

NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS INFECTAM ADULTOS DE CIGARRINHA-DAS-PASTAGENS?

Elder Simões de Paula Batista¹; Alexander Machado Auad²

¹ Aluno de Pós-graduação (doutorado) em Entomologia Agrícola, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal, SP. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14.884-900, Jaboticabal, SP - Brasil; e-mail: elderspb@gmail.com; ² Pesquisador Embrapa Gado de Leite, Laboratório de Entomologia. Rua Eugênio do Nascimento, 610, Dom Bosco, 36038-330, Juiz de Fora, MG - Brasil; e-mail: amauad@cnpgl.embrapa.br

Resumo - Nematoides entomopatogênicos (NEPs) são potenciais controladores biológicos das ninfas de cigarrinhas-das-pastagens. Com o objetivo de avaliar a eficiência dos NEPs contra adultos de *Mahanarva spectabilis*, desenvolveu-se experimento sob condições de laboratório. As unidades experimentais (UEs) consistiram de gaiolas contendo nove adultos da cigarrinha (seis machos e três fêmeas) e uma planta de capim elefante em copo descartável. O assoalho da gaiola e base da planta foram cobertos com gaze onde foi aplicada suspensão aquosa de 8000 JI/mL de *Steinernema riobravis* (tratamento). Compararam-se a mortalidade, número de ovos recuperados, e a frequência de indivíduos que permaneciam sobre o substrato contaminado pelos patógenos, entre UEs com nematoides (tratadas) e livres de nematoides (testemunha). Não foi observada morte de indivíduos adultos de cigarrinha, tampouco se observou redução no número de ovos entre as UEs tratadas (720) e testemunhas (726). Os adultos permaneceram com maior frequência sobre o substrato das UEs tratadas (média de 1,58 indivíduos por unidade) do que sobre as UEs testemunha (média de 1,35 indivíduos por unidade). Não foi caracterizada vulnerabilidade desta fase de desenvolvimento do inseto a esse patógeno, não devendo, portanto, ser aplicado visando o controle dessa fase.

Palavras chave: Cercopidae, controle microbiano, *Heterorhabditis*, *Steinernema*.

Introdução

Nematoides entomopatogênicos (NEPs) da Ordem Rhabditida, famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae têm sido estudados e utilizados como controladores biológicos de diversas pragas agrícolas que vivem no solo ou possuem hábitos crípticos (Grewal et al., 2001; Georgis et al., 2006). Isso ocorre devido à capacidade de buscar o hospedeiro através de pistas químicas que estes liberam naturalmente no ambiente, como gás carbônico (Kaya & Gaugler, 1993); e à crescente demanda de implantação de programas de manejo integrado de pragas, visando diminuir o uso de produtos químicos fitossanitários, já que podem ser utilizados conjuntamente com esses produtos (Koppenhöfer et al., 2002, Negrisoli Jr. et al., 2008, Reis-Menini et al. 2008). As pastagens destinadas a alimentação bovina, tem como praga a cigarrinha-das-pastagens, *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) que durante a fase adulta se alimenta da seiva das folhas causando o amarelecimento destas, com conseqüente diminuição da capacidade fotossintética, prejudicando a manutenção deste cultivo. O ataque destes insetos ocorre nos meses quentes e úmidos do verão, momento em que as pastagens se recuperam da seca dos meses anteriores (Auad et al., 2007).

A eficiência de NEPs é conhecida contra diversas pragas agrícolas (Grewal et al., 2001). Em relação à família Cercopidae esses patógenos foram aplicados sobre ninfas de *M. timbriolata*, provocando mortalidade de 100% em laboratório e 70% em campo (Leite et al., 2005) e também sobre ninfas de *M. spectabilis*, provocando até 71% de mortalidade em casa de vegetação quando aplicados os nematoides *S. riobravis* e *Heterorhabditis amazonensis* RSC1 (Batista & Auad, 2010). Em relação aos adultos de insetos sabe-se que na maioria dos casos são menos suscetíveis que as larvas à ação de NEPs (Alves et al., 2005; Rodrigueiro et al., 2008). Adultos de cigarrinhas-das-pastagens realizam postura predominantemente na superfície do solo próximo à planta hospedeira; de forma endofítica (ovos colocados no interior do tecido da planta) ou ainda de forma exofítica (sobre a planta) (Valério & Nakano, 1988). É possível que os machos que ocasionalmente caminham sobre o solo ou as fêmeas no momento da oviposição sobre o solo sejam infectadas pelos NEPs, ou ainda que a presença dos nematoides atrapalhem esse tipo de oviposição, já que

a fase de vida livre (juvenis infectantes) desses patógenos explora a superfície do solo (Kaya & Gaugler 1993).

Em função da necessidade de conhecer a eficiência de nematoides entomopatogênicos contra as diferentes fases de desenvolvimento das cigarrinhas-das-pastagens, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência desses patógenos contra os adultos dessa praga.

Material e Métodos

Os nematoides utilizados foram cedidos pelo Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, adicionados à criação mantida no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite e multiplicados de acordo com metodologia proposta por Kaya & Stock (1997) e White (1927), utilizando larvas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) como hospedeiro.

Foram utilizados adultos de *M. spectabilis* oriundos da criação mantida pelo Laboratório de Entomologia da Embrapa Gado de Leite em casa-de-vegetação, onde os indivíduos se desenvolvem sobre plantas de capim-elefante e braquiária.

A unidade experimental (UE) consistiu de uma gaiola de acrílico com dimensões de 30x55x30 cm (largura, altura, profundidade) com uma planta de capim-elefante, *Pennisetum purpureum*, (com cerca de 25 cm de altura) mantida em copo descartável de 500 mL. O assoalho da gaiola e base da planta foram cobertos com seis camadas de gaze hidrófila (composta de algodão, não estéril, nove fios) umedecida que serviu como substrato de oviposição. Nessa gaiola foram adicionados nove adultos da cigarrinha, sendo seis fêmeas e três machos.

Após a adição dos adultos foi aplicado o nematoide entomopatogênico *S. riobravis* sobre as gazes sob suspensão aquosa de 8000 JI/mL num total de 20mL, com auxílio de borrifador. Unidades experimentais (gaiolas) testemunha também foram montadas com a mesma configuração, exceto pela aplicação de NEPs. Esse procedimento foi repetido seis vezes para o grupo tratado e para a testemunha. O experimento foi conduzido à temperatura de 25°±3C e umidade relativa de 70±15%.

Diariamente os adultos mortos foram recolhidos e observados ao microscópio estereoscópico para verificação da presença de nematoides no seu interior que, quando constada, atribuíam-se a morte do indivíduo a esse patógeno. Após três dias as gazes foram recolhidas e os ovos recuperados de cada uma delas foram contabilizados.

O número absoluto de adultos mortos e ovos recuperados foram comparados entre os grupos tratado e testemunha.

Adicionalmente foi contabilizada a frequência de indivíduos que permaneciam sobre a gaze. Para tal foram realizadas filmagens de duas das UEs tratadas e duas das não-tratadas, sendo duas filmagens por dia (realizadas às 12:00 e 18:00 horas), com duração de uma hora, durante três dias, tempo de desenvolvimento do experimento. O número de adultos sobre o substrato foi obtido através da amostragem tipo *scan* com intervalos de cinco minutos, totalizando 144 amostras por tratamento. Comparou-se os dados das UEs tratadas e não-tratadas e a frequência de adultos que permaneciam sobre a gaze e na parte aérea numa mesma unidade experimental, através do teste t de Bonferroni.

Resultados e Discussão

Não foi observada morte de adultos da cigarrinha das pastagens provocada por *Steinernema riobravis*, tampouco houve diminuição da oviposição em função do tratamento (Tabela 1). Foram observados alguns indivíduos mortos com nematoides sobre o corpo, mas não dentro da hemolinfa, o que caracterizaria com segurança a morte provocada por esse patógeno. Pode-se inferir, portanto, que os nematoides reconheceram os adultos como hospedeiros potenciais, mas não foram capazes de infectá-los. Em relação às fêmeas da cigarrinha, não houve alteração do comportamento de oviposição possivelmente pelo fato de serem invulneráveis à ação dos nematoides, conseqüentemente não houve redução do número absoluto de ovos recuperados, também devido a estes não serem hospedeiros passíveis de infecção por NEPs (Batista et al., 2008).

Observou-se que a média de adultos que exploraram o substrato no ambiente tratado foi de 1,58, o que configurou diferença estatística da média daqueles com o mesmo comportamento no ambiente não tratado (1,35) ($p=0,0142$). Isso evidencia que a presença dos nematoides no substrato não influenciou no número de indivíduos adultos que explora esse ambiente e que

mesmo estando em contato com os adultos de cigarrinha, os nematoides não foram capazes de infectá-los.

Ocorreu diferença na frequência de adultos que permaneciam sobre o substrato e os que não o faziam em ambos os grupos, sendo de 1,58 e 7,42 ($p < 0,0001$), no grupo tratado e 1,35 e 7,65 ($p < 0,0001$) no grupo não-tratado. A baixa frequência de adultos sobre o substrato em ambas situações (no grupo tratado e não tratado) confirma as observações realizadas por Valério & Nakano (1988) para a cigarrinha *Zulia entreriana*, que constataram uma maior atividade de adultos de cigarrinha no terço superior das plantas hospedeiras. Esse dado confirma que a baixa frequência no substrato não ocorre devido à presença de patógenos.

Tabela 1. Número de ovos de *Mahanarva spectabilis* recuperados das unidades experimentais (gaiolas) tratadas (com aplicação de NEPs) e testemunha (sem aplicação de NEPs).

Repetições	Gaiolas tratadas	Gaiolas testemunha
1	234	113
2	194	143
3	151	134
4	38	260
5	30	0
6	73	76
Média	120 a	121 a
Total	720	726

Valores seguidos de letras distintas maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Outra razão que possivelmente explica a ausência de infecção dos adultos pelos NEPs é que, como observado por Alves et al. (2005) e Rodrigueiro et al. (2008) estudando nematoides contra o cascudinho, *Alphitobius diaperinus*, a mortalidade de adultos foi menor do que de larvas, talvez pelo fato de os primeiros apresentarem tegumento mais quitinizado, resistindo melhor à penetração dos nematoides, que nesse caso ocorreria exclusivamente pelas aberturas naturais; além da habilidade de realizar comportamentos de auto-limpeza, não exibido pelas larvas, percebendo a presença dos nematoides no corpo e diminuindo assim a incidência de infecções por esses patógenos.

Embora tenham constatado que NEPs são patogênicos a adultos do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis*, e adultos das pragas de grãos armazenados, *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) e *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) Cabanillas (2003) e Trdan et al. (2006), respectivamente, observaram também que a concentração letal de nematoides para o controle destes insetos nessa fase é maior que durante a fase imatura, e quando o parâmetro analisado foi a mortalidade de indivíduos, constatou-se que a fase imatura é mais suscetível que a fase adulta.

A gaze servindo como substrato de locomoção dos nematoides pode ter afetado sua capacidade de infectar os insetos, já que a granulometria do substrato exerce influência nesse processo (Koppenhöfer & Fuzy, 2007). No presente trabalho a gaze configurou substrato com alta granulometria, com lacunas grandes entre as partículas, possivelmente fazendo com que os juvenis infectantes tendessem a se deslocar para camadas mais baixas, dificultando o contato com os hospedeiros. Dessa forma sugere-se o desenvolvimento de estudos em condições de semicampo que simulariam substrato semelhante ao encontrado em campo.

Conclusão

Steinernema riobravis não foi capaz de infectar adultos de *Mahanarva spectabilis*.

Referências

- ALVES, L. F. A.; ROHDE, C.; ALVES, V. S. Patogenicidade de *Steinernema glaseri* e *S. carpocapsae* (Nematoda: Rhabdita) contra o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, p. 139-141, 2005.
- AUAD, A. M.; SIMÕES, A. D.; PEREIRA, A. V.; BRAGA, A. L. F.; SOBRINHO, F. S.; LÉDO, F. J. S.; PAULA-MORAES, S. V.; OLIVEIRA, S. A.; FERREIRA, R. B. Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1077-1081, 2007.
- BATISTA, E. S. P. & AUAD, A. M. Application methods of entomopathogenic nematodes for control of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 20, n. 10, p. 1079-1085, 2010.
- BATISTA, E. S. P.; AUAD, A. M.; MONTEIRO, C. M. O.; SOUZA, L. S.; AMARAL, R. L. Capacidade de penetração de nematoides entomopatogênicos em ovos da cigarrinha *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). Anais do XXII Congresso Brasileiro de Entomologia. Uberlândia, 2008.
- CABANILLAS, H. E. Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 82, p. 188-197, 2003.
- GEORGIS, R.; KOPPENHOFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; VAN TOL, R. W. H. M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, v. 38, p. 103-123, 2006.
- GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South America. **Neotropical entomology**, v. 30, p. 191-205, 2001.
- KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 181-206, 1993.
- KAYA, H. K.; STOCK, S. P. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L.A. (Ed.). **Manual of techniques in insect pathology**. San Diego, CA, USA, Academic Press, 1997. p.281-324.
- KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonictinoid inseticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 24, p. 90-97, 2002.
- KOPPENHÖFER, A. M., FUZY, E. M. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *S. glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *H. bacteriophora*. **Applied Soil Ecology**, v. 35, p. 128-139, 2007.
- LEITE, L. G., MACHADO, L. A., GOULART, R. M., TAVARES, F. M., BATISTA-FILHO, A. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 785-790, 2005.
- NEGRISOLI Jr., A. S.; BARBOSA, C. R. C.; MOINO Jr., A. Avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) utilizando o protocolo modificado da IOBC/WPRS. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 111-116, 2008.
- REIS-MENINI, C. M. R.; PRATA, M. C. A.; FURLONG, J. & SILVA, E. R. Compatibility between the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) and na acaricide in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 103, 2008.
- RODRIGUEIRO, T. S. C., GINARTE, C. M. A., LEITE, L. G., TAVARES, F. M., GOULART, R. M. & GIOMETTI, F. H. C. Eficiência de *Heterorhabditis indica* IBCB-N05 (Rhabditida: Heterorhabditidae) no controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) sob comedouros de granja avícola. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 279-284, 2008.
- TRDAN, S., VIDRIH, M., VALIC, N. Activity of four entomopathogenic nematodes species against young adults of *Sitophilus granaries* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 113, n. 4, p. 168-173, 2006.
- VALERIO, J. R. & NAKANO, O. Locais de alimentação e distribuição vertical de adultos da cigarrinha *Zulia entreriana* (Berg, 1879) (Homoptera: Cercopidae) em plantas de *Brachiaria decumbens* Stapf. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 17, n. 2, p. 519-529, 1988.
- WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v.66, p.302-303, 1927.