

## **VIABILIDADE DO NEMATÓIDE ENTOMOPATOGÊNICO *Heterorhabditis amazonensis* ISOLADO RSC-5 (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) EXPOSTOS A DIFERENTES CARRAPATICIDAS.**

Caio Márcio de Oliveira Monteiro<sup>1,2</sup>; Elder Simões Batista<sup>1,2</sup>; Aline Pasqualini Faza<sup>2</sup>; Márcia Cristina de Azevedo Prata<sup>2</sup>; Vanessa Andaló<sup>3</sup>; Alcides Moino Junior<sup>3</sup>; John Furlong<sup>2</sup>.

1 - Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Martelos, 36033-330, Juiz de Fora, MG. E-mail – caiosat@gmail.com

2 - Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, Bairro Dom Bosco, 36038-330 Juiz de Fora, MG.

3 - Universidade Federal de Lavras, MG – UFLA.

\* - Estudo desenvolvido com apoio financeiro da CAPES e CNPq.

**Palavras-chave** – Nematóides entomopatogênicos, controle biológico, acaricidas.

### **INTRODUÇÃO**

Nematóides entomopatogênicos (NEP's) pertencem à ordem Rhadditida na qual estão classificadas as famílias em Steinernematidae e Heterorhabditidae. Estes nematóides são importantes agentes no controle biológico, sendo capazes de infectar e matar insetos de diferentes ordens (HAZIR *et al.*, 2003; DOLINSKI, 2006).

Algumas características que os fazem controladores potenciais de pragas são: podem ser produzidos com baixo custo, em insetos hospedeiros ou em meios artificiais; podem ser armazenados, são facilmente aplicados no campo na água de irrigação ou pulverizados; possuem habilidade de buscar o hospedeiro; são compatíveis com diversos pesticidas e são seguros à maioria dos invertebrados e vertebrados (GREWAL *et al.*, 2001; DOLINKI, 2006).

Os juvenis infectantes destes nematóides são tolerantes à exposições a herbicidas, inseticidas e acaricidas, porém esta tolerância varia de acordo com a espécie de nematóide, o tempo de exposição e o princípio ativo utilizado (GREWAL *et al.*, 2001). Além da tolerância trabalhos mostram que o uso de nematóides entomopatogênicos associados a produtos químicos pode apresentar efeito sinérgico no controle da praga alvo (KOPPENHOFER *et al.*, 2002).

Freitas-Ribeiro *et al.*, (2005) e Vasconcelos *et al.*, (2005) demonstraram que diferentes espécies de NEP's são eficientes no controle do carrapato dos bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari, Ixodidae) em condições de laboratório. Reis *et al.* (2008) observaram que a associação entre um acaricida organofosforado e o nematóide *Steinernema glaseri* apresentou eficiência superior quando comparada com a utilização de cada um destes agentes de controle separados. Com isso o presente trabalho teve como objetivo avaliar a compatibilidade entre o nematóide *Heterorhabditis amazonensis* Andaló, Nguyen & Moino-Jr, 2006 (Rhabditida, Heterorhabditidae), isolado RSC-5 com diferentes acaricidas.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi conduzido no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Os nematóides utilizados neste estudo foram cedidos pelo professor Alcides Moino-Jr., da Universidade Federal de Lavras, MG. Estes nematóides foram multiplicados em lagartas do último instar de *Galleria mellonella* L., 1958 (Pyralidae: Lepidoptera) de acordo com Lindegren *et al.* (1993) e Kaya (1990). Os Juvenis infectantes (J1's) coletados foram estocados em garrafas de cultivo celular de 40 mL e acondicionados em câmara climatizada a  $16 \pm 1^\circ\text{C}$  e UR>80 ± 10%.

Para a realização do estudo foram utilizados seis tratamentos cada um composto por um acaricida e um grupo controle. A escolha dos acaricidas foi baseada nos resultados de Furlong *et al.* (2007), de acordo com a maior eficiência dos carrapaticidas considerando diferentes bases químicas. Cada tratamento foi composto por 75.000 J1's em uma suspensão de 20 mL da dose comercial dos seguintes acaricidas: Deltrametrina (Butox P®, Intervet), Amitraz (Triatox®, Coopers), Clorfenvifós (UBC®, Uzinhas Chimicas Brasileiras), Clorfenvifós+Diclorvós (Carbeson®, Leivas Leite), Amitraz+Clorpirifós (Amiphós®, Intervet) e Cipermetrina+Clorpirifós+Citronelal+Butóxido de Piperolina (Cyperclor Plus®, SESPO-Vetbrands). O grupo controle foi formado por 75.000 NEP's e 20 mL de água destilada, e ambos os tratamentos foram mantidos em câmara climatizada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e UR>70%.

**Percentual se sobrevivência:** A avaliação do percentual de sobrevivência de *H. amazonensis* foi realizada 24, 48 e 72h após o início do experimento. Para esta análise de cada tratamento foram coletadas 10 amostras de 10 µL (cada amostra uma repetição), e com auxílio de um microscópio foi observado o número de indivíduos vivos e mortos e a viabilidade foi obtida pela fórmula:

$$\% \text{ viabilidade} = (\text{total de NEP's vivos} / \text{total de NEP's}) \times 100.$$

**Infectividade:** Para esta avaliação foram colocadas em placas de Petri forradas com duas folhas de papel filtro previamente esterilizados, 1mL de água destilada mais 40 µL de solução coletado de cada tratamento. Posteriormente, em cada uma destas placas, devidamente identificadas, foram colocadas 5 lagartas dos últimos instares de *G. mellonella*. As placas contendo as larvas foram vedadas com filtro plástico e acondicionadas em câmara climatizada a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $\text{UR} > 80 \pm 10\%$ . Foram feitas seis repetições por tratamento. Este procedimento foi feito 24, 48 e 72h após o início do experimento e a avaliação dos grupos foi feita 72h após a infecção, para observar a mortalidade das lagartas através da ação dos nematóides e o percentual de infectividade foi calculado pela fórmula:  
**% de infectividade** = (total de lagartas vivas/ total de lagartas) x 100.

#### Análise estatística

O valor referente às médias de cada tratamento foi analisado por ANOVA e Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). No caso de distribuição não normal, os parâmetros foram comparados por teste não paramétricos de Kruskal Wallis e Student Newman Keulls ( $P < 0,05$ ). Os dados adquiridos em porcentagem foram transformados em  $\sqrt{\text{arco seno } x}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro e segundo dia de avaliação JI's de *H. amazonensis* expostos à deltrametrina não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao percentual de sobrevivência comparativamente ao grupo controle. Após 48h e 72h os NEP's expostos à associação Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal + Butóxido e apresentaram percentuais de sobrevivência similares ( $p < 0,05$ ) ao controle (Tabela 1).

O tratamento com a utilização de Clorfenvinfós+Diclorvós apresentou mortalidade de 100% dos nematóides em todos os tempos de avaliação, e nos demais tratamentos apenas os JI's expostos a Clorfenvinfós após 72h apresentaram percentual de sobrevivência menor que 50%. Foi observada diminuição do percentual de sobrevivência dos NEP's dos grupos, controle, Amitraz, e Clorfenvinfós de acordo com o aumento do período de exposição, fato não observado para os demais grupos (Tabela 1).

O teste de infectividade para JI's de *H. amazonensis* expostos a Clorfenvinfós+Diclorvós não foi realizado devido à mortalidade de 100% apresentada por este nematóide nos diferentes intervalos de avaliação. Não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o controle e os demais tratamentos em relação à infectividade em todos os dias de avaliação, exceto para os NEP's expostos ao princípio ativo Clorfenvinfós. Os JI's expostos a este acaricida também tiveram seu potencial de infectar e matar lagartas reduzido ao longo do tempo, o que demonstra que este princípio ativo reduziu a capacidade de infectividade de *H. amazonensis*, fato não observado para este nematóide em relação aos outros acaricidas testados nesta análise, onde não observado diferença significativas ( $p > 0,05$ ) entre os princípios ativos Deltrametrina, Amitraz e as associações Amitraz + Clorpirifós e Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal + Butóxido de Piperolina em relação ao grupo controle. (Tabela 2).

Estes resultados são parecidos com os observados por diferentes autores. Rovesti e Deseo (1990) testaram a compatibilidade de *S. cariocapsae* e *S. feltiae* com 77 pesticidas, e observaram que a maioria dos produtos testados foram compatíveis com os nematóides. Alumai e Grewal (2004) testaram oito pesticidas no controle e observaram que estes não afetaram a viabilidade, entretanto, "Aluminium tris" e "Trichlorfon" afetaram a infectividade deste nematóide. Neste trabalho também foi observado que estes pesticidas reduziram a viabilidade e patogenicidade de *H. bacteriophora*.

O presente estudo evidenciou que a associação "Clorfenvinfós+Diclorvós" e o princípio ativo "Clorfenvinfós" não foram compatíveis *H. amazonensis* causando alta mortalidade dos JI's e diminuindo a capacidade de infectar e matar lagartas de *G. mellonella*. Hara e Kaia (1983) observaram diminuição na movimentação e patogenicidade de *S. cariocapsae* quando em contato com os organofosforado Menvifós, Fenamifós e Triclorfon. Entretanto Reis et al. (2008) relataram a compatibilidade de *S. glaseri* com esta associação de dois organofosforados "Clorfenvinfós+Diclorvós", sendo que este acaricida causou 100% de mortalidade no presente estudo. Este fato que pode se explicado devido ao fato que nematóides do gênero *Steinernema* serem geralmente mais tolerantes a produtos fitossanitários do que os NEP's do gênero

*Heterorhabditis* (GREWAL *et al.*, 1998). Inclusive Andaló *et al.* (2004) testando a compatibilidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro demonstraram que *S. glaseri* foi mais resistente que outras espécies do gênero *Steinernema*.

**Tabela 1** – Percentual de sobrevivência de juvenis infectantes do nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis amazonensis* RSC-5 expostos a diferentes princípios ativos (acaricidas), em diferentes intervalos de tempo em condições de laboratório ( $16\pm1^\circ\text{C}$  e UR>80±10%). Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

Princípio ativo/Tempo de exposição	24h	48h	72h
Controle	87.4 <sup>aB</sup> ±9.2	91.0 <sup>aA</sup> ±4.1	83.7 <sup>aB</sup> ±3.0
Deltrametrina	79.9 <sup>abA</sup> ±8.4	73.3 <sup>abA</sup> ±7.6	66.9 <sup>bB</sup> ±9.0
Amitraz	70.8 <sup>bca</sup> ±9.8	52.3 <sup>bcB</sup> ±6.3	50.8 <sup>cB</sup> ±9.4
Clorfenvifós	69.9 <sup>bcA</sup> ±9.7	53.3 <sup>bcB</sup> ±7.4	44.9 <sup>cdB</sup> ±13.0
Amitraz+Clorpirimifós	65.5 <sup>aA</sup> ±8.8	64.5 <sup>abA</sup> ±6.0	64.4 <sup>bcA</sup> ±5.4
Cipermetrina+Clorpirimifós+Citronelal+Butóxido de Piperolina	77.0 <sup>bca</sup> ±10.0	74.0 <sup>aA</sup> ±5.5	76.0 <sup>abA</sup> ±5.9
Clorfenvifós+Diclorvós	0.0 <sup>d*</sup> ±0.0	0.0 <sup>c*</sup> ±0.0	0.0 <sup>d*</sup> ±0.0

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%.

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%.

\* Análise estatística não realizada na linha devido à ausência de variação.

**Tabela 2** – Percentual de mortalidade de lagartas de *Galleria mellonella* causados pela ação juvenis infectantes do nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis amazonensis* RSC-5 expostos a diferentes princípios ativos (acaricidas), em diferentes intervalos de tempo. Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

Princípio ativo/Tempo de exposição	24h	48h	72h
Controle	93.3 <sup>aA</sup> ±16.3 (30)	90.0 <sup>aA</sup> ±11.0 (30)	90.0 <sup>aA</sup> ±16.7 (30)
Deltrametrina	83.3 <sup>abA</sup> ±19.7 (30)	73.3 <sup>aA</sup> ±20.7 (30)	93.3 <sup>aA</sup> ±10.3 (30)
Amitraz	90.0 <sup>abA</sup> ±11.0 (30)	66.7 <sup>aA</sup> ±24.2 (30)	86.7 <sup>aA</sup> ±10.3 (30)
Clorfenvifós	63.3 <sup>bA</sup> ±15.1 (30)	16.7 <sup>bB</sup> ±19.7 (30)	6.7 <sup>bB</sup> ±10.3 (30)
Amitraz+Clorpirimifós	83.3 <sup>abA</sup> ±15.1 (30)	83.3 <sup>aA</sup> ±15.1 (30)	66.7 <sup>aA</sup> ±27.3 (30)
Cipermetrina+Clorpirimifós+Citronelal+Butóxido de Piperolina	83.3 <sup>abA</sup> ±15.1 (30)	80.0 <sup>aA</sup> ±21.9 (30)	93.3 <sup>aA</sup> ±10.3 (30)

(n) – Tamanho da amostra.

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%.

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de significância de 5%.

## CONCLUSÃO

- O percentual de sobrevivência e infectividade de *H. amazonensis* foi afetado pelo contato com os diferentes acaricidas.
- Os princípios ativos Deltrametrina, Amitraz e as associações Amitraz + Clorpirimifós e Cipermetrina + Clorpirimifós + Citronelal + Butóxido de Piperolina reduziram o percentual de sobrevivência de *H. amazonensis*, entretanto o mesmo não foi observado em relação ao teste de infectividade, com isto estes acaricidas podem ser considerados compatíveis.
- Clorfenvifós e Clorfenvifós+Diclorvós não foram compatíveis com *H. amazonensis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALUMAI, A. GREWAL, P. S. Tank-mix compatibility of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. *Biocontrol Sci Technol*, v. 14, p. 725-730, 2004.
- ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; CECÍLIA, L. V. C. Compatibilidade de Nematoides Entomopatogênicos com Produtos Fitossanitários Utilizados na Cultura do Cafeiro. *Nematologia Brasileira*, v. 28, n. 2, p. 149-158, 2004.
- DOLINSKI, C. Uso de nematóides entomopatogênicos para o controle de pragas. 2006. p. 261-289. In: MADELAINE VENZON; TRAZILBO JOSÉ DE PAULA JR.; ANGELO PALLINI. (Org.). *Tecnologias Alternativas para o Controle Alternativo de Pragas e Doenças*. Viçosa. 377p.
- FREITAS-RIBEIRO, G. M.; FURLONG, J.; VASCONCELOS, V. O.; DOLINSKI, C.; LOURES-RIBEIRO, A. Analysis of biological parameters of *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 exposed to entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* Santa Rosa and All strains (Steinernema: Rhabditida). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 48, n. 6, p. 911-919, 2005.
- FURLONG, J.; J.R.S. MARTINS & M.C.A. PRATA. Controle estratégico do carapato dos bovinos. *A Hora Veterinária*, v. 23, n. 137, p. 53-56, 2004.
- GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. *Neotropical Entomol*, v. 30, n. 2, p.191-205, 2001.
- HAZIR, S.; KAYA, H. K.; STOCK, P.; KESKIN, N. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turkish Journal of Biology*, v. 27, p. 181-202, 2003.
- KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S., COWLES EA, F. E. M.; BAUMGARTNER, L Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. *Biol Control*, v. 24, p. 90-97, 2002.
- LINDGREN, J. E.; VARELO, K. A.; MACKEY, B. E. Simple in vivo production and storage methods for *Steinernema carpocapsae* infective juvenile. *Journal of Nematology*, v. 5, n. 2, p. 193-197, 1993.
- REIS-MENINI, C. M. R. ; PRATA, M. C. A. ; FURLONG, J. ; SILVA, E. R. . Compatibility between the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* (Rhabditida: Steinernematidae) and an acaricide in the control of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, 2008.
- VASCONCELOS, V.O.; FURLONG, J.; FREITAS, G.M.; DOLINSKI, C.; AGUILERA, M.M.; RODRIGUES, R.C.D.; PRATA, M.C.A. *Steinernema glaseri* Santa Rosa strain (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* CCA strain (Rabditida:Heterorhabditidae) as biological control agents of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae). *Parasitology Research*, v. 94, p. 201-206, 2004.



A cura está na consciência de  
quem faz da Terra o seu laboratório

00 804010 109400  
NODCD9400

ANAIIS

XXXI SEMANA DE BIOLOGIA  
XIV MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA  
6 a 10 de outubro de 2008

**dacbio**

# **XXXI SEMANA DE BIOLOGIA**

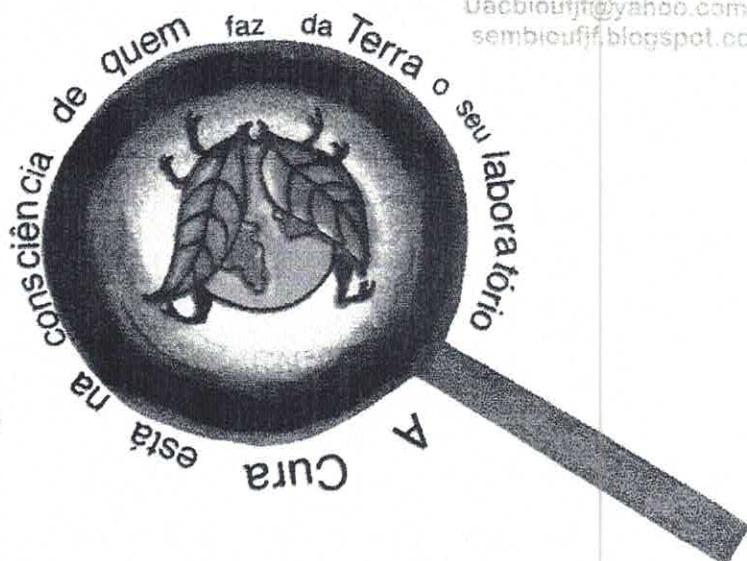
## **6 a 10 de Outubro**

*Realização*



Dacbioufif@yahoo.com.br  
sembiufif.blogspot.com

**Bio**logia e Saúde  
*Bio Logia e Saúde*



XIV Mostra de Produção Científica  
III Concurso de Fotografias Biológicas  
Mini-Cursos      Ciclo de Palestras  
Mesa Redonda      Assembléia

**Apoio**



Design gráfico: www.ellisera.com.br - 021 2555-00