

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

**AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA PRODUÇÃO “IN VIVO” DE JUVENIS
INFECTANTES DE *Heterorhabditis indica* A PARTIR DE LARVAS E PUPAS DE
*Tenebrio molitor***

Lucas Magalhães Lins ALVES^{1*}, Ana Caroline Ferreira de SOUZA¹, Priscilla
Fernanda Uliano ROCHA¹, Danielle Pereira da SILVA¹, Bruno de
Oliveira Telles FERREIRA¹, Patrícia Silva GÔLO¹, Melissa Carvalho
Machado do COUTO^{1*}

*autor para correspondência: lucasmlins@gmail.com ; melcouto@ufrj.br

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the susceptibility of different mealworm (*Tenebrio molitor*) life stages against the same entomopathogenic nematode (EN) lineage (*Heterorhabditis indica* - Brazilian lineage LPP30) accessing the insect mortality and the production of infective juveniles (IJs). The study was conducted in the annex of the “Laboratório de Controle Microbiano” (LCM), at UFRRJ. Each mealworm pupae or larvae were exposed to 336 *H. indica* IJs.mL⁻¹ and incubated at 16°C for five days. Five days after exposure, mean larval mortality was 30%, while all pupae died within the same period. LPP30 IJs were recovered from both insect stages (larvae or pupae) although larvae yielded approximately 2.5 times more IJs in comparison to pupae. In conclusion, we suggested that mealworm larvae are better than pupae to recover *H. indica* LPP30 despite pupae are more susceptible. In addition, a longer evaluation period should also be considered in future studies.

Palavras-chave: Controle biológico, nematoide entomopatogênicos (NEPs)

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Introdução

Com o crescente aumento populacional o setor agropecuário tem como desafio produzir mais em menos tempo, e sempre visando um menor custo de produção. Para isso, é necessário conhecer os possíveis desafios futuros dentro da cadeia produtiva. Hoje o controle de pragas é um deles, pois o uso de substâncias químicas de forma inadequada pode provocar o desequilíbrio ambiental e intoxicação dos alimentos (RANGEL, ROSA & SARCINELLI, 2011). Tendo em vista a redução deste problema novas alternativas, como o controle biológico de artrópodes, estão sendo desenvolvidos. Onde o uso de Nematoides Entomopatogênicos (NEPs) vem sendo uma excelente alternativa de controle de invertebrados na agropecuária (MONTEIRO, PRATA, *et al.*, 2012).

Os NEPs do gênero *Heterorhabditis* tem a capacidade de localizar e penetrar no corpo do hospedeiro invertebrado provocando a morte destes por septicemia com grande rapidez devido a liberação de uma bactéria entomopatogênica (*Photorhabdus*) que vive em seu trato gastrointestinal (DOWDS & PETERS, 2002; POINAR; GREWAL, 2012). Os NEPs podem ser produzidos *in vivo* e *in vitro*, porém, a primeira ainda é a mais viável de ser feita quando nos referimos a produção em laboratório para pesquisa. Sabe-se ainda que os diferentes estádios em que se encontram invertebrados podem interferir na sua susceptibilidade a infecção por NEPs, (VAN ZYL & MALAN, 2015), dessa forma o presente estudo teve como objetivo avaliar quantitativamente a infecção e a produção de juvenis infectantes (JIs) de NEPs da espécie *H. indica* (linhagem LPP30) para uma possível utilização em laboratório.

Material e Métodos

O presente estudo foi conduzido no anexo I do Laboratório de Controle Microbiano localizado na Estação para Pesquisas parasitológicas W. O. Neitz da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Para avaliar quantitativamente a produção *in vivo* de juvenis infectantes (JIs) de NEPs da espécie *Heterorhabditis indica* (linhagem LPP30) foram utilizadas 20 larvas e 20 pupas de *Tenebrio molitor*.

Primeiramente, as larvas e as pupas foram divididas em conjuntos de 10 indivíduos. Cada grupo de 10 pupas e 10 larvas de *T. molitor* foi colocado em uma placa de Petri estéril contendo papel filtro que foi previamente tratado com uma solução contendo os NEPs de *H. indica* (LPP30) a uma concentração de 336 JIs.mL⁻¹ para cada larva. No total foram formados dois grupos de estudo com duas placas contendo pupas e duas placas contendo larvas de *T. molitor*.

Após a montagem das placas estas foram incubadas em câmara climatizada (BOD) a uma temperatura de 16±1°C, 80%UR, por cinco dias. Durante este período as placas foram observadas diariamente para avaliação da mortalidade de larvas e pupas. Passados estes cinco dias foram montadas armadilhas de White modificadas (WHITE, 1927) para coleta dos JIs. Após a coleta os JIs foram acondicionados e garrafas de cultura de células e armazenados em BOD a uma temperatura de 25±1°C para posterior quantificação dos mesmos.

Resultados e Discussão

A reprodução *in vivo* de nematoides entomopatogênicos pode ser considerada como um tipo de produção em pequena escala, onde esta é bastante utilizada para o desenvolvimento de ensaios em laboratórios de pesquisa principalmente no que se refere a estudos sobre a biologia destes NEPs.

No presente estudo foi realizado um ensaio de infecção *in vivo* utilizando larvas e pupas de *T. molitor*, onde estas foram infectadas por JIs de *H. indica* (linhagem LPP30). O primeiro ponto avaliado foi a mortalidade das larvas e pupas de *T. molitor* quando infectados por NEPs de LPP30. Cinco dias após a infecção foi possível observar a mortalidade tanto de larvas quanto de pupas de *T. molitor*, onde o percentual médio da mortalidade para larvas foi de 30% e para pupas 100%.

Promoção e Realização:

Apoio Institucional:

Organização:

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

A suscetibilidade do inseto a infecção por NEPs pode ser afetada, dentre outros fatores, pelo estágio evolutivo do inseto hospedeiro e por algumas características morfológicas apresentadas por eles (VAN ZYL; MALAN, 2015), dessa forma podemos a partir dos resultados obtidos neste estudo, sugerir que tanto as larvas quanto as pupas de *T. molitor* são suscetíveis a infecção por JIs de LPP30.

A partir da infecção bem-sucedida neste estudo, ainda foi possível avaliar quantitativamente a produção de JIs de LPP30 recuperados de larvas e pupas de *T. molitor*. Os JIs foram recuperados das armadilhas e quantificados diariamente por um período de cinco dias (Figura 1). A quantidade dos JIs de LPP30 obtidos a partir de larvas de *T. molitor* foi 2,5 vezes maior do que a obtida a partir de pupas do mesmo hospedeiro.

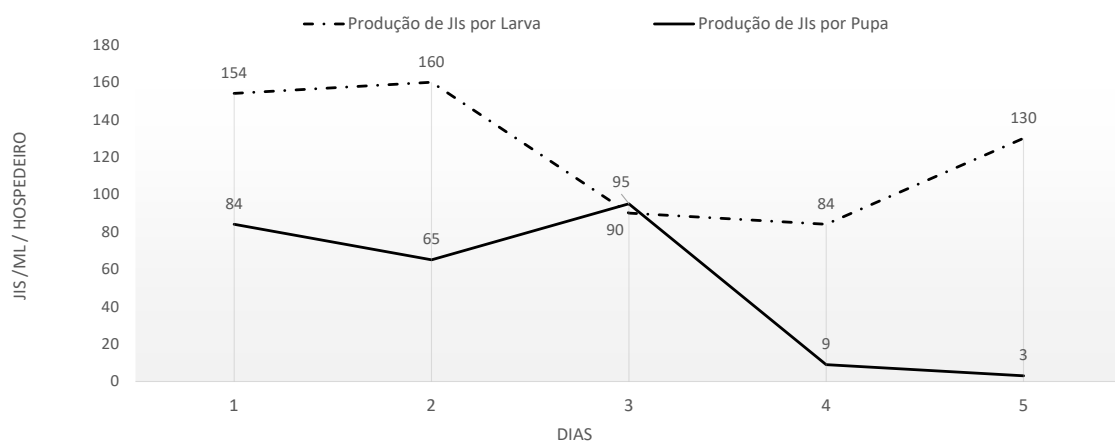


Figura 1- Recuperação de juvenis infectantes (JIs) de nematoides entomopatogênicos (NEPs) da espécie *Heterorhabditis indica* (LPP30) em larvas e pupas de *Tenebrio molitor*.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Van Zyl e Malan (2015) em seu estudo sugerem que o melhor inseto hospedeiro para criação *in vivo* de diferentes espécies de *Heterorhabditis* é *Galleria mellonella*, mas que também apesar de significativamente menor, a partir de *T. molitor* pode-se obter uma produção satisfatória de JIs. No presente estudo pode-se observar que tanto larvas quanto pupas estão suscetíveis a infecção por *H. indica* (LPP30); e ainda que a recuperação de JIs deste NEP em larvas de *T. molitor* é maior do que a recuperação dos mesmos a partir de pupas deste hospedeiro.

Conclusão

As larvas de *T. molitor* podem ser utilizadas como hospedeiros alternativos para a produção *in vivo* de JIs de *Heterorhabditis* spp., porém, existe uma escassez de estudos a respeito da utilização de pupas deste mesmo inseto para esta finalidade. Tendo em vista a possibilidade deste estadio do inseto ser passível de infecção por LPP30, mais estudos devem ser conduzidos, por um maior período, para avaliar a utilização deles como alternativa na produção de JIs.

Referências

DOWDS, B. C. A.; PETERS, A. R. N. E. **Entomopathogenic nematology**. New York, p. 79-98, 2002.

MONTEIRO, C. M. D. O. et al. *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) HP88 for biological control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae): The effect of different exposure times of engorged females to the nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 364-367, 2012.

RANGEL, C. D. F.; ROSA, A. C. S.; SARCINELLI, P. D. N. Uso de agrotóxicos e suas implicações na exposição ocupacional e contaminação ambiental. **Cadernos Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, p. 435-442, 2011.

VAN ZYL, C.; MALAN, A. P. Cost-Effective Culturing of *Galleria mellonella* and *Tenebrio*. **African Entomology**, v. 23, p. 361-375, set 2015.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

