

**ESTRATÉGIAS PARA O CONTROLE DE *DIABROTICA SPECIOSA*
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) EM FEIJOEIRO NO OESTE CATARINENSE
COM AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO: ISOLAMENTO, IDENTIFICAÇÃO
E MULTIPLICAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

**TAINÁ HEBEL DA SILVA^{1,2}, GABRIEL PAULI^{2,3}, MARCO AURELIO
TRAMONTIN^{2,4}**

1 INTRODUÇÃO

O feijão é fundamental para a alimentação da população brasileira e geração de renda principalmente para pequenos produtores. No Brasil, a produção é distribuída em todo o País, sendo possível realizar três safras ao ano (CONAB, 2019). Devido aos hábitos culturais, o Brasil se consolida como um dos maiores produtores e consumidores mundiais de feijão, mantendo a produção constante em torno das 3 milhões de toneladas (USDA, 2019).

Dentre as diversas pragas que atacam o feijoeiro e comprometem sua produtividade, a *Diabrotica speciosa* é uma das principais (QUINTELA, 2001). Trata-se de um inseto polífago quando adulto e seletivo quando larva (ÁVILA; MILANEZ, 2004). Os danos são causados tanto na fase de larva quanto na fase de adulto. Quando larva, tem hábitos subterrâneos e alimenta-se das raízes das plantas, o que causa impedimento de absorção de água e nutrientes e comprometendo a sustentação da planta. Quando na fase adulta, causa desfolha nas plantas que reduz o índice de área foliar e conseqüentemente a produtividade. Além dos danos diretos, pode ocasionar danos indiretos por atuar como agente transmissor de patógenos (ROSA, 2010).

Devido a crescente necessidade de buscar uma agricultura mais sustentável, o uso de controle biológico vem crescendo ao longo dos anos. Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) vêm sendo utilizados como forma de controle para pragas de solo (VALICENTE, 2009). Os NEPs são organismos obrigatórios que provocam a morte de pragas devido a relação simbiótica com bactérias que carregam no seu intestino. Na fase inicial, os juvenis infectantes (JIs), estão naturalmente nos solos e podem penetrar nos hospedeiros por aberturas

1Estudante do Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, contato: tainahebel@gmail.com

2Grupo de Pesquisa: NEFIT – Núcleo de Estudos em Fitossanidade.

3Estudante do Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, contato: gabriel.pauli98@gmail.com

4Prof. Dr. em Entomologia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, contato: marco.silva@uffs.edu.br



naturais como boca, ânus e espiráculos. Quando entram no inseto, liberam as bactérias na hemocele do inseto. Dessa forma, as bactérias multiplicam-se e matam o hospedeiro entre 24-72h após a infecção, e assim fornece nutrientes para o desenvolvimento dos NEPs (DOLINSKI, 2006).

A *D. speciosa* apresenta a fase de pupa no solo, podendo ser controlada por nematoides entomopatogênicos, os quais são promissores contra pragas que apresentam parte do seu ciclo de vida no solo (SANTOS, 2009). Os NEPs também agem sobre a fase de larva, a qual é a mais danosa para as culturas que ataca. Diversos estudos vêm sendo conduzidos mostrando que há grande potencial da utilização de NEPs para o controle de larvas de *D. speciosa*.

2 OBJETIVOS

- 1 - Obter alternativas de controle para o principal inseto-praga do feijoeiro no oeste catarinense;
- 2 - Selecionar isolados de nematoides entomopatogênicos (NEPs) em cultivos com feijoeiro;
- 3 - Identificar os NEPs coletados em diferentes pontos da região oeste catarinense.

3 METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no laboratório 103, bloco 4 da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, no período de setembro a dezembro de 2020. Os insetos adultos de *D. speciosa* foram coletados em plantações de feijoeiro, no município de Três Palmeiras-RS, com auxílio de rede entomológica e levados para o laboratório.

Todas as metodologias utilizadas para conduzir a criação dos insetos foram seguidas de acordo com as propostas e aperfeiçoadas segundo NAVA et al., (2016). Os insetos foram acondicionados em gaiolas, com estrutura em madeira e com laterais cobertas por tecido tipo “voile”. No interior da gaiola foram dispostas folhas de feijão e batata doce para alimentação dos adultos, juntamente com placas de Petri contendo uma camada de esponja fina umedecida e sobre esta, gaze de coloração preta para obtenção de ovos. Também foram separados casais de insetos, os quais foram acondicionados em recipientes plásticos cobertos com tecido “voile”, para agilizar a obtenção de ovos e facilitar a visualização e retirada dos ovos.

Para a retirada dos ovos foi feita a lavagem das gazes em água corrente e retidos por um tecido “voile”. Para evitar contaminações, os ovos obtidos foram tratados com sulfato de cobre a 1% durante dois minutos. Depois de tratados, os ovos foram acondicionados em placas de Petri, contendo papel filtro umedecido no fundo para evitar desidratação dos ovos. Em torno de 8,8 dias ocorreu a eclosão dos ovos.

Para o desenvolvimento larval e pupal, estas fases foram acondicionadas em recipientes plásticos contendo vermiculita esterilizada umedecida e plântulas de milho para a alimentação das larvas. Os recipientes contendo as larvas foram mantidos na sala de criação, com temperatura em torno de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.

Após 10 dias as larvas foram trocadas para um novo recipiente, contendo o dobro de vermiculita, água e plântulas. As larvas ficaram nesse recipiente até o 3º instar, sendo que a vermiculita propicia aos insetos a formação da câmara pupal para o estágio de pupa. Em torno de 25 dias depois, ocorreu a emergência dos adultos, os quais eram retirados manualmente das caixas e acondicionados na gaiola novamente.

Para a obtenção dos NEPs foram realizadas coletas de solo em áreas próximas a Chapecó-SC, Palma Sola-SC e Três Palmeiras-RS. As amostras de solo coletadas eram acondicionadas em copos descartáveis, colocando-se três larvas de 3º instar de *Tenebrio molitor*, obtidas da criação do laboratório. Os copos eram cobertos por um tecido “voile” e o solo levemente umedecido, armazenados em temperatura ambiente.

Após sete dias, as larvas eram retiradas dos copos para verificação de mortalidade. Larvas com sintomas característicos de morte por nematoides eram separadas. As larvas selecionadas passavam por tríplice lavagem com hipoclorito de sódio, álcool e água para desinfecção e acondicionadas em placas de Petri para câmara seca, com o objetivo de permitir que o nematoide completasse seu ciclo dentro da larva. As larvas eram colocadas dentro das placas contendo papel filtro no fundo e vedadas com plástico filme, para armazenamento em estufa B.O.D (Biochemical Oxygen Density).

Após 4-5 dias de câmara seca, era feita a armadilha de White, colocando-se água nas placas com as larvas para que se a mortalidade da larva foi ocasionada por nematoide, este vem para o meio aquoso, possível de ser identificado em microscopia estereoscópica. A armadilha de White apresenta tempo variável para começar a emergência de nematoides, sendo feita a verificação das placas com auxílio de microscópio semanalmente (KAYA & STOCK, 1997).

Quando identificado nematoides, a coleta era realizada da seguinte forma: as placas eram lavadas com água destilada, e essa água armazenada em provetas de 1 L. Após, a proveta era mantida em temperatura ambiente para a suspensão, contendo nematoides, decantar até o próximo dia. O excesso de água é então retirado, ficando somente a solução concentrada de nematoides. Obtida a solução concentrada de nematoides, estes passavam para um béquer coberto com papel alumínio para ser armazenado em B.O.D. com temperatura amena, em torno de 14°C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido a situação global da pandemia do coronavírus - Sars-CoV-2, a Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, estava permitindo o exercício de atividades laboratoriais, seguindo todos os protocolos de segurança. Porém, no mês de novembro/2020 o nível de segurança operacional (NSO) do *Campus* subiu para 5 (nível crítico), devido a situação em que Chapecó se encontrava. Dessa forma, as atividades precisaram ser interrompidas e não foi possível obter dados nos meses de execução das atividades, devido ao curto tempo de atividades. Ou seja, metade do tempo disponível da bolsa cedida. Entretanto, foi possível instalar a criação, obter ovos, larvas e isolar nematoides. Também foi possível conduzir a criação de *T. molitor* de forma satisfatória, obtendo as larvas necessárias para os experimentos. Dessa forma, constatamos que o laboratório 103 utilizado, tem plenas condições de conduzir a criação seguindo as metodologias já descritas, as quais são eficientes e podem ser utilizadas.

5 CONCLUSÃO

Diante da situação pandêmica, as atividades precisaram ser interrompidas e não foi possível obter a conclusão desejada em relação aos objetivos propostos pelo projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁVILA, C.J.; MILANEZ, J.M. Larva-alfinete, p. 345-378. In: SALVADORI, J.R; ÁVILA, C.J.; SILVA, M.T.B. da. (eds.). **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa trigo/Embrapa Agropecuária Oeste/Fundacep Fecotrigo, 2004.

CONAB. Volume 7 – Safra 2019 / 2020 Brasília, 2019. **Perspectivas para a agropecuária**, v. 7, p. 102, 2019. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 04 set. 2021.

DOLINSKI, C. Uso de nematoides entomopatogênicos para o controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA, JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. (Org.). **Tecnologias alternativas para o controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, 2006. p.261-289

KAYA, H.K., STOCK, S.P. **Techniques in insect nematology**. In: Manual of techniques in insect pathology. Ed. by Lacey LA, Academic Press, San Diego, CA, 1997, 281–324.

QUINTELA, E. Manejo integrado de pragas do feijoeiro. **Embrapa Arroz e Feijão**, 2001.

NAVA, D. E.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P.; et al. Técnicas de criação de *Diabrotica speciosa*. In: **Diabrotica speciosa**. [S.l: s.n.], p. 197 il, 2016.

ROSA, A. P. S. A. da. Larva alfinete: *Diabrotica speciosa* em milho. **Embrapa Clima Temperado-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2010.

SANTOS, V. **POTENCIAL DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE *Diabrotica speciosa* Germar, 1824 (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)**. 2009. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia) Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2009.

USDA. Brazilian Dry Bean Production. In: Brasília: USDA, 2019.

VALICENTE, F. H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 48-55. **Embrapa Milho e Sorgo - Artigo em periódico indexado (ALICE)**, jul./ago. 2009.

Palavras-chave: *Heterorhabditis*, *Steinernema*, *Phaseolus*, MIP, Controle Biológico.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2020 – 0353.

Financiamento: UFFS.