

COMPORTAMENTO DE *Steinernema rarum* EM DIFERENTES TEMPERATURAS

ALICE SAGAZ DA SILVA¹; BIBIANA HAHN MEIRA²; SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN³; LUIS GARRIGÓS LEITE⁴ FLÁVIO ROBERTO MELLO GARCIA⁵; ANDRESSA LIMA DE BRIDA⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Laboratório de Ecologia de Insetos - alicesagaz.as@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Laboratório de Ecologia de Insetos – bhmeira@hotmail.com

³UNESP – Universidade Estadual Paulista, Departamento de Proteção Vegetal – srenata@fca.unesp.br

⁴Instituto de Biológico, Centro experimental, Campinas, SP- igleite@biologico.sp.gov.br

⁵Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética - flaviormg@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética– andressa_brida23@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Nematoides entomopatogênicos (NEPs) do gênero *Steinernema* podem ser utilizados no controle biológico de pragas, no entanto a temperatura pode afetar processos metabólicos, como a taxa de reservas (lipídios, proteínas e carboidratos) pode comprometer a capacidade de infecção, desenvolvimento e reprodução no hospedeiro (DOLINSKI, 2017). Para que se obtenha sucesso com um agente de controle biológico, é necessário que haja a capacidade de cria-lo artificialmente em grande número e formulá-lo em um produto com vida útil razoavelmente longa, de três a seis meses (VAN ZYL e MALAN, 2014). O primeiro passo no processo de criação de NEPs em massa *in vivo*, necessita a seleção de um hospedeiro de insetos suscetível. O principal hospedeiro utilizado é a *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Uma praga importante nos apiários e causadora de danos severos a favos de mel armazenados. *G. mellonella* são altamente suscetíveis a NEPs, estão amplamente disponíveis e podem ser facilmente criados em dietas artificiais dentro de um tempo relativamente curto. As larvas de 4 a 5º instar produzem números suficientes de NEPs para viabilizar seu uso para produção *in vivo* (SHAPIRO-ILAN et al. 2002). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o período de mortalidade de lagartas de *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) após a infecção de *Steinernema rarum*.

PAM 25, o período da emergência (JIs) e o número de juvenis produzidos durante o período de 15 e 30 dias em diferentes temperaturas.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Ecologia de Insetos, pertencente ao Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética da Universidade Federal de Pelotas, RS. A espécie de NEP foi obtida da Coleção de Nematoides Entomopatogênicos do Banco de Nematoides Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico. Os nematoides foram multiplicados em lagartas de quinto instar de *G. mellonella*, criada em temperatura de 30°C com dieta à base de favo e cera de abelha sem luminosidade. Foram utilizadas cinco lagartas por placas de Petri de =9 cm com duas folhas de papel filtro umedecidas com 1,5 mL de suspensão com 500 juvenil/placa, disponibilizando 100 juvenil/lagarta. Essas placas foram lacradas com papel filme PVC e acondicionadas em BOD com temperatura a 25°C (WOODRING; KAYA, 1988). Após três dias, as lagartas mortas foram transferidas para armadilha de White (WHITE, 1927) e armazenadas em BOD a 25°C por um período de três a 15 dias. Os JIs que abandonaram os cadáveres foram recolhidos com água destilada, filtrados e decantados para a retirada dos corpos gordurosos dos insetos e quantificados em placas de contagem. Os tratamentos consistiram do nematoide *S. rarum* PAM 25 inoculado em *G. mellonella* e uma testemunha (sem nematoide) nas temperaturas de 18 e 25°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e oito repetições, totalizando 16 parcelas. Cada parcela teve uma placa de Petri (=5 cm) com papel filtro umedecido com 1,5 mL de suspensão contendo 100JI/repetição. As placas da testemunha foram umedecidas com 1,5 mL de água destilada e armazenadas nas temperaturas estudadas. Uma lagarta de *G. mellonella* (quarto ao quinto ínstar) foi pesada (0,10g) e colocada por placa. O período para mortalidade de *G. mellonella*, o período para a emergência dos JIs foram mensurados e o número de JI emergido por *G. mellonella* aos 15 e 30 dias (taxa de multiplicação) foram avaliados a cada 24 horas. Os cadáveres de *G. mellonella* foram individualizadas em armadilhas de White (White, 1927) e acondicionadas nas mesmas temperaturas para a avaliação da emergência dos JIs. As suspensões com JIs foram recolhidas no primeiro dia de emergência e as mesmas quantificadas diariamente até 30 dias. Os JIs produzidos foram quantificados em Siracusa graduada, sob microscópio estereoscópico. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa computacional de estatística BioEstat. versão 5.3.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve 100% de mortalidade de lagartas de *G. mellonella* em ambas temperaturas. O período para mortalidade de *G. mellonella* foi de 10,38 e 7,12 dias em 18 e 25°C. O período para emergência dos JIs foi de 2,62 e 2,25 dias, entretanto sem diferenças entre as temperaturas. O número de JIs emergidos de cadáveres de *G. mellonella* foi superior na temperatura de 25°C até 15 dias (12.129,87 JIs/lagarta), quando comparado com a temperatura de 18°C (4898,75 JIs/lagarta). Ao longo de 30 dias não houve diferença significativa na produção de JIs de *S. rarum* PAM 25 em ambas temperaturas (17097,37 JIs/lagarta) a 18°C e (19238,35 JIs/lagarta) a 25°C. Temperaturas entre 20°C e 35°C são adequadas para a patogenicidade, infecciosidade e reprodução de nematoídeos entomopatogênicos (KOPPENHOFER; KAYA, 1999). Segundo SÁENZ; LOPEZ (2011), a temperatura de 25°C indica ser uma ótima temperatura para o desenvolvimento de NEPs, embora o fato de que o ciclo de vida e o número de gerações de um nematoide podem depender da disponibilidade de alimento e do tamanho de hospedeiro (ADAMS; NGUYEN, 2002), a temperatura é um fator intrínseco para o desenvolvimento do nematoide. *S. rarum* PAM 25 permitiu a produção de JIs em ambas as temperaturas, fato justifica que *S. rarum* se comporta satisfatoriamente com a temperatura de seu local de isolamento que varia entre 18 °C (meses mais frios) e 30°C (meses mais quentes), justificando a sua adequabilidade climática favorecendo o seu desenvolvimento.

4. CONCLUSÕES

As temperaturas de 18 e 25°C, são consideradas satisfatórias para a mortalidade de larvas de *G. mellonella*, período de emergência e produção de JIs de *S. rarum* PAM 25.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and Systematics. In: GAUGLER, R. (Ed.), **Entomopathogenic Nematology**, Cambridge, New York, CABI Publishing, 2002, p. 1-33.

DOLINSKI, C; MONTEIRO, C; ANDALÓ, V; LEITE, L.G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. **Nematoda**, vol.4, 2017.

GOULART, R. M.; TAVARES, F. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M. Formação de um banco de nematoides entomopatogênicos no Instituto Biológico, SP. In: **SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO**, 8., 2003, São Pedro, Resumos... São Pedro, 2003. 83p.

KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to white grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v.91, n.3, p.624-630, 1998

SÁENZE, A., LÓPEZ, J. C. 2011. Ciclo de vida y patogenicidad de un aislamiento nativo de *Heterorhabditis* sp., (Rhabditida: Heterorhabditidae). Revista Colombiana de Entomología. 37, 43-47.

SHAPIRO-ILAN, D; GAUGLER, R. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology** V. 28, P. 137 –146, 2002.

VAN ZYL, C; MALAN A.P. The Role of Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents of Insect Pests, with Emphasis on the History of Their Mass Culturing and in vivo Production. **Entomological Society of Southern Africa**, African Entomology, v. 22, n.2 p.235-249, 2014

WHITE, G. F. 1927. **A method for obtaining infective nematode larvae from cultures.** Science. 66, p.302-303.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and Techniques. **Southern Cooperative Series Bulletin. Agricultural Experiment Station.** Fayetteville, Arkansas, v. 331, p. 1–17, 1988.