Identificação e mapeamento de mutações associadas à resistência a inseticidas organofosforados em populações da mosca da bicheira (*Cochliomyia hominivorax*) na América do Sul

Julia F. C. Costa*, Luana W. Bergamo, Rogério M. Gonçalves, Ana Maria L. Azeredo-Espin.

Resumo

Cochliomyia hominivorax (Diptera: Calliphoridae), conhecida como mosca da bicheira, é a única espécie de mosca ectoparasita obrigatória de vertebrados vivos presente em toda a América do Sul, cuja principal forma de controle são os inseticidas organofosforados. O uso indiscriminado de inseticidas contendo esses princípios ativos pode ter levado à seleção de indivíduos que apresentam duas mutações ligadas à resistência a esse composto. Nesse projeto, a frequência e distribuição geográfica dessas mutações foram investigadas, e foram encontradas baixas frequências de ambas nas populações do Brasil, enquanto no Uruguai as frequências foram altas, tendo implicações para o controle dessa espécie.

Palavras-chave: Mosca-da-bicheira, organofosforado, esterase

Introdução

Cochliomyia hominivorax, popularmente conhecida como mosca da bicheira, é uma espécie ectoparasita obrigatória da família Calliphoridae (Diptera: Brachycera), cujas larvas se alimentam de tecidos vivos de hospedeiros vertebrados, acarretando em grande prejuízo econômico para o setor agropecuário. Nos países da América do Sul, o principal meio de controle dessa praga tem sido realizado com o uso de inseticidas, principalmente os que apresentam compostos organofosforados.

O uso indiscriminado desses inseticidas pode ter levado à seleção de indivíduos com duas mutações ligadas à resistência nessa espécie, identificadas no gene da carboxilesterase E3 (*ChaE7*) através de análises moleculares na mosca *Lucilia cuprina* e, por homologia, na mosca da bicheira.

Diante desse cenário, esse projeto teve como objetivo investigar a frequência e distribuição geográfica das duas mutações associadas à resistência em populações da espécie na América do Sul.

Resultados e Discussão

Ao todo, foram analisadas 145 amostras de *C. hominivorax* coletadas em cinco localidades no Brasil e em uma localidade no Uruguai. O DNA das larvas foi extraído e o gene (*ChaE7*) amplificado através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), posteriormente submetido ao sequenciamento para análise das 2 mutações ligadas à resistência, G137D e W251L, localizadas nos éxons 3 e 4, respectivamente.

As amostras foram reunidas em 7 grupos: (1,2) Uruguai (2 populações coletadas em anos consecutivos para análise temporal), (3) Mato Grosso do Sul, (4) Pará, (5) Amazonas, (6) Roraima e (7) Maranhão. Foi feito o alinhamento das sequências obtidas e esse dataset foi usado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg no software Arlequin, onde foram encontrados valores de P de 0.03509; 0.00118; 1.00000; 0.00000; 0.04410; 0.06643 e 0.00165, para 1 a 7, respectivamente, para o locus 1 e 0.08312; 0.00118; 1.00000; 0.00031; 1.00000; 0.06572 e 0.01138, para 1 a 7, respectivamente, para o locus 2. Observando esses valores, pode-se dizer que há

um desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg, como esperado.

Além disso, foi feita uma análise comparativa temporal entre as amostras do Uruguai, coletadas em 2015 e 2016. Foram encontradas frequências altas das mutações G137D e W251L nas amostras de ambos os anos, porém a frequência da mutação G137D foi maior em 2015, presente em 20 das 28 amostras, enquanto a mutação W251L prevaleceu em 2016, presente em 25 das 27 amostras.

No Brasil, ao contrário, as frequências de ambas as mutações estavam baixas. No Pará, das 44 amostras analisadas, 15 apresentavam a mutação G137D e 17 apresentavam a mutação W251L. Esse mesmo padrão se repetiu no Amazonas, com G137D presente em 5 das 12 amostras e W251L presente em 1, e nas regiões de Roraima e Maranhão, totalizando 20 amostras, não foi encontrado nenhum indivíduo com G137D, ao passo que metade dos indivíduos apresentavam W251L. A exceção se deu na região do Mato Grosso do Sul, onde foi encontrada a mutação G137D em 9 dos 14 indivíduos analisados e a mutação W251L em 10 deles. Em menor frequência, considerando todas as amostras, 19% dos indivíduos apresentavam ambas as mutações, porém em alelos diferentes.

Conclusões

As frequências altas das mutações G137D e W251L nas populações do Uruguai sustentam a hipótese de que o uso indiscriminado de inseticidas tem levado à seleção de indivíduos mutantes capazes de anular seu efeito. Por outro lado, é interessante notar que na maior parte das regiões brasileiras amostradas as frequências se encontram baixas, e este resultado poderá auxiliar no estabelecimento de técnicas de manejo integrado para o controle da espécie no Brasil.

Campbell, P. M.; Trott, J. F.; Claudianos, C.; Smyth, K.; Russell, R. J.; Oakeshott, J. G. 1997. Biochemistry of Esterases Associated with Organophosphate Resistance in *Luciliacuprina* with Comparisons to Putative orthologues in Other Diptera. *Biochemical Genetics*. 35, 17-40.
Carvalho, R. A.; Torres, T. T.; Azeredo-Espin, A. M. L. 2006. A survey of mutations in the *Cochliomyiahominivorax* (Diptera: Calliphoridae) esterase E3 gene associated with organophosphate resistance and the molecular identification of mutant alleles.