

SEGURANÇA DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS PARA VERTEBRADOS

Jucelaine Haas Barth da Costa*
Kimiyo Shimomura Haida**

RESUMO: Em decorrência dos problemas causados pelo uso indiscriminado dos agrotóxicos, o controle biológico tem sido utilizado para controlar a população de insetos-pragas nas lavouras e em grãos armazenados. Dentre os organismos utilizados estão os fungos entomopatogênicos, especialmente *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*. Apesar de sua esperada inocuidade para organismos não-alvo, pode ser possível que estes agentes de controle microbiano afetem invertebrados benéficos e até mesmo vertebrados. É comprovado que podem causar anomalias em embriões de peixes e infecções em outros vertebrados, apesar de estudos recentes comprovarem que *M. anisopliae* é seguro para *Astynax scabripinis* e *B. bassiana* para *Gallus domesticus*. Assim, devido à existência de informações conflitantes, fica evidente que mais testes são requeridos para verificação da segurança de fungos entomopatogênicos para vertebrados.

PALAVRAS-CHAVE: Segurança; Organismos Não-Alvo; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*.

SAFETY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI TO VERTEBRATES

ABSTRACT: Due to the problems caused by the indiscriminate use of pesticides, biological control has been used to control the population of insects in agriculture and stored beans. Entomopathogenic fungi are among the organisms that are used, specially *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Despite their expected safety to non-target organisms, it may be possible that these microbial control agents affect beneficial invertebrates and even vertebrates. It is certain that they may cause abnormalities in fish embryos and infection in other verte-

* Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE; Docente da Universidade Paranaense – Unipar. E-mail: jubarth@gmail.com

** Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina – UEL; Docente da Universidade Paranaense – Unipar. E-mail: ksh@certto.com.br

brates, but there are recent studies that testify the safety of *M. anisopliae* to *Astynax scabripinis*, and of *B. bassiana* to *Gallus domesticus*. Thus, due to the existence of conflicting information, it is evident that more tests are required in order to verify the safety of entomopathogenic fungi to vertebrates.

KEYWORDS: Safety; Non-Target Organisms; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*.

INTRODUÇÃO

O Controle Biológico como estratégia para o controle populacional de insetos-praga tem sido muito difundido nos últimos anos. Acredita-se que aumente ainda mais a área tratada com inimigos naturais nos próximos anos, devido à redução de agroquímicos e aumento da área de plantio de culturas que utilizam fungos, bactérias, nematoides e vírus para controlar suas pragas.

Jonsson e Maia (1999) relatam que, a exemplo dos produtos químicos, organismos entomopatogênicos também não devem ser utilizados indiscriminadamente, mas seguindo princípios ecológicos. A liberação de um agente de controle microbiano (ACM) pode ter repercussões ecológicas imprevistas. O destaque desses entomopatógenos no controle de insetos tem provocado o aumento da preocupação com possíveis problemas decorrentes de seu uso em relação aos organismos não-alvo (JONSSON; MAIA, 1999; 2005).

Tendo em vista o citado acima, este trabalho tem por objetivo fazer um levantamento dos dados relatados na literatura sobre a segurança de fungos entomopatogênicos para vertebrados, considerados organismos não-alvo do controle biológico de insetos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A busca por métodos alternativos de controle de insetos-praga tem sido realizada com afinco em todo o mundo, devido à necessidade de uma agricultura mais sustentável e desenvolvida, preocupada com a preservação do meio ambiente (BOBROWSKI; PASQUALI; BODANESE-ZANETTINI, 2003; PRAÇA *et al.*, 2004). A utilização de microrganismos entomopatogênicos como bactérias, vírus e fungos se enquadra nesta categoria.

Esse método de controle propicia benefícios ambientais, dentre os quais destacam-se a redução do uso de pesticidas químicos e consequente redução de resíduos dos mesmos nos alimentos, além da manutenção da biodiversidade

no ambiente, o que, por sua vez, permite aumento na atividade dos inimigos naturais. A maioria desses agentes podem ser, ainda, aplicados com equipamento convencional, podem ser produzidos por meios artificiais e serem armazenados por longos períodos de tempo (ALVES, 1998; LACEY *et al.*, 2001).

Como forma de exemplificar a amplitude e o potencial dos microrganismos entomopatogênicos, podem ser citados alguns programas de controle de pragas já implantados no Brasil, como o uso de fungos para o controle da cigarrinha da cana-de-açúcar e das pastagens (ALVES, 1998), da broca da bananeira, broca-do-café, percevejo-de-renda da seringueira (FARIA; MAGALHÃES, 2001) e do gorgulho da cana (BACILIERI *et al.*, 2006). Além disso, Faria e colaboradores (2002) também recomendam o uso de fungos entomopatogênicos para o controle de gafanhotos. Também é conhecida a utilização de vírus e bactérias no controle da lagarta-da-soja e da mandioca (ALVES, 1998), e nematoides no controle da vespa-da-madeira em *Pinus* (MENDES, 1992 apud ALVES, 1998; FENILI *et al.*, 2000; IEDE *et al.*, 2000), entre outros. Além disso, o controle microbiano vem sendo utilizado com sucesso onde inseticidas químicos não são práticos ou aceitáveis, como em silvicultura (LORD, 2005) e, principalmente, na agricultura orgânica.

Especificamente com relação aos fungos entomopatogênicos, as pesquisas no campo do controle microbiano são realizadas com dois grandes grupos de fungos: os pertencentes à ordem Entomophthorales, cujo potencial como agente de controle tem sido pouco explorado em razão da dificuldade de sua produção, e os chamados fungos imperfeitos (Deuteromycota: Hyphomycetes). Este segundo grupo tem um espectro um pouco mais amplo de hospedeiros e é de fácil produção em meios artificiais (TAMAI *et al.*, 2002).

Fungos entomopatogênicos são capazes de causar altos níveis de mortalidade em populações de insetos, destacando-se *Beauveria bassiana* (FURLONG; PELL, 2001; SHI; FENG, 2004). Este fungo é de ocorrência generalizada em todas as regiões, sendo a mais frequente sobre os insetos e no solo, onde pode subsistir por longos períodos de tempo em saprogênese. Em campo, ocorre em coleópteros, lepidópteros, hemípteros, dípteros, himenópteros e ortópteros (ALVES, 1998).

O ciclo de infecção inicia-se a partir do contato do propágulo do fungo com um hospedeiro potencial (ALVES, 1998; CASTRILLO; ROBERTS; VANDENBERG, 2005). Em uma reação compatível, o reconhecimento e adesão antecedem a germinação do fungo na cutícula do hospedeiro, seguida de penetração na cutícula e colonização da hemocele do inseto. A infecção eventualmente culmina na ruptura da cutícula, o que permite o crescimento externo do fungo e posterior formação de esporos e dispersão. A morte do inseto geralmente ocorre

durante a colonização da hemocele (ALVES, 1998; CASTRILLO; ROBERTS; VANDENBERG, 2005), quando então há disrupção dos processos fisiológicos do inseto (LAIRD; LACEY; DAVIDSON, 1990; MURO; METHA; MOORE, 2003), levando à falta de nutrientes, podendo o hospedeiro também morrer por inanição e obstrução interna (ALVES, 1998; CASTRILLO; ROBERTS; VANDENBERG, 2005).

Durante o processo infeccioso, os fungos também produzem metabólitos secundários derivados de vários intermediários do metabolismo primário. Alguns deles têm atividade biocida, resultando na morte mais rápida do hospedeiro. *B. bassiana*, por exemplo, produz oosporeína, beauvericina e bassianolide (ALVES, 1998). A micotoxina oosporeína é sabidamente tóxica a pássaros (PEGRAM *et al.*, 1982 apud JOHNSON *et al.*, 2002), apesar de nem todos os isolados produzirem esse metabólito (JOHNSON *et al.*, 2002).

Tem-se verificado que a maioria dos trabalhos que envolvem estudos de segurança de fungos entomopatogênicos para vertebrados restringem-se ao ambiente aquático, notadamente embriões do peixe *Menidia beryllina* (GENTHNER; MIDDAGH, 1992; 1995; MIDDAGH; GENTHNER, 1994; GENTHNER; MIDDAGH; FOSS, 1995). Esses autores relatam vários efeitos adversos causados por *B. bassiana* e *M. anisopliae*, como ruptura do córion, anomalias vertebrais e morte dos embriões. Alves e colaboradores (2008) verificaram que *M. anisopliae* esteve presente e viável tanto nas brânquias quanto estômago de juvenis de lambari (*Astynax scabripinis*) (Pisces: Characidae). Entretanto, não causou quaisquer alterações comportamentais ou mortalidade dos mesmos, mostrando-se, assim, seguro para a espécie. Outros autores ainda relatam a infecção de *B. bassiana* sobre o crocodilo americano *Alligator mississippiensis* (JONSSON; GENTHNER, 1997). O mesmo fungo causou micose pulmonar em um quelônio de hábito terrestre (KURU, 1932 apud IGNOFFO, 1973; MACLEOD, 1954 apud IGNOFFO, 1973).

Em se tratando de aves, Althouse (1997 apud JOHNSON *et al.*, 2002), estudando *Falco sparverius*, uma espécie de Falconidae norte-americana que ingeriu *B. bassiana*, não notou alteração comportamental ou lesão patológica aparente. Além disso, Hartmann e Wasti (1980 apud JOHNSON *et al.*, 2002), encontraram conídios viáveis do mesmo fungo em fezes de aves. Johnson e colaboradores (2002), estudando faisões na América do Norte alimentados com gafanhotos infectados com *B. bassiana* e *M. anisopliae*, relatam que há poucas indicações de que estas aves sejam susceptíveis a agentes entomopatogênicos. Em seu experimento não houve redução de peso dos indivíduos tratados, nem lesões nos tecidos dos mesmos, mas acreditam que estudos adicionais deveriam ser realizados com outras aves para uma melhor avaliação. Em outro experimento, não se observou a presença

de *Metarhizium flavoridae* nas fezes de faisões que receberam conídios do fungo em sua alimentação (SMITS; JOHNSON; LOMER, 1999). Costa (2007), que em seu estudo administrou *B. bassiana* oralmente para *Gallus domesticus* L., encontrou conídios viáveis do fungo nas fezes das aves testadas, mas as mesmas não apresentaram lesões externas, redução de peso, alteração de comportamento ou dano tecidual, demonstrando que o fungo é seguro para este organismo não-alvo.

Contribuindo com os autores acima, observações de campo realizadas pelo Instituto LUBILOSA (Lutte Biologique contre les Locusts et les Sauteriaux) indicam que as taxas de predação de gafanhotos infectados por fungo podem ser maiores que de insetos saudáveis da mesma espécie. Além disso, pássaros jovens podem estar em risco ainda maior se estes tiverem sua alimentação baseada em insetos com a mobilidade comprometida, devido ao fato de serem mais fáceis de capturar. Pássaros imaturos no ninho também podem estar expostos quando pássaros parentais coletam insetos infectados para alimentar sua prole (LOMER *et al.*, 2001).

Com relação a mamíferos, ratos e coelhos, foram expostos em laboratório à *Lagenidium giganteum*, fungo parasita de larvas de mosquitos, verificando sua segurança para estes organismos não-alvo, viabilizando seu uso no controle destes vetores (SIEGEL; SHADDUCK, 1987; KERWIN; DRITZ; WASHINO, 1990).

Apesar de fungos entomopatogênicos aparentemente não crescerem à temperatura do corpo de mamíferos, há relatos sobre a morte de ratos alimentados com alta concentração de esporos de *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Porém, não se observaram danos quando os animais foram submetidos à injeção de conídios dos mesmos fungos (SCHAERFFENBERG, 1968 apud IGNOFFO, 1973).

Laird, Lacey e Davidson (1990) relatam que ratos expostos a *B. bassiana* por meio de injeção de conídios não tiveram nenhuma lesão pulmonar. Em contraste, ratos e cobaias expostos ao microrganismo por inalação mostraram sintomas de infecção. A variação nos resultados pode ser explicada mais pela natureza particular das preparações que pelos fungos propriamente ditos. Muir e colaboradores (1998) descreveram um caso de rinite em um gato doméstico na Austrália, diagnosticado como tendo sido causada por *M. anisopliae*.

Burges (1981) cita que houve diversos relatos de reações alérgicas moderadas a severas de cientistas trabalhando com *B. bassiana*. Na maioria dos casos, os sintomas eram cansaço ou fraqueza, e estes desapareceram em um período relativamente curto. Há, ainda, relatos na literatura sobre a infecção de *B. bassiana* em uma mulher imunocomprometida de 38 anos de idade, com fígado e baço afetados pelo fungo (HENKE *et al.*, 2002). Com relação a *M. anisopliae*, uma bibliotecária americana de 36 anos e uma mulher australiana de 52 anos foram diagnosticadas como tendo escleroqueratite (BURGNER *et al.*, 1998; JANI; RINAL-

DI; REINHART, 2001; AMIEL *et al.*, 2008) e lesões cutâneas foram notadas em pacientes imunocomprometidos (MARSCH *et al.*, 2007), causadas pelo fungo. Burgner e colaboradores (1998) descrevem o caso de uma criança imunocomprometida que apresentou lesões cutâneas, no pulmão esquerdo e no cérebro, atribuídas a *M. anisopliae*.

3 CONCLUSÃO

Verifica-se que, para aves, os fungos entomopatogênicos *beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* mostraram-se seguros. Mas com relação à segurança para peixes e mamíferos, as informações contidas na literatura são conflitantes. Espera-se que testes adicionais sejam realizados para que haja informações mais concretas referentes à segurança de organismos utilizados para o controle microbiano de pragas.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. F. V. *et al.* Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Deuteromycetes) para *Astynax scabripinis* (Jenyns, 1842) (Pisces Characidae), organismo não-alvo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 4, p. 471-479, 2008.

ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba, SP: FEALQ, 1998. p. 289-371.

AMIEL, H. *et al.* Atypical fungal sclerokeratitis. **Cornea**, v. 27, n. 3, p. 382-383, 2008.

BACILIERI, S. *et al.* Controle Biológico de insetos e ácaros. [S. l.]: Instituto Biológico, jul. 2006. **Boletim Técnico**, v. 15.

BOBROWSKI, V. L. *et al.* Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 843-850, set./out. 2003.

BURGES, H. D. Safety, Safety Testing and Quality Control of Microbial Pesticides. In: BURGES, H. D. **Microbial control of pests and plant diseases**.

London: Academic Press Inc., 1981. p. 738-768.

BURGNER, D. *et al.* Disseminated Invasive Infection Due to *Metarhizium anisopliae* in an Immunocompromised Child. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 4, p. 1146-1150, 1998.

CASTRILLO, L. A.; ROBERTS, D. W.; VANDENBERG, J. D. The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 46-56, 2005.

COSTA, J. H. B. **Avaliação da segurança do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. PARA *Gallus domesticus* L.** 65p. 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. [S. l.]: Unioeste, 2007.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 22, p. 18-21, set./out. 2001.

FARIA, M. R. *et al.* Effect of two dosages of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* against *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1531-1539, 2002.

FENILI, R. *et al.* *Deladenus siricidicola*, Bedding (Neotylenchidae) parasitism evaluation in adult *Sirex noctilio*, Fabricius, 1973 (Hymenoptera: siricidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 4, p. 683-687, 2000.

GENTHNER, F. J.; MIDDAUGH, D. P. Effects of *Beauveria bassiana* on embryos of the inland silverside fish (*Menidia beryllina*). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, p. 2840-2845, 1992.

GENTHNER, F. J.; MIDDAUGH, D. P. Nontarget testing of an insect control fungus: effects of *Metarhizium anisopliae* on developing embryos of the inland silverside fish *Menidia beryllina*. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 22, p. 163-171, 1995.

GENTHNER, F. J.; MIDDAUGH, D. P.; FOSS, S. S. Validation of embryo test for determining effects of fungal pest control agents on nontarget aquatic animals. **Archives of Environmental Contamination & Toxicology**, v. 29, p. 540-544, 1995.

HENKE, M. O. *et al.* Human deep tissue infection with an entomopathogenic *Beauveria* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 7, p. 2698-2702, 2002.

IEDE, E. T. *et al.* Situação atual do Programa de Manejo Integrado de *Sirex* nocitilio no Brasil. In: SIMPÓSIO DO CONE SUL SOBRE MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS DE *PINUS*, 1, 2000. **Anais...** Série Técnica IPEF, v. 13, n. 323, p. 11-20, mar. 2000.

IGNOFFO, C. M. Effects of entomopathogens on vertebrates. **Annals New York Academy of Science**, v. 217, p. 141-164, 1973.

JOHNSON, D. L. *et al.* Assessment of health and growth of ring-necked pheasants following consumption of infected insects or conidia of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* and *Beauveria bassiana*, from Madagascar and North America. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 65, p. 2145-2162, 2002.

JONSSON, C. M.; GENTHNER, F. J. **Avaliação do potencial de patogenicidade e toxicidade do fungo entomopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* isolado de *Orthzia* em duas espécies de crustáceo.** Jaguariúna, SP: Embrapa, 1997. Boletim de pesquisa, 1.

JONSSON, C. M.; MAIA, A. H. **Protocolo de avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas.** III. Testes em organismos não-alvo do ambiente aquático: organismos zooplancônicos, organismos fitoplancônicos e vertebrados. Jaguariúna, SP: Embrapa, 1999.

KERWIN, J. L.; DRITZ, D. A.; WASHINO, R. K. Nonmammalian safety tests for *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales), **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 2, p. 374-376, 1990.

JANI, B. R.; RINALDI M. G.; REINHART W. J. An unusual case of fungal keratitis: *Metarrhizium anisopliae*. **Cornea**, v. 20, n. 7, p. 765-768, 2001.

LACEY, L. A. *et al.* Insect Pathogens as Biological Control Agents: do they have a future? **Biological Control**, v. 21, p. 230-248, 2001.

LAIRD, M.; LACEY, L. A.; DAVIDSON, E. W. **Safety of microbial insecticides**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990.

LOMER, C. J. *et al.* Biological control of locusts and grasshoppers. **Annual Review of Entomology**, v. 46, p. 667-702, 2001.

LORD, J. C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond. The path of microbial control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 19-29, 2005.

MARSCH, R. A. *et al.* Cutaneous Infection with *Metarhizium Anisopliae* in a Patient with Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia and Immune Deficiency. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 27, n. 3, p. 283-284, 2008.

MIDDAUGH, D. P.; GENTHNER, F. J. Infectivity and teratogenicity of *Beauveria bassiana* in *Menidia beryllina* embryos. **Archives of Environmental Contamination & Toxicology**, v. 27, p. 95-102, 1994.

MUIR, D. *et al.* Invasive hyphomycotic rhinitis in a cat due to *Metarhizium anisopliae*, **Medical Mycology**, n. 36, v. 1, p. 51-54, 1998.

MURO, M. A.; METHA, S.; MOORE, D. The use of amplified fragment length polymorphism for molecular analysis of *Beauveria bassiana* isolates from Kenya and other countries, and their correlation with host and geographical origin, **FEMS Microbiology Letters**, v. 229, p. 249-257, nov. 2003.

PRAÇA, L. B. *et al.* Estirpes de Bacillus thuringiensis efetivas contra insetos das ordens Lepidóptera, Coleóptera e Díptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 1, p. 11-16, jan. 2004.

SAUNDERS, P. T. Use and abuse of the Precautionary Principle. **Institute of Science in Society**. 13 jul. 2000. Disponível em: <<http://www.ratical.org/globalize/MaeWanHo/PrecautionP.pdf>>. Acesso em: 21 jul. 2005.

SHI, W. B; FENG, M. G. Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system. **Biologica Control**, v. 30, p. 165-173, 2004.

SIEGEL, J. P.; SHADDUCK, J. A. Safety of the Entomopathogenic fungus *La-*

genidium giganteum (Oomycetes: Lagenidiales) to mammals. **Journal of Economic Entomology**, v. 80, n. 5, p. 994-997, 1987.

SMITS, J. E.; JOHNSON, D. L.; LOMER, C. Pathological and physiological responses of ring-necked pheasant chicks following dietary exposure to the fungus *Metarhizium flavoridae*, a biocontrol agent for locusts in Africa. **Journal of wildlife diseases**, v. 35, n. 2, p. 194-203, 1999.

TAMAI, M. A. *et al.* Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 69, n. 3, p. 77-84, jul./set. 2002.

Recebido em: 30 Junho 2009

Aceito em: 06 Julho 2009