

## NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE Y STEINERNEMATIDAE) EN EL CONTROL DE *Dichelops melacanthus* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

**Bruna Aparecida Guide; Thiago Augusto Paes Fernandes; Ana Carolina Montenegro Chiesa;**

**✉ Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves; Viviane Sandra Alves; Ana Maria Meneguim.**

Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 10.011, CEP: 86057-970, Londrina, PR, Brazil.

✉ Correo: pedroneves@uel.br

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue evaluar el uso potencial de nematodos entomopatógenos (NEP) para el control de *Dichelops melacanthus* bajo condiciones de laboratorio. Se realizó prueba de cribado utilizando 10 cepas aplicados a una concentración de 100 juveniles infectivos (IJs) / cm<sup>2</sup>. La evaluación se realizó después de cinco días de la inoculación y los datos fueron sometidos a la prueba de Scott-Knott ( $P \leq 5\%$ ). Se observó que las cepas IBCB-n06, IBCB-n02 y RSC05 no difieren de la de control, causando 10% de mortalidad. Las cepas IBCB-n05 y IBCB-n44 causaron mortalidad de 22% y 36% respectivamente, que difiere Respecto al control, pero no entre sí. Las cepas que causaron mayor mortalidad fueron IBCB-n46 y ALHO con el 76%, seguidas por NEPET11 y IBCB-n40 con el 68% y JPM4 con el 58% que no difirieron entre sí. Con base en estos resultados, se concluye que la cepa IBCB-N46 y ALHO son más virulentas y han demostrado ser prometedores para futuros experimentos de campo para el control de *Dichelops melacanthus*.

**Palabras-clave:** Controle microbiano, *Steinernema*, *Heterorhabditis*.

## ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE AND HETERORHABDITIDAE) FOR *DICHELOPS MELACANTHUS* CONTROL (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

**SUMMARY.** The objective of this study was to evaluate the potential use of entomopathogenic nematodes (NEPs) on the control of *Dichelops melacanthus* in laboratory. Screening test was realized using 10 isolates applied at a concentration of 100 infective juveniles (IJs) / cm<sup>2</sup>. The evaluation was made after five days of inoculation and the data were submitted to the Scott-Knott test ( $P \leq 5\%$ ). It was observed that the IBCB-N06 isolated IBCB-n02 and RSC05 not differ from control, causing 10% mortality. The IBCB-N05 and N44-IBCB isolates caused mortality of 22% and 36% respectively, differing from the control, but not between them. The isolates that caused higher mortality were IBCB-n46 and ALHO with 76%, followed by NEPET11 and IBCB-n40 with 68% and JPM4 with 58% which did not differ among them. Based on the results observed, it is concluded that the IBCB-N46 isolated and ALHO were more virulent for the bug and have shown promise for future field experiments.

**Key words:** Microbial control, *Steinernema*, *Heterorhabditis*.

## INTRODUÇÃO

A adoção de diferentes práticas de cultivo, principalmente a expansão do sistema de plantio direto e a sucessão de culturas, têm acarretado alterações na dinâmica de ocorrência das pragas agrícolas (Panizzi y Chocorosqui, 1999). Exemplo disso é o crescimento populacional de

algumas espécies de percevejos, considerados anteriormente pragas secundárias (Panizzi, 1997), como o percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851), que possuía importância secundária na soja, mas vem se tornando praga chave na cultura do milho (Bianco, 2005).

*D. melacanthus* está amplamente distribuído no Brasil (Panizzi y Chocorosqui 1999) e acredita-se que sua ocorrência tem sido favorecida pelo sistema de plantio direto que oferece abrigo na palhada, e pela sucessão das culturas soja/milho e soja/trigo, pois em ambos os casos, além dos períodos entre culturas serem breves, os insetos alimentam-se de grãos de soja caídos no solo por ocasião da colheita e também de plantas daninhas, sobrevivendo aos períodos de entressafra, e atacando a cultura do milho logo após a emergência das plantas (Bianco, 2005).

O controle químico é a forma mais utilizada para minimizar a ação da praga (Cruz y Bianco, 2001) e pode ser feito por meio de pulverizações ou tratamento de sementes (Rodrigues, 2011). Outra forma de controle é o biológico, e algumas espécies de parasitoides de ovos são importantes inimigos naturais dos percevejos, como *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Telenomus podisi* (Ashmead) que têm sido registradas ocorrendo sobre ovos do inseto, porém sem sucesso efetivo no controle.

Por outro lado, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) no Manejo Integrado de Pragas demonstra qualidades favoráveis como alternativa de controle. Entre os grupos de NEPs considerados importantes no controle de pragas destacam-se os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, dos quais já se conhece bem os aspectos relativos à ecologia, estratégias de ação sobre seus hospedeiros, bem como a produção em larga escala e as condições de aplicação (Voss, 2010) e estes podem vir a ser uma alternativa no controle deste inseto.

Assim, o objetivo deste estudo foi realizar teste de seleção de isolado em condições de laboratório, visando o controle do percevejo *Dichelops melacanthus* com nematoides entomopatogênicos.

## **MATERIAIS E MÉTODO**

### **Criação de *Dichelops melacanthus*.**

Os insetos (*D. melacanthus*) utilizados nos ensaios foram obtidos junto a criação de percevejos do Laboratório de Entomologia do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR).

### **Criação de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)**

As lagartas foram obtidas da criação de *G. mellonella* do Laboratório de Entomologia e Controle Microbiano da UENP – Cornélio Procópio e mantidas na sala de criação do Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Londrina, acondicionadas em potes plásticos com tampas perfuradas e sob temperatura ambiente. A alimentação foi feita diariamente, com dieta artificial, adaptada de Parra (1998).

### **Obtenção e manutenção dos isolados de nematoides entomopatogênicos**

Para os testes em condições de laboratório foram utilizados nematoides entomopatogênicos obtidos a partir de inóculo de isolados fornecidos pelo Laboratório de Entomologia e Controle Microbiano da Universidade Estadual do Norte do Paraná (Cornélio Procópio – PR) e do Banco de Organismos Entomopatogênicos do Instituto Biológico (Campinas – SP).

Quando necessário, os isolados foram multiplicados de acordo com a metodologia descrita por Molina e Lopes (2001), utilizando lagartas de último instar de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae).

### Teste de seleção de isolados

Para a realização do ensaio, 10 isolados (Tab. 01), foram multiplicados de acordo com a metodologia citada acima e avaliados quanto à patogenicidade e virulência sobre adultos de *D. melacanthus*.

Cada tratamento foi repetido cinco vezes e cada parcela correspondeu a uma placa de Petri de vidro de nove cm de diâmetro, contendo dois papéis filtro, uma vagem de soja e dez insetos adultos. Em seguida foram inoculados com auxílio de micropipeta os isolados na concentração de 100 Juvenis Infectantes (JIs) /cm<sup>2</sup> e mais um mL de água destilada.

Após a inoculação dos isolados, as placas foram tampadas e mantidas em câmara climatizada tipo BOD a 25±1°C, U: 70±10% e sem fotoperíodo. Foi feito também um tratamento adicional (testemunha), que recebeu apenas um mL de água destilada. A avaliação ocorreu após cinco dias da inoculação, na qual se contou os insetos mortos e a confirmação foi feita por meio de dissecação do inseto em microscópio estereoscópio.

O delineamento foi inteiramente casualizado, sendo os dados de mortalidade submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott (P≤5%), por meio do software estatístico SASM – Agri (Canteri *et al.*, 2001).

Tabela 01. Isolados de nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* utilizados no teste de seleção de isolados para adultos de *Dichelops melacanthus* em condições de laboratório.

Isolados	Localidade
NEPET11 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	Palmeira das Missões – RS – Brasil
ALHO ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	Lavras – MG – Brasil
IBCB-n 40 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	Taboporã – SP – Brasil
IBCB-n 05 ( <i>Heterorhabditis indica</i> )	Itapetininga – SP – Brasil
RSC 05 ( <i>Heterorhabditis amazonensis</i> )	Benjamin Constant – AM – Brasil
IBCB-n 46 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	Santo Antônio de Posse – SP – Brasil
IBCB-n 44 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	Santa Adélia – SP – Brasil
JPM 4 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	Lavras – MG – Brasil
IBCB-n 06 ( <i>Steinernema braziliensis</i> )	Porto Murtinho – MT - Brasil
IBCB-n 02 ( <i>Steinernema carpocapsae</i> )	Flórida – Estados Unidos

## RESULTADOS E DISCUSS6O

**Teste de Sele76o de Isolados.** Observou-se que os isolados IBCB-n06, IBCB-n02 e RSC05 n6o diferiram da testemunha, causando 10% de mortalidade. J6a os isolados IBCB-n05 e IBCB-n44 causaram mortalidade de 22% e 36% respectivamente, diferindo da testemunha, mas n6o entre si. Os isolados que causaram maior mortalidade foram IBCB-n46 e ALHO com 76%, seguidos de NEPET11 e IBCB-n40 com 68% e JPM4 com 58% os quais n6o diferiram estatisticamente entre si (Tab. 02).

Tabela 02. Porcentagem m6dia de mortalidade de *Dichelops melacanthus* (adultos) causada por nemat6ides entomopat6genos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) em condi76es de laborat6rio (25±1 °C, UR: 70±10% e sem fotoper6odo).

Isolados	% Mortalidade ± DP
Testemunha	10 ± 10,0 a*
IBCB-n 06 ( <i>Steinernema braziliensis</i> )	10 ± 12,2 a
IBCB-n 02 ( <i>Steinernema carpocapsae</i> )	10 ± 12,2 a
RSC 05 ( <i>Heterorhabditis amazonensis</i> )	10 ± 10,0 a
IBCB-n 05 ( <i>Heterorhabditis indica</i> )	22 ± 8,4 b
IBCB-n 44 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	36 ± 18,2 b
JPM 4 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	58 ± 8,4 c
NEPET11 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	68 ± 13,0 c
IBCB-n 40 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	68 ± 16,43 c
ALHO ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	76 ± 20,7 c
IBCB-n 46 ( <i>Heterorhabditis</i> sp.)	76 ± 8,9 c

\*M6dias seguidas de mesma letra min6scula na coluna n6o diferiram entre si pelo Teste Scott-Knott com P≤0,05. CV= 32,94%.

N6o existem registros de avalia76es de NEPs sobre hem6pteros da fam6lia Pentatomidae, e mesmo sobre outros insetos desta ordem os dados s6o escassos. Neste sentido, Melo *et al.* (2006) avaliou a patogenicidade de dois isolados sobre *Cyrtomenus bergi* e verificaram que os adultos s6o mais suscept6veis aos nemat6ides e que o isolado *S. feltiae* apresentou uma maior taxa de penetra76o (93,9%) em compara76o com *H. bacteriophora* (72,1%). Por6m, em rela76o 6 mortalidade, o isolado *H. bacteriophora* matou mais percevejos ap6s 15 dias (42,2%) do que *S. feltiae*, sendo estes resultados inferiores aos encontrados neste trabalho.

Por outro lado, Leite *et al.* (2005) ao avaliarem a patogenicidade de nemat6ides contra a cigarrinha da raiz da cana-de-a76car *Mahanarva fimbriolata*, verificaram que *Heterorhabditis* sp. (CB-n5), *Steinernema* sp. (CB-n6) e *Heterorhabditis* sp. (CCA) foram os mais patog6nicos, causando mortalidades de 100%, 98% e 96%, respectivamente.

Por sua vez, Batista *et al.* (2014), realizaram teste de seleção de isolado visando o controle de *Mahanarva spectabilis* e observaram que todos os isolados foram patogênicos aos insetos, e que *Steinernema carpocapse*, *S. feltiae*, *S. riobrave* e *Heterorhabditis amazonensis* causaram mortalidade maior que 80%, valores estes semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Assim, levando em consideração o número de isolados avaliados até o momento, é possível afirmar que *D. melacanthus* apresenta potencial de controle com NEPs, porém, um maior número de isolados precisa ser avaliado quanto a patogenicidade e virulência sobre *Dichelops melacanthus*, a fim de verificar se estes são capazes de causar maior índice de mortalidade no inseto.

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que os isolados IBCB-n46 e ALHO foram mais virulentos sobre o percevejo. No entanto são necessários novos testes, com novos isolados para que um isolado mais eficiente seja encontrado e assim possa ser utilizado em experimentos em condições de campo.

## LITERATURA CITADA

- Batista, E. S. D. P., Auad, A. M., Andaló, V., y, C. M. D. O. Monteiro. 2014. Virulence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) to spittlebug *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, 81: 145-149.
- Bianco, R. 2005. Manejo de pragas do milho em plantio direto. In: Instituto Biológico de São Paulo. (Org). XI Reunião itinerante de fitossanidade do Instituto Biológico e I Encontro de fitossanidade de plantio direto na palha do clube amigos da terra de Aguaí. Aguaí, SP, p.8-17.
- Canteri, M. G., Althaus, R. A., Virgens Filho, J. S., Giglioti, E. A. y C. V. Godoy. 2001. SASM - Agri: sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação*, 1: 18-24.
- Cruz, I. y R. Bianco. 2001. Manejo de pragas na cultura do milho safrinha. In: Seminário nacional de milho safrinha, 6. 2001, Londrina. Anais. Londrina: IAPAR, p. 79-112.
- Leite, L.G., Machado, L. A., Goulart, R. M., Tavares, Fernando M. y A. Batista Filho. 2005. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology*, 34: 785-790.
- Melo M, E. L., Ortega-Ojeda, C. A., Gaigl, A., Ehlers, R.U., y A. Bellotti. (2006). Evaluación de dos cepas comerciales de entomonematodos como agentes de control de *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 32: 31-38.
- Molina, J.P. y N.J.C. López. 2001. Producción in vivo de três entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista Colombiana de Entomología*, 27: 73-78.

Aparecida B. *et al.*: **Nematodos entomopatógenos (Rhabditida: heterorhabditidae y Steinernematidae)...**

- Panizzi, A. R. 1997. Entomofauna changes with soybean expansion in Brazil. In: Napompeth, B. (Ed). Proceedings World Soybean Research Conference, V. Bangkok: Kasetsart University, p.166-168.
- Panizzi, A. R. y V. R. Chocorosqui. 1999. Pragas: Elas vieram com tudo. Revista Cultivar grandes culturas, 11: 8-10.
- Parra, J.R.P. 1998. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: Alves, S.B. Controle microbiano de insetos. 2ed. Piracicaba-SP: Fealq. 4:10 15-1037.
- Rodrigues, B. R. 2011. Danos do percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae), na cultura do milho. 160p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- Voss, M. 2010. Nematoides Entomopatogênicos (NEPs) como Agentes de Controle Biológico de Insetos. In:\_\_\_\_\_. Manual de Técnicas Laboratoriais para Obtenção, Manutenção e Caracterização de Nematoides Entomopatogênicos. ed. Passo Fundo, Embrapa Trigo. Documentos, 97. p. 9-17.