

**SUSCETIBILIDADE DE *Tribolium castaneum* ADULTOS HERBST.,
1797 (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) PARASITADOS POR
Gregarina cuneata STEIN, 1848 (APICOMPLEXA:
GREGARINIDAE) AO ORGANOFOSFORADO PIRIMIFÓS-METIL**

Giovana Emanuele Derio de Lemos (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Adriana A.
Sinópolis Gigliolli, Ana Silvia Lapenta (Orientador), e-mail:
aslapenta@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde/Maringá, PR.

Genética e genética animal.

Palavras-chave: Pragas de grãos armazenados, manejo integrado de pragas, isoenzimas.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo determinar a susceptibilidade de *Tribolium castaneum* adultos parasitados pelo protozoário *Gregarina cuneata* ao organofosforado Pirimifós-Metil. Para tanto, adultos de *T. castaneum* parasitados (Lab-G) e não parasitados (Lab-S) foram expostos a diferentes concentrações de Pirimifós-Metil. Após 24h de exposição ao inseticida, avaliou-se a mortalidade, e insetos sobreviventes foram utilizados para análise de esterases e proteínas totais. Os resultados indicaram que, adultos Lab-G foram mais sensíveis ao organofosforado. Devido a resistência desses insetos aos inseticidas, o emprego de *G. cuneata* no manejo integrado de pragas é uma estratégia importante para o controle desta espécie. Diferenças no padrão de esterases e proteínas totais não estão relacionadas com esta maior susceptibilidade de insetos parasitados por *G. cuneata*.

Introdução

O controle biológico de insetos pragas é uma importante alternativa para reduzir a utilização de inseticidas químicos. *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) é uma importante espécie encontrada em silos de armazenamento que causa perdas quantitativas e qualitativas na produção de grãos e alimentos já processados. Esta espécie, pode ser parasitada pelo protozoário *Gregarina cuneata* (Apicomplexa: Gregarinidae), um parasita de invertebrados, muito comum em artrópodes. Esses protozoários podem infectar o corpo gorduroso, túbulos de Malpighi, órgãos reprodutivos, hemolinfa e sistema digestório de várias espécies de insetos

(Schreurs e Janovy, 2008), causando danos morfológicos ao tecido infectado (Gigliolli et al., 2015).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a suscetibilidade de *T. castaneum* adultos parasitados por *G. cuneata* ao organofosforado pirimifós-metil, uma vez que, o emprego deste controlador biológico no manejo integrado desta praga, pode ser uma importante estratégia para redução das infestações em produtos armazenados e dos prejuízos econômicos causados aos produtores.

Materiais e métodos

Insetos

Foram utilizados insetos adultos de uma linhagem de *T. castaneum* parasitada por *Gregarina cuneata* (Lab-G) e de uma linhagem não parasitada (Lab-S). As linhagens foram mantidas em frascos de vidro contendo farinha de trigo como dieta alimentar em estufa a temperatura aproximada de 30°C.

Bioensaios

Para os bioensaios, insetos adultos (sem idade ou sexo definido) das linhagens Lab-G e Lab-S foram expostos a diferentes concentrações de pirimifós-metil (tabela 1). Para tanto, um papel filtro foi adicionado em uma placa de petri e 1 mL de cada concentração aplicado sobre ele. Em seguida, foram adicionados 15 insetos em cada placa. Como controle, insetos de ambas as linhagens foram expostos apenas ao papel embebido com água destilada. Apenas para as concentrações de $1,5 \times 10^{-4}$ g/mL, 2×10^{-4} g/mL e $2,5 \times 10^{-4}$ g/mL de pirimifós-metil foram realizadas replicatas. Os insetos permaneceram expostos ao inseticida por um período de 24h e, em seguida, a mortalidade foi avaliada e os sobreviventes utilizados para análise de esterases e proteínas totais.

Análise das esterases

Insetos adultos de Lab-G e Lab-S não expostos ao inseticida e sobreviventes ao tratamento com pirimifós-metil, foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE). Foi utilizado gel a 12% submetido a 200V por 3,5 h. Para a identificação das esterases, foi utilizado o Fast Blue RR Salt como corante e α -naftil acetato e o β -naftil acetato como substratos.

Análise de proteínas totais (SDS-PAGE)

Insetos adultos de Lab-G e Lab-S, não expostos ao inseticida e sobreviventes ao tratamento com pirimifós-metil. Foi utilizado gel de poliacrilamida 10%. A eletroforese foi realizada utilizando 100V por 5h30min. A visualização dos peptídeos foi feita por impregnação com AgNO_3 .

Resultados e Discussão

A suscetibilidade de *T. castaneum* parasitados (Lab-G) e não parasitados com *G. cuneata* (Lab-S) ao pirimifós-metil foi avaliada neste estudo. Os bioensaios nas concentrações, $1,5 \times 10^{-4}$, 2×10^{-4} e $2,5 \times 10^{-4}$ g/mL resultaram na mortalidade de 36,6, 26,6 e 83,3% dos insetos da Lab-G, respectivamente (tabela 1). Apesar destes dados não permitirem ainda uma análise estatística, eles mostraram uma maior suscetibilidade de insetos parasitados com *G. cuneata* ao inseticida pirimifós-metil, assim como observado também em larvas de *T. castaneum* expostas a esse organofosforado (Sanvezzo et al. 2018). Essa maior susceptibilidade pode estar associada ao comprometimento do sistema digestório do inseto parasitado e, conseqüentemente alterações fisiológicas causadas pelo parasita (Gigliolli et al., 2015; Gigliolli; Julio: Conte, 2016).

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de insetos adultos de *Tribolium castaneum* expostos ao organofosforado Pirimifós-Metil. Lb G = linhagem parasitada por *Gregarina cuneata* (Lab-G) e Lab S = linhagem controle.

Concentrações do inseticida	1×10^{-4} g/mL,	$1,25 \times 10^{-4}$ g/mL	$1,5 \times 10^{-4}$ g/mL	2×10^{-4} g/mL	$2,5 \times 10^{-4}$ g/mL
Lab G	0	0	36,6	26,7	83,3
Controle Lab G	0	0	0	0	0
Lab S	0	0	6,7	26,7	30
Controle Lab S	0	0	0	0	0

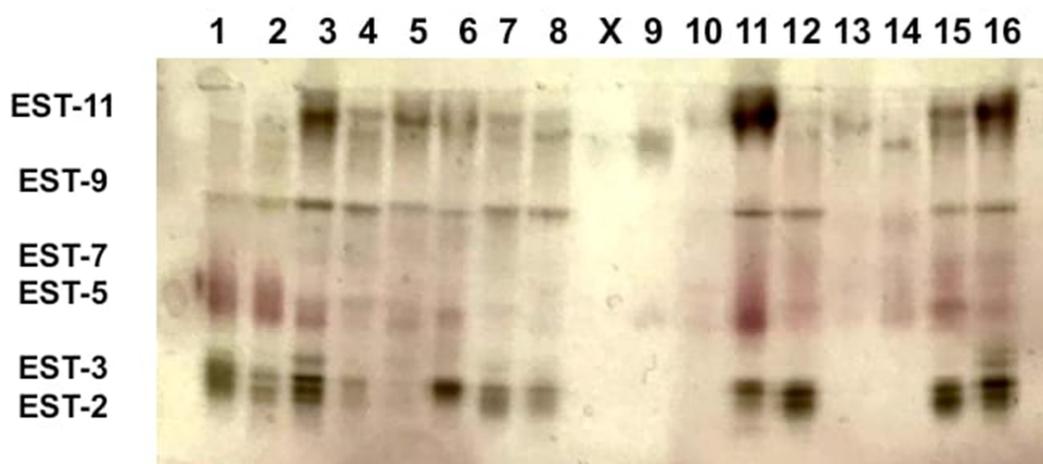


Figura 1. Padrões de esterases em insetos adultos de *Tribolium castaneum* expostos ao pirimifós-metil. 1e 2. = Lab G pirimifos metil 1×10^{-4} g/mL, 3 e 4= Lab G controle, 5 e 6=. Lab S pirimifos -metil 1×10^{-4} g/mL, 7e 8= Lab S controle, 9 e 10=. Lab G pirimifós-metil $2,5 \times 10^{-4}$ g/mL, 11 e 12=Lab G controle, 13 e 14= Lab S pirimifos metil $2,5 \times 10^{-4}$ g/mL, 15 e 16=. Lab S controle.

A análise das esterases indicou que em ambas as linhagens, as EST-2, 3 e 5 apresentaram inibição total na concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ g/mL. Já a EST-7, foi inibida parcialmente em Lab-S e totalmente em LAB-G (figura 1) assim como observado por Gigliolli et al. (2015).

Conclusões

Podemos concluir neste estudo que, *T. castaneum* parasitados com o protozoário *G. cuneata* são mais susceptíveis ao organofosforado pirimifosmetil, do que a linhagem não parasitada. Diferenças no padrão de esterases e proteínas totais não estão relacionadas com esta maior suscetibilidade.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação Araucária pelo financiamento do projeto, a bolsa recebida e ao apoio ao desenvolvimento científico no Paraná.

Referências

GIGLIOLLI, A.A.S., JULIO, A.H.F., CONTE, H. **The life cycle of *Gregarina cuneata* in the midgut of *Tribolium castaneum* and the effects of parasitism on the development of insects**. Bulletin of Entomological Research, v. 106, p. 258-267, 2016.

GIGLIOLLI, A.A.S., LAPENTA, A.S., RUVOU-TAKASUSUKI, M.C.C., ABRAHÃO, J. & CONTE, H. **Morpho-functional characterization and esterase patterns of the midgut of *T. castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae) parasitized by *G. cuneata* (Apicomplexa: Eugregarinidae)**. Micron, v. 76, p. 68–78, 2015.

SCHREURS, J., JANOVY, J.J.R. **Gregarines on a diet: the effects of host starvation on *Gregarina confusa* Janovy et al., 2007 (Apicomplexa: Eugregarinida) in *Tribolium destructor* Uyttenboogaart, 1933 (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae**. J. Parasitol, v. 94, p. 567–570, 2008.

SANVEZZO, G. H. B., GIGLIOLLI, A.A.S., MOREIRA, D. R., CHAGAS, F., LAPENTA, A.S. **Susceptibilidade de *Tribolium castaneum* Herbes., 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae) não parasitados e parasitados por *Gregarina cuneata* Stein, 1848 (Apicomplexa: Gregarinidae) ao organofosforados pirimifós-metil**. II Simpósio de biotecnologia ambiental e IV encontro de graduandos e pós graduandos em biotecnologia - A biotecnologia e os desafios atuais, p. 11, 2018.