria bassiana* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps* no 12^o dia pós-inoculação. 119

LISTA DE FIGURAS

2. REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1: <i>Beauveria bassiana</i> colonizando mosca “in vitro” http://cnia.inta.gov.ar/cicvya/imyza/amip/amip.html .	05
Figura 2: <i>Beauveria bassiana</i> – CL ₁	08
Figura 3: <i>Metarhizium. anisopliae var. anisopliae</i> - PL ₄₃	17
Figura 4: <i>Metarhizium. flavoviride var. flavoviride</i> - CG ₂₉₁	18
Figura 5: Ciclo biológico de <i>Metarhizium anisopliae var. anisopliae</i> .	19
Figura 6: <i>Metarhizium anisopliae</i> infectando <i>Prostephanus truncatus</i> . www.iita.org/info/ar97/38-39.htm .	24

CAPÍTULO 1: EFEITO DE *Beauveria bassiana* SOBRE *Chrysomya albiceps* EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.

Figura 1: Percentual de emergência a partir das larvas L ₃ de <i>Chrysomya albiceps</i> infectadas por <i>Beauveria bassiana</i> .	59
Figura 2: Ritmo de emergência de indivíduos a partir de larvas L ₃ de <i>Chrysomya albiceps</i> infectados por <i>Beauveria bassiana</i> .	60

CAPÍTULO 3: ANÁLISE DO COMPORTAMENTO E ASPECTOS CITOLÓGICOS DE *Metarhizium anisopliae var. anisopliae* E *Metarhizium flavoviride var. flavoviride* APÓS PASSAGEM EM OVO, LARVA E ADULTO DE *Chrysomya albiceps*.

Figura 1: Anastomose de <i>Metarhizium anisopliae var. anisopliae</i> observada às 72h pós- passagem em ovo de <i>Chrysomya albiceps</i> . 640x. Coloração Azul de Amann.	97
Figura 2: Formação de apressórios de <i>Metarhizium. anisopliae var. anisopliae</i> observada às 72h pós-passagem em larva de <i>Chrysomya albiceps</i> . 640x. Coloração Azul de Amann.	98
Figura 3 Conidióforos de <i>Metarhizium anisopliae var. anisopliae</i> observados às 96h pós-passagem em larva de <i>Chrysomya albiceps</i> . 640x. Coloração Azul de Amann.	99

Figura 4 Conídios cilíndricos uninucleados e binucleados (seta) de <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> observados às 120h pós-passagem em adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> . 1000x. Coloração Azul de Amann.	100
Figura 5: Anastomose de <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> observadas às 72h pós-passagem em larva de <i>Chrysomya albiceps</i> . 640x. Coloração Azul de Amann.	101
Figura 6: Formação de apressórios de <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> observado às 72h pós-passagem em adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> . 640x.	102
Figura 7: Conidióforos ramificados de <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> observadas às 120h pós-passagem em adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> . 640x. Coloração Azul de Amann.	103
Figura 8: Conídios cilíndricos uninucleados e binucleados (seta) de <i>Metarhizium flavoviride</i> var. <i>flavoviride</i> observados às 120h pós-passagem em adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> . 1000x. Coloração HCl-Giemsa.	104

CAPITULO 4: COMPORTAMENTO E ASPECTOS CITOLÓGICOS DE *Beauveria bassiana* APÓS PASSAGEM EM OVO, LARVA E ADULTO DE *Chrysomya albiceps*

Figura 1 : Número médio de colônia de <i>Beauveria bassiana</i> após reisolamento de ovo, larva e adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> pós-infecção experimental.	120
Figura 2 : Diâmetro médio de colônia de <i>Beauveria bassiana</i> após reisolamento de ovo, larva e adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> .	121
Figura 3: <i>Beauveria bassiana</i> Anastomose reisolada de ovo de <i>Chrysomya albiceps</i> . 72h. 640x.	121
Figura 4: <i>Beauveria bassiana</i> . Primórdio de conióforo reisolado de larva de <i>Chrysomya albiceps</i> . 96h. 640x.	122
Figura 5. <i>Beauveria bassiana</i> . Conidióforos e conídios ao longo do eixo hifal, mostrando célula coniogênica de terminação em zigue-zague (seta) reisolada de larva. 96h. 640x.	123
Figura 6: <i>Beauveria bassiana</i> . Conidióforos maduros e conídios reisolados de adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> . 120h. 640x.	124
Figura 7: <i>Beauveria bassiana</i> . Conídios uninucleados reisolados de adulto de <i>Chrysomya albiceps</i> . 120h. 1000x. HCl-Giemsa.	125

RESUMO

Beauveria bassiana, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* são fungos entomopatogênicos com ação comprovada contra várias espécies, embora não tenham sido testados em *Chrysomya albiceps*, um díptero de importância na saúde pública. Assim, objetivou-se avaliar a ação de *B. bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *M. flavoviride* var. *flavoviride* em ovos, larvas e adultos de *C. albiceps*, utilizando as concentrações 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 conídios.mL⁻¹, considerando o percentual de eclosão de larvas, período de pré-pupa, pupa, percentual de emergência de adultos, ritmo de emergência, morte acumulativa, longevidade, período de postura e percentual de eclosão a partir de fêmeas infectadas. O comportamento dos fungos reisolados também foi avaliado através dos parâmetros biológicos: percentual de germinação, número de conídios, número e diâmetro de colônias, bem como a citologia no que se refere à descrição das estruturas vegetativas e reprodutivas. De acordo com a metodologia empregada, verificou-se que os três fungos apresentaram ação contra ovos, larvas e adultos de *C. albiceps*. Já em relação ao comportamento, foi observado que os fungos reisolados de larva apresentaram o melhor desempenho em relação ao controle e os aspectos citológicos não diferiram quando comparados ao controle. Esses resultados sugerem a possibilidade do emprego desses fungos no controle de *C. albiceps*.

Palavras-chave: *Chrysomya albiceps*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*, *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride*, patogenicidade, citologia

e-mail: marlon@esam.br

ABSTRACT

Beauveria bassiana, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* and *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* are entomopathogenic fungi with proven action against several species, although it has not been tested in *Chrysomya albiceps*, a dipteran of importance in the public health. Like this, it was aimed to evaluate the action of *B. bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* and *M. flavoviride* var. *flavoviride* in egg, larvae and adult of *C. albiceps*, using the concentrations 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 conidia.mL⁻¹, considering the percentage of eclosion of L₃ larvae infected, pre pupae period, pupae period, percentage of adults' emergency, emergency rhythm, accumulative death, longevity, posture period and percentage of eclosion of L₁ larvae from females infected.. The behavior of the reisolated fungi was also evaluated through the biological parameters: percentage of germination, conidia number, number and diameter of colonies, as well as the cytology in cocern to the description of the vegetative and reproductive structures. In agreement with the used methodology, it was verified that the three fungi presented action against eggs, larvaes and adults of *C. albiceps*, already in relation to the behavior, it was observed that the reisolated fungi from larvae presented the best effects in relation to the control and the cytological aspects didn't differ when compared to the control. These results suggest the possibility of the employment of those fungi in the control biological of *C. albiceps*.

Keywords: *Chrysoma albiceps*, *Beauveria bassiana*, *M. anisopliae* var. *anisopliae* and *M. flavoviride* var. *flavoviride*, pathogenicity, cytology.

e-mail:marlon@esam.br