

PATOGENICIDADE E VIRULÊNCIA DE *Steinernema brazilense* (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE) A PRÉ-PUPA E PUPAS DE *Drosophila* *suzukii* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

JOSÉ JUNIOR DOS SANTOS¹; SÉRGIO DA COSTA DIAS²; MAGUINTONTZ
CEDNEY JEAN-BAPTISTE³; ANDRESSA LIMA DE BRIDA⁴; LUIS GARRIGÓS
LEITE⁵; FLÁVIO ROBERTO MELLO GARCIA⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, PPG em Entomologia. E-mail:
j.therion@unochapeco.edu.br

²Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, PPG em Entomologia. E-mail:
sergiodacoxta@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, PPG em Fitossanidade. E-mail:
megceneyjeanbaptiste@yahoo.fr

⁴Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Zoologia e
Genética. E-mail: andressa_brida23@hotmail.com

⁵Instituto de Biológico, Centro experimental, Campinas, SP. E-mail: lgleite@biologico.sp.gov.br

⁶Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia. Departamento de Ecologia, Zoologia e
Genética. E-mail: flaviormg@hotmail.com.

1. INTRODUÇÃO

A *Drosophila suzukii* (MATSUMURA, 1931) teve sua primeira ocorrência descrita no sudoeste asiático (BAKER et al., 2010) e atualmente são encontradas em todas as 6 regiões biogeográficas, com maior abundância em áreas tropicais (CINI et al. 2012). Em meados de 2013 foi relatada a ocorrência da espécie no Brasil, sendo conhecida popularmente por sua preferência a frutos de tegumento frágil como morangos, framboesas, cerejas, amoras, mirtilos e uvas (DEPRÁ et al., 2014). Em casos de ausência de seu hospedeiro apresentam grande plasticidade podendo optar por hospedeiros alternativos (ARNÓ et al., 2016). A abertura produzida durante a oviposição, além de danificar esteticamente o fruto, permite a entrada de microorganismos que causam danos secundários (HAMBLY; BECHER, 2016). Entretanto, o dano principal é causado pelas larvas que se alimentam da polpa do fruto, deste modo a *D. suzukii* passa a assumir uma importante posição como praga agrícola (KAWASE et al., 2007; CINI et al., 2012).

Os métodos de controle mais comuns aplicados a este tipo de praga é através de pulverização de inseticidas químicos (CINI et al., 2012; WALSH et al., 2011). Estes métodos apresentam grande eficiência na mortalidade, porém não possuem especificidade de ação causando morte de outras espécies, além de fazer seleção artificial de organismos resistentes, poluírem o ambiente e serem nocivos a saúde humana (WALSH, 2011; CAPRILE et al., 2014). A partir desse contexto as técnicas de controle biológico apresentam como uma alternativa promissora, pois além de serem eficientes são inofensivos ao ambiente e outros animais (LANTEREN et al., 2017).

Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) vem se destacando por sua grande eficiência, capacidade adaptativa e fácil aplicação, além de apresentarem persistência no ambiente (ZYL; MALAN, 2014; BRIDA et al., 2017). Apresentam comportamento de busca em solo através de mecanismos quimiorreceptores, possuindo grande eficiência a espécies que entram em contato com o solo, além de serem seletivos a determinadas espécies de insetos, não apresentam toxicidade a humanos e ao ambiente (GREWAL et al., 2001). Os NEPs que compreendem a famílias Steinernematidae carregam em seu intestino bactérias simbiotes, do gênero *Xenorhabdus* spp. (Thomas e Poinar) (POINAR; GREWAL 2012). Os juvenis infectantes (JIs) penetram no hospedeiro através de aberturas

naturais liberando a bactéria na hemocele, onde se reproduzem e matam o hospedeiro por septicemia em 24 a 48 horas, após exaustão do recurso os juvenis infectantes abandonam o corpo em busca de um novo hospedeiro (FERREIRA, 2015).

Perante a possibilidade de uso de NEPs, no controle biológico de diversas pragas agrícolas sem causar danos a outras espécies, ambiente ou saúde humana e considerando a importante contribuição com a pesquisa para uso desses agentes biológicos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a patogenicidade de *Steinernema brazilense* a pré-pupa e pupas de *D. suzukii* em areia.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ecologia de Insetos (LABEL) do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética pertencente ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande Sul, Brasil.

O isolado *Steinernema brazilense* foi obtido da Coleção de Nematoides Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. As pupas de *D. suzukii* foram provenientes da criação em laboratório, criadas em potes de vidro semitransparentes (45,7 cm x 28,0 cm x 32,6 cm) e alimentados com dieta artificial conforme a metodologia de ANDREAZZA et al. (2016).

Os juvenis infecciosos (JIs) de *S. brazilense* foram multiplicados em lagartas de *Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae) (quarto e quinto instar) em placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro umedecidas com uma suspensão de 2ml contendo 500 JIs /lagarta. Após inoculação dos JIs, as placas de Petri foram vedadas com papel filme PVC transparente e posteriormente armazenadas em câmara climática BOD a 25 ± 1 ° C, $70 \pm 10\%$ UR no escuro (WOODRING; KAYA, 1988). Após mortalidade os cadáveres foram transferidos para armadilha de WHITE (1927), para emergência de JIs.

O experimento com *D. suzukii* foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e dez repetições por tratamento, em placa de petri (9 cm) contendo 50g de areia autoclavada com umidade de 5%, com cinco pré-pupas e/ou pupas (dois dias de idade), onde foi aplicado suspensão de 1000 JIs/ml de *S. brazilense* IBCBn 06 por repetição. A testemunha foi feita com placas de Petri apenas com areia (50g) umedecida com 2ml de água destilada (sem nematoides). As placas de Petri foram vedadas com papel filme transparente PVC e armazenadas em câmara climática BOD a 25 ± 1 ° C e $70 \pm 10\%$ UR no escuro.

A avaliação foi realizada diariamente e após três dias as pré-pupas e pupas mortas foram dissecadas com água destilada, para a confirmação da causa da morte, e os JIs no interior do cadáver foram quantificados. A avaliação da mortalidade de insetos foi baseada no número de adultos emergidos. 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

O isolado *S. brazilense* IBCBn 06 permitiu 68% de mortalidade em pré-pupas, e de 22% em pupas. A virulência de *S. brazilense* IBCBn 06 foi de 3,53 em pré-pupa e 11,53 em pupa. A pupa de *D. suzukii* apresenta o tegumento mais esclerotizado, o que pode dificultar a infecção dos JIs. Já a pré-pupa apresenta o

tegumento mais frágil, assim facilitando a penetração do nematoide no hospedeiro (HUBNER et al., 2017).

A taxa de infecção de JIs pode variar de hospedeiro e da quantidade de JIs aplicados. Os JIs de *S. brazilense*, permitiu mortalidade de 68% a pré-pupa de *D. suzukii* na concentração de 1000 JIs/ml, entretanto HUBNER et al. (2017) encontraram mortalidade de 2 – 8 % em pupa de *D. suzukii* quando aplicado 4000 JIs/pupa das espécies *S. carpocapsae* e *S. feltiae* no período de 24 à 72 horas. Embora haja eficiência de diferentes espécies de NEPs, *S. feltiae*, *S. carpocapsae* e *S. glaseri*, na supressão de pupas de *D. melanogaster* e *D. suzukii* (GARRIGA, 2017), estudos de CUTHBERTSON et al. (2014) testando *S. carpocapsae* e *S. krausseii*, não resultaram em altas taxas de mortalidades, porém é mencionado a ação positiva na baixa da população de *D. suzukii*. Devemos mencionar que a espécie *S. brazilense* é nativa do Brasil, e ainda requer mais estudos sobre o potencial deste nematoide na supressão de espécies pragas (NGUYEN et al., 2010).

4. CONCLUSÃO

S. brazilense IBCBn 06 permitiu a maior taxa de mortalidade e capacidade de infecção em pré-pupas de *D. suzukii*. Este trabalho contribui com outros estudos para elucidar a eficiência de *S. Brazilense* na supressão de *D. suzukii*, além de contribuir para o avanço e pesquisas com NEPs no Brasil.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREAZZA F, BERNARDI D, BARONIO CA, PASINATO J, NAVA DE, BOTTON M (2017) Toxicities and effects of insecticidal toxic baits to control *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). **Pest Manag Sci** 73:146–152.
- ARNÓ, J.; SOLÀ, M.; RIUDAVETS, J.; GABARRA, R. Population dynamics noncrops hosts, and fruit susceptibility of *Drosophila suzukii* in Northeast Spain. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 3, p. 713–723, 2016.
- BAKER, R., BAUFLED, P., GRASSI, A., GUITIÁN, J. M., HAUSER, M., HUEPPELSHEUSER, T., KNIGHT, J., REYNAUD, P., SUNLEY, R., PETTER, F. (2010). *Drosophila suzukii*(Diptera: Drosophilidae). **Spotted Wing Drosophila**. A pest from the EPPO Alert List.
- BRIDA, A. L. et al. Entomopathogenic nematodes in agricultural areas in Brazil. **Scientific Reports**. 7: 45254, 2017.
- CAPRILE, J.; FLINT, M. L.; BOLDA, M. P.; GRANT, J. A.; STEENWYK, R. V.; HAVILAND, D. Spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*): Provisionary guidelines for management in home and garden. **Agriculture and Natural Resources**, University of California. 2014. <<http://www.ipm.ucdavis.edu/EXOTIC/drosophila.html>>. Acesso em Junho de 2018.
- CUTHBERTSON, A. G. S.; COLLINS, D. A.; BLACKBURN, L. S.; AUDSLEY, N.; BELL, H. A. Preliminary Screening of potential control products against *Drosophila suzukii*. **Insects**, v. 5, p. 488-498, 2014.
- CINI, A.; IORIATTI, C.; ANFORA, G. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. **Bulletin of Insectology**, v. 65, n. 1, p. 149-160, 2012.

- DEPRÁ, M.; POPPE, J. L.; SCHMITZ, H. J.; DE TONI, D. C.; VALENTE, V. L. S. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in South American Continent. **Journal of Pest Science**, v. 87, p. 379-383, 2014.
- FERREIRA, K. D. S.; FERREIRA, T. F.; SOUZA, R. M.; DOLINSKI, C. Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) for control of pink pineapple mealybug adult females, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae), under laboratory conditions. **Nematoda**. 2015.
- GARRIGA, A.; MORTON, A.; GARCIA-DEL-PINO, F. Is *Drosophila suzukii* as susceptible to entomopathogenic nematode as *Drosophila melanogaster*. **Pest Science**, v.91, n.2, p-789-798, 2018.
- GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotrop. Entomol.** 30, 191-205. 2001.
- HAMBY, K. A.; BECHER, P. G. Current knowledge of interactions between *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and microbes, and their potential utility for pest management. **Journal Pest Science** 89(3):621–630. 2016.
- KAWASE, S.; UCHINO, K.; TAKAHASHI, K. Control of cherry *Drosophila*, *Drosophila suzukii*, injurious to blueberry. **Plant Protection**, v. 61, p. 205-209, 2007.
- HÜBNER, A.; ENGLERT, C.; HERZ, A. Effect of entomopathogenic nematodes on different developmental stages of *Drosophila suzukii* in and outside fruits. **Biocontrol**, Darmstadt, Germany. 2017.
- LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KOHL, J.; REVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**. 2017.
- POINAR, G.O.; GREWAL, P.S. History of entomopathogenic nematology. **Journal of Nematology**. v.44, n.2, 153–161, 2012.
- WALSH, D. B.; BOLDA, M. P.; GOODHUE, R. E.; DREVES, A. J.; LEE, J.; BRUCK, D. J.; WALTON, V. M.; O'NEAL, S. D.; ZALOM, F. G. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. **Journal of Integrates Pest Management**, p. 1-8, 2011.
- WOODRING, J.L.; KAYA, H.K. (1988).Steinernematid and heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and Techniques. **Southern Cooperative Series Bulletin**. 331, 30pp, Arkansas, Fayetteville:
- WHITE, G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**.v.66, 302– 303, 1927.
- ZYL, C.V.; 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**. 2014.