

PRODUÇÃO DE *Neoaplectana glaseri* STEINER EM
LAGARTAS VIVAS E MORTAS DE *Galleria mellonella* L.

L.G. Leite¹
A. Batista Filho¹
W.L.A. Prada¹

INTRODUÇÃO

Os nematóides entomopatogênicos do gênero *Neoaplectana* (Steinernematidae) possuem grande potencial para o controle de insetos pragas, principalmente em função da associação mutualística com a bactéria patogênica a insetos, *Xenorhabdus* sp., o que os torna capazes de atuarem em uma grande diversidade de espécies, levando-as à morte dentro de 24 a 48 horas após o início da infecção (WOODRING & KAYA, 1988). Os hospedeiros podem responder a infecção por um aumento no número de fagócitos ativos até que aconteça a fagocitose de todas as células da bactéria (SERYCZYNSKA & KAMIONEK, 1972). Os nematóides, podem também ser encapsulados por plasmócitos, através da deposição de células melanizadas ao seu redor (JACKSON, 1985). Estes nematóides são considerados facultativos pelo fato de poderem ser criados em dietas artificiais, porém, não tem sido observado o seu desenvolvimento, em condições naturais, na ausência de insetos hospedeiros (FERRAZ, 1985). A produção "in vivo" é mais apropriada para a manutenção de colônias, testes de laboratório e ensaios de campo. Quanto a produção "in vitro", torna-se mais prática para a utilização do patógeno em larga escala. DUTKY & HOUGH (1985) estabeleceram o primeiro método de produção massal, utilizando a espécie *Neoaplectana carpocapsae* Weiser e tendo como hospedeiro *Galleria mellonella* L. DUTKY et alii (1985) aperfeiçoaram o método, chegando a obter 200.000 formas

¹Instituto Biológico, São Paulo.

infectivas do nematóide para cada lagarta da traça-dos-favos. FOLEGATTI *et alii* (1988), utilizando *Diatraea saccharalis* (F.), obtiveram 60.000 larvas do nematóide por lagarta.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a produção de *Neoaplectana glaseri* Steiner em lagartas de *Galleria mellonella* vivas e mortas por choque térmico, em água fervendo e "freezer".

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, foi utilizada uma raça de *N. glaseri* obtida junto ao Instituto do Açúcar e Alcool (IAA)/Plana-sucar, originalmente isolada de ovos de *Migdolus* sp. e mantidas em lagartas da broca da cana-de-açúcar, *D. saccharalis*. No laboratório de Patologia de Insetos da Seção de Controle Biológico das Pragas do Instituto Biológico, os nematóides foram então extraídos daquelas lagartas, reproduzidos em lagartas jovens de *G. mellonella*, coletados em armadilhas de WHITE (1927) e transferidos para erlenmeyer (250 ml). A quantificação do patógeno foi realizada a partir de amostras de 2 ml, retiradas desses frascos, e colocadas em pequenas placas de Petri, subdivididas em 8 áreas. A contagem, feita sob microscópio estereoscópico, acusou uma concentração de 20 larvas de nematóide/ml. Os tratamentos, em número de 4, foram constituídos por exemplares de *G. mellonella* com aproximadamente 1,5 cm, separados em 3 lotes distintos a saber: lagartas vivas, recém mortas por água fervendo, mortas por estocagem durante 6 horas em "freezer" (-20°C) e as respectivas testemunhas utilizando água destilada. Cada tratamento foi repetido 5 vezes, sendo cada repetição composta por um grupo de 10 insetos, distribuídos em placa de Petri contendo papel filtro no fundo e inoculado com 2 ml da suspensão de nematóides. O experimento foi mantido dentro de sacos plásticos fechados e colocados em condições ambiente, com temperatura oscilando entre 20 e 23°C. No sexto dia após a inoculação, as lagartas, contidas em cada placa, foram transferidas em grupos para armadilhas de WHITE, mantidas nas

mesmas condições anteriores. As avaliações consistiram de observações diárias, anotando-se o dia em que os nematóides começaram a deixar o corpo do hospedeiro, e a produção diária após este dia. A contagem dos nematóides coletados nas armadilhas foi feita conforme o método já descrito para a determinação da dose, porém a suspensão era repostada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram registrados os resultados quanto a mortalidade de lagartas de *G. mellonella*, com e sem inoculação de nematóides (Quadro I). Através desses resultados, pode-se observar o efeito da inoculação dos nematóides sobre as lagartas vivas, tendo em vista o menor LT 50 (Tempo Letal 50) de 2,1 dias neste tratamento, enquanto que na Testemunha, o tempo para ocorrer a morte de 50% da população foi 3,6 dias. A morte das lagartas na Testemunha deve-se às condições adversas de alta umidade dentro das placas de Petri.

Quadro I - Tempo letal 50 (dias) de *Neoaplectana glaseri* sobre lagartas vivas de *Galleria mellonella* (Dose 40 larvas/placa de petri com 10 lagartas).

	I	II	III	IV	V	M
Nematóides	2,0	2,3	1,9	2,4	2,4	2,2
Testemunha	3,5	3,1	4,3	3,0	4,0	3,6

Registrrou-se, também, os resultados quanto a produção de nematóides por larva nos diferentes tratamentos (Figura 1). Verifica-se que as larvas de *N. glaseri* começaram a deixar o corpo dos insetos, 10 dias após a inoculação nos tratamentos com choque térmico, ou seja, 2 dias antes, quando comparado ao tratamento com lagartas vivas. Estes resultados podem estar relacionados ao

uso de hospedeiros já mortos, facilitando a penetração dos nematóides através das aberturas naturais do corpo das lagartas, logo após a sua inoculação. Assim, os nematóides inoculados em lagartas vivas, levaram aproximadamente 2 dias para matar 50% da população, causando provavelmente um atraso de tempo semelhante, em relação aos outros dois tratamentos, para que as larvas começassem a deixar o corpo do hospedeiro. A produção de nematóide, a partir de quando começaram a deixar o corpo do inseto, aumentou progressivamente nos três tratamentos, havendo uma estabilização no 7^o dia para os tratamentos, com as lagartas mortas e no 8^o dia para o referente às lagartas vivas. A produção de nematóides nos tratamentos com hospedeiros mortos por aquecimento e resfriamento atingiram 348,4 e 244,8 por lagarta de *G. mellonella*, respectivamente, ou seja, quase 3 e 4 vezes mais que a produção do tratamento com hospedeiros vivos (91,0), respectivamente. Estes valores de produção para *N. glaseri* ainda se mostram bastante inferiores aos obtidos por DUTKY *et alii* (1985) e FOLEGATTI *et alii* (1988) para *N. carpocapsae* em lagartas de *G. mellonella* e *D. saccharalis*, respectivamente. O aumento na produção verificado nos tratamentos com lagartas mortas pode estar relacionado com a maior facilidade para os nematóides invadirem o corpo do hospedeiro, em relação ao tratamento com lagartas vivas, como já mencionado. Pode, também, estar relacionado à quebra da resistência imunológica (JACKSON, 1985; SERYCZYNSKA & KAMIONEK, 1972) nas lagartas mortas favorecendo a penetração dos nematóides e multiplicação da bactéria simbiote dentro do corpo do hospedeiro. A produção de nematóides no tratamento com lagartas mortas por água fervendo mostrou-se ligeiramente superior ao tratamento com "freezer", provavelmente, devido a maior desinfestação de microorganismos saprófitas nas lagartas submetidas ao primeiro processo. Estes microorganismos saprófitas podem ocorrer com a bactéria simbiote do nematóide, reduzindo a produção do inimigo natural dentro do corpo do inseto. Assim, os processos de água fervendo e "freezer" podem produzir bons resultados, desde que se utilizem hospedeiros recém mortos,

tendo em vista que microorganismos saprófitas podem multiplicar-se e competir com a bactéria simbiote do nematóide, caso estes sejam inoculados sobre as lagartas, em um tempo muito longo, após a sua morte.

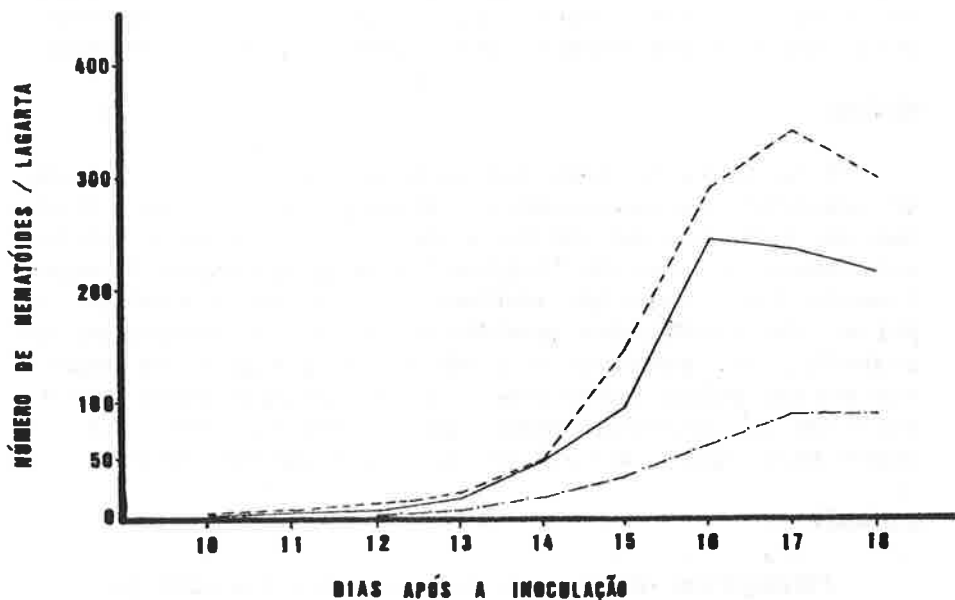


Figura 1 - Produção de larvas juvenis de *Neoaplectana glaseri* por lagarta viva (---), morta por água fervendo (---) e morta por "freezer" (—), de *Galleria mellonella*.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, e para as condições do trabalho, pode-se concluir que os nematóides *Neoaplectana glaseri* podem ser produzidos em lagartas de *Galleria mellonella* mortas por congelamento e água fervendo, tendo estes métodos possibilitado uma produção quase que, respectivamente, 3 e 4 vezes maior que o método utilizando lagartas vivas. Com base nos resultados, pode-se sugerir a esterilização das lagartas em autoclave, quando forem utilizadas mortas para a produção do nematóide, mesmo que estejam anteriormente armazenadas em "freezer".

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a produção do nematóide entomopatogênico *Neoaplectana glaseri* Steiner em lagartas de *Galleria mellonella* vivas e mortas por choque térmico em "freezer" e água fervendo. O experimento foi conduzido mediante o uso da armadilha de White. Os resultados mostraram, para as condições do trabalho, ser possível a produção do patógeno em lagartas mortas pelos 2 processos, tendo estes métodos possibilitado uma produção quase que, respectivamente, 3 e 4 vezes maior que o método utilizando lagartas vivas.

SUMMARY

PRODUCTION OF *Neoaplectana glaseri* STEINER IN LIVE AND DEAD CATERPILLARS OF *Galleria mellonella* L.

This research aimed at the evaluation of the *Neoaplectana glaseri* Steiner production on live *Galleria mellonella* L. larvae and dead ones killed by thermic shock: freezing and boiling water. The experiment was carried out with "White's trap". The results showed, in the research conditions, that it is possible to produce the pathogen in dead larvae killed by the two processes, thus obtaining productions almost 3 and 4 times higher than the process on live larvae.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Yodiro Matsuda do Departamento de Melhoria do PLANALSUCAR pelo fornecimento da cepa de *Neoaplectana glaseri*.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos C. Barbosa Ferraz do Departamento de Zoologia da ESALQ/USP pela confirmação do patógeno.

LITERATURA CITADA

- DUTKY, S.R. & W.S. HOUGH, 1955. Note on a parasitic nematode from codling moth larvae, *Carpocapsa pomonella* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Proceeding of the Entomological Society of Washington*, 57: 244.
- DUTKY, S.R.; J.V. THOMPSON, G.E. CANTWELL, 1964. A Technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. *Journal Insect Pathology*, 6: 417.
- FERRAZ, L.C.C.B., 1986. Nematóides entomopatogênicos. In: S.B. Alves (Coord.). *Controle Microbiano de Insetos*, 1^a Edição, São Paulo, Editora Manole, p.210-221.
- FOLEGATTI, M.E.G.; S.B. ALVES, P.R.C. KAWAI, P.S.M. BOTELHO, 1988. Nova metodologia para produção "in vivo" de *Neoaplectana carpocapsae* Weiser. *Nemat. Brasileira*, 12: 76-83.
- JACKSON, J.T., 1985. Parasitism of the Western corn rootworm with the nematode *Steinernema feltiae*. Ph. D. Tese Univ. of Minnesota, Mineapolis, Minnesota.
- SERYCZYNSKA, H. & M. KAMIONEK, 1972. Defense reactions of *Galleria mellonella* L. caterpillars under the influence of the parasitic nematode *Neoaplectana carpocapsae* Weiser. *Bull. L'Acad. Polonaise Sciences*, 20: 739-742.

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

WOODRING, J.L. & H.K. KAYA, 1988. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern cooperative Series Bulletin 331, Arkansas, The Nematode Subcommittee of the Southern Regional Project 3-135 Entomopathogens for Use in Pest-Management Systems. 30p.