

PESQUISA DE AGENTES ENTOMOPATOGÉNICOS NA ILHA DO PICO (AÇORES)

JOSÉ S. ROSA

*Departamento de Biologia, Universidade dos Açores, Rua da Mãe de Deus, 13-A
PT - 9500-801 Ponta Delgada, Portugal*

RESUMO

Durante a “Expedição Científica Pico 2005” efectuou-se a recolha de amostras de solo para pesquisar nemátodes entomopatogénicos. Com o designado “*Galleria trap method*” e pela técnica de flutuação-centrifugação re-isolou-se um nemátode do género *Steinernema*. Esse nemátode, *Steinernema carpocapse*, isolado Az27 foi pela primeira vez isolado na ilha do Pico no ano de 1991.

ABSTRACT

A survey for entomopathogens in soil samples was carried during the “Scientific Expedition Pico 2005” as a part of a project of survey and characterization of insect parasites in the Azores. One steinernematid was re-isolated with the “*Galleria trap method*” and flotation centrifugation techniques.

INTRODUÇÃO

A prospecção de agentes parasitas de insectos que se levou a cabo na ilha do Pico inscreve-se num projecto de colecção e caracterização da variabilidade genética destes microrganismos nos Açores, na perspectiva da sua conservação e utilização.

O trabalho realizado consistiu na i) recolha de amostras de solo para pesquisa de novos microrganismos parasitas de insectos, ii) tentativa de re-isolamento dos isolados Az26 (Piedade) e Az27 (S.João), iii) conservação dos microrganismos recolhidos em condições de viabilidade.

Neste relatório referem-se os trabalhos de recolha e de caracterização sistemática de nemátodes entomopatogénicos recolhidos durante a “Expedição Científica Pico 2005”.

MATERIAL E MÉTODOS

Recolha das amostras de solo

Entre 6 e 15 de Junho de 2005 recolheram-se na Ilha do Pico amostras de solo em 43 estações escolhidas ao acaso (Figura 1). Os locais de recolha representam vários tipos de solo e com diverso tipo de ocupação, campo cultivado (milho e outras culturas anuais), pasto e vinha. Cada estação de recolha foi representada por uma área de cerca de 10x10 m

com uma distribuição homogénea da vegetação. Em cada estação fizeram-se entre 10 e 15 amostras parcelares de solo que foram homogeneizadas recuperando-se cerca de 1 kg de solo em sacos de plástico devidamente identificados e transportados ao laboratório para análise.

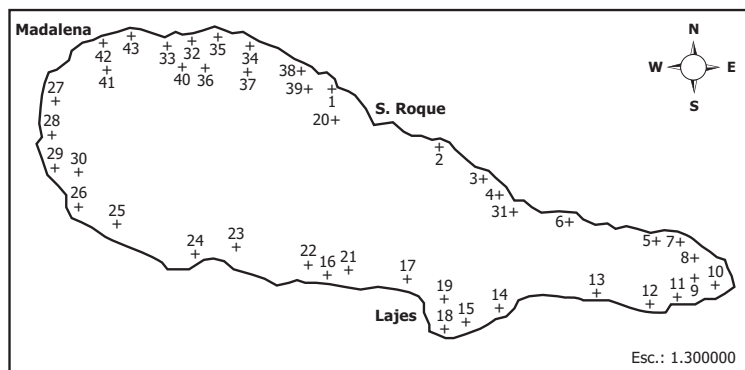


Figura 1. Distribuição das 43 estações de recolha de solo na Ilha do Pico.

Tratamento das amostras para isolamento de nemátodes

Utilizou-se no tratamento das amostras recolhidas a técnica da flutuação-centrifugação (Dalmasso, 1966) e o método da “*Galleria trap*” (Bedding e Akhurst, 1975), no qual 6 larvas de um insecto, *Galleria mellonella*, eram colocadas numa caixa contendo 1 kg de solo e se incubava 8 dias a 22°C, findos os quais os insectos eram recuperados e analisados para identificação de doenças.

As larvas com sintomas de parasitismo causado por nemátodes eram colocadas numa armadilha de White verificando-se diariamente a saída de nemátodes do interior do insecto. Os insectos que apresentavam outros sintomas eram preparados para observação microscópica. Os insectos saudáveis eram deixados a incubar durante 8 dias a 22°C em caixas de Petri individuais com alimento para pesquisa de doenças com revelação tardia.

Identificação dos nemátodes parasitas de insectos

Os isolados de nemátodes parasitas de insectos foram identificados recorrendo à morfologia externa e morfometria do estado infeccioso e do macho adulto. Dos estados infecciosos recuperados procedeu-se à tentativa de obtenção da bactéria simbiote pelo método da gota pendente.

Conservação do material biológico

O material biológico isolado foi conservado segundo técnicas adequadas, os nemátodes foram mantidos em água estéril com arejamento permanente sob temperatura controlada (10°C).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostragem obtida no Pico considera-se satisfatória para o tipo de pesquisa em causa. As amostras distribuem-se por toda a ilha (Figura 1). Das amostras de solo recolhidas 72% apresentavam nemátodes. As amostras positivas estão distribuídas pelos solos com diferentes ocupações (Quadro 1). A maioria dos nemátodes encontrados eram nemátodes de vida livre e fitoparasitas que, como é óbvio, estão fora do alcance deste trabalho.

Quadro 1. Caracterização das estações e recolhas de nemátodes efectuadas.

Estação	Local	Altitude	Habitat	Nemátodes	<i>Steinemema</i>	<i>Heterorhabditis</i>
P1	São Roque	10	Vinha	—	—	—
P2	Prainha de Cima	150	Culturas anuais	+	—	—
P3	Prainha	20	Culturas anuais	—	—	—
P4	Santo Amaro	10	Milho	—	—	—
P5	Ribeirinha	250	Pastagem	+	—	—
P6	Terra Alta	40	Milho	+	—	—
P7	Adegas	50	Vinha	+	—	—
P8	Calhau	30	Vinha	—	—	—
P9	Piedade	100	Culturas anuais	+	—	—
P10	Manhenha	80	Urze	+	—	—
P11	Felreira	50	Vinha	+	—	—
P12	Calheta do Nesquim	80	Milho	—	—	—
P13	Pontas Negras	200	Culturas anuais	+	—	—
P14	Ribeiras	10	Culturas anuais	+	—	—
P15	Santa Bárbara	10	Culturas anuais	+	—	—
P16	São João	10	Vinha	+	+	—
P17	Ribeira do Cabo	70	Culturas anuais	+	—	—
P18	Casteletes	60	Milho	+	—	—
P19	Lajes	10	Culturas anuais	+	—	—
P20	Canárias, São Roque	130	Culturas anuais	+	—	—
P21	Companhia de Baixo	40	Milho	+	—	—
P22	Companhia de Cima	10	Culturas anuais	—	—	—
P23	Terra do Pão	50	Milho	+	—	—
P24	Porto, São Caetano	10	Culturas anuais	+	—	—
P25	Pontinha	40	Vinha	+	—	—
P26	Miraleca	50	Milho	—	—	—
P27	Criação Velha	10	Salgueiros	+	—	—
P28	Tapadas, Criação Velha	40	Vinha	+	—	—
P29	Lajidos, Criação Velha	20	Vinha	+	—	—
P30	Monte	70	Culturas anuais	—	—	—
P31	Santo Amaro	20	Milho	+	—	—
P32	Laje	80	Culturas anuais	+	—	—
P33	São Vicente	100	Culturas anuais	—	—	—
P34	Arcos	10	Urze	—	—	—
P35	Cachorro	10	Urze	+	—	—
P36	Laje	20	Culturas anuais	+	—	—
P37	Canto	80	Culturas anuais	+	—	—
P38	Santa Luzia	120	Culturas anuais	+	—	—
P39	São Roque	10	Milho	+	—	—
P40	Bandeiras	100	Milho	+	—	—
P41	Biscoitos	70	Milho	+	—	—
P42	Toledos	20	Milho	—	—	—
P43	Toledos	10	Vinha	—	—	—

Amostras positivas (+) e negativas (—).

a) Az 27

No tocante a nemátodes entomoparasitas obtivemos um isolado, num campo de vinha situado em S. João (estação *Pico 16*) a 10 m de altitude (Quadros 1 e 2). Com base na combinação das características morfométricas do estado infeccioso e morfológicas do macho este nemátode foi identificado como pertencendo ao género *Steinernema*, espécie *S. carpocapsae*. A ausência de bactéria simbiote associado a um processo infeccioso muito peculiar (Rosa *et al.*, 1994; Simões *et al.*, 2000) leva-nos a considerar que se trata do isolado Az27. Recolhido durante a Expedição Científica Pico 1991 (Martins *et al.*, 1992), o isolado Az27 foi re-isolado pela primeira vez em 1994 (dados não publicados).

Quadro 2. Presença de Nemata no solo, segundo o habitat.

Habitat	Amostras		
	Total	com Nemata	com <i>Steinernema</i>
culturas anuais	29	21	—
vinha	9	6	1
pastagem	1	1	—
outros	4	3	

O material biológico recolhido faz parte da Colecção de Entomopatógenos dos Açores **CEA (DB/UA)**.

REFERÊNCIAS

- BEDDING, R.A. & R.J. AKHURST, 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21: 109-116.
- DALMASSO, A., 1966. Méthode simple d'extraction des nématodes du sol. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 3: 473-478.
- MARTINS, A., C. MENDES, C. RIBEIRO, J.S. ROSA & N. SIMÕES, 1992. Pesquisa de agentes entomopatogénicos na ilha do Pico (Açores). *Relatórios e Comunicações do Departamento de Biologia*, 20: 69-73.
- ROSA, J.S., E. BONIFASSI, N. SIMÕES & C. LAUMOND, 1994. Pathogenicity of an isolate of *steinernema carpocapsae* from the Azores apparently free of *Xenorhabdus*. *VI Int. Colloquium on Invertebr. Pathol. and Microb. Control (XXVIIth SIP Ann. Meeting)*. Montpellier, França (poster).
- SIMÕES, N., C. CALDAS, J.S. ROSA, E. BONIFASSI & C. LAUMOND, 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernema carpocapsae* to *Galleria mellonella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75: 47-54.