



Estudo de Tripanosomatídeos Inferiores em Insetos Fitófagos da Região de Adamantina, São Paulo, Brasil.

Lower Trypanosomatids Study in Phytophagous Insects of Adamantina area, São Paulo State, Brazil

Daniele de Oliveira
Mestre em Microbiologia/UEL
e professora na FAI

Érica Tiemi Hashimoto
Aluna do Curso de Ciências Biológicas da FAI

Vinícius Santana Nunes
Aluno do Curso de Ciências Biológica da FAI

Silmara Camponez
Aluna do Curso de Ciências Biológicas da FAI

Heitor Arakawa
Aluno do Curso de Ciências Biológicas da FAI

Marcel Kasai
Aluno do Curso de Ciências Biológicas da FAI

Resumo

Tripanosomatídeos são protozoários parasitas de insetos, humanos, animais e plantas. Devido ao fato desses protozoários infectarem organismos pertencentes a diferentes Reinos, são de interesse de várias áreas da Ciência. Encontram-se na literatura citações de mais de cem espécies de plantas infectadas por tripanosomatídeos. Além de parasitar plantas, tripanosomatídeos entomofílicos estão normalmente presentes no trato digestivo, e sua associação com os insetos pode variar de um simples comensalismo, até uma alta patogenicidade. Insetos adultos, assim como as ninfas, infectados por tripanosomatídeos sugam as sementes ou frutos, e podem causar descoloração, podridão e queda do fruto, gerando prejuízos econômicos. Tripanosomatídeos comensais intraespecíficos, podem ser patogênicos em populações interespecíficas de insetos, o que possibilita uma

nova perspectiva no biocontrole de pragas agrícolas, uma vez que minimiza o uso de agrotóxicos e seus efeitos nocivos à saúde e ao meio ambiente. O presente trabalho tem como objetivos o estudo da incidência da infecção por tripanosomatídeos em insetos fitófagos da região, isolamento dos tripanosomatídeos a partir da dissecação dos insetos, realização de testes de susceptibilidade de diferentes insetos aos diferentes tripanosomatídeos isolados, e o estabelecimento do ciclo de vida do *Leptoglossus zonata* (Hemiptera Coreidae), inseto considerado praga por agricultores da região.

Palavras-chave: tripanosomatídeos, *Leptoglossus zonata*, insetos fitófagos, controle biológico.

Abstrat

Trypanosomatids are protozoan parasites of insects, animals and plants. Because of fact these



trypanosomatids to infect different organisms belonging different kingdom, they are considered interestingly on most various science areas. In literature, more than 100 species of plants are described infected for trypanosomatids. On the other side, trypanosomatids entomophilies are normally associated with digestive tract and his association with insects can vary of simple commensalisms so hight pathogenicity. Adult insects, and nymphs infected by trypanosomatids, suck the seeds or fruits, and they can cause discoloration, rottenness and fall of the fruit, generating economical damages. Commensals intra-specifics trypanosomatids, can be pathogenic in inter-specifics insects populations, which possibility a new perspective in the biological control of insects, once it minimizes the use of pesticides and their noxious effects to the health and environment. The present work has as objectives the study of the incidence of the infection for trypanosomatíds in phytophagous insects on Adamantina region, isolation of the tripanosomatídeos starting from the dissection of the insects, accomplishment of tests of susceptibilities of different insects to the different isolated trypanosomatids, and the establishment of the life cycle of the *Leptoglossus zonata* (Hemiptera Coreidae), insect considered plague for farmers of the area.

Word-key: trypanosomatids, *Leptoglossus zonata*, phytophagous insects, biological control.

Introdução

A Família Tripanosomatidae está alocada no Reino Protista, Subreino Protozoa, Classe Sarcosporidia e Ordem Kinetoplastida. Algumas espécies de tripanosomatídeos são agentes etiológicos de doenças que acometem humanos, insetos e animais, como por exemplo, Doença de Chagas, Leishmaniose, Doença do Sono. Encontram-se na literatura, citações de mais de 100 espécies de plantas infectadas. No Brasil as detecções, o isolamento e cultivo axênico de tripanosomatídeos foram obtidos de Mandioca (Vainsten *et al* 1984), Tomate (Jankevicius *et al* 1987),

Laranja (Fiorini 1990), Romã (Catarino *et al* 1991) Milho (Itow Jankevicius *et al* 1993), Pitanga (Cavazzana *et al* 1996) entre outras, sendo importante considerar que muitas outras espécies vegetais podem estar parasitadas, porém ainda não foram detectadas devido às pesquisas preferenciais de plantas pertencentes à famílias sabidamente parasitadas, que são de interesse econômico (Jankevicius, 1992).

Em insetos, os tripanosomatídeos estão normalmente presentes no trato digestivo, e sua associação com os insetos pode variar de um simples comensalismo, até uma alta patogenicidade. Os adultos, assim como as ninfas, infectados por tripanosomatídeos, sugam as sementes ou frutos em desenvolvimento, e podem causar descoloração, podridão e queda do fruto (Kubo e Batista 1992). Os cultivos são intensamente afetados, onde as manchas circulares provocadas pela picada destes insetos chegam a inviabilizar a comercialização destes frutos.

O conhecimento da biologia de tripanosomatídeos e insetos é importante por serem responsáveis por prejuízos econômicos na agricultura. Recente trabalho propõe a utilização de tripanosomatídeos inferiores no controle de *Leptoglossus zonata* (Oliveira, D, 2004) um inseto fitófago considerado praga na região e de ampla distribuição.

O *Leptoglossus zonata* é um inseto pertencente a Família Coreidae e importante vetor de tripanosomatídeos. Estes insetos se alimentam de milho, soja, feijão, tomate, guandú e frutas em geral (King & Saunders, 1984), causando uma série de prejuízos na agricultura. O controle biológico utilizando-se de tripanosomatídeos, abre novas perspectivas para o controle de pragas, conquista importante face a conscientização dos impactos ambientais e efeitos nocivos à saúde decorrentes do uso de agrotóxicos.

Material e métodos

a) Coleta e Dissecação dos Insetos

Os insetos fitófagos foram coletados nas propriedades rurais de Adamantina e região, em cultivos



de milho, romã, feijão guandú e pitanga e imediatamente transportados em caixas com tela para o laboratório.

Para dissecação foram utilizados os seguintes materiais: tesoura cirúrgica, pinça, vidro de relógio, borel, pistilo, lâminas, lamínulas, algodão, éter, solução de cloreto de sódio à 0,9% esterilizada, pipetas Pasteur esterilizadas e água destilada.

O trato digestivo foi retirado e macerado com solução de NaCl 0,9%, e o material obtido analisado a fresco em microscópio óptico (objetiva 40x) para diagnóstico da infecção por tripanosomatídeos.

b) Ciclo Biológico do *Leptoglossus zonata*
Machos e fêmeas foram separados em casais e estes acondicionados separadamente em caixas com tela.

Os insetos foram mantidos à temperatura ambiente, com fotoperíodo 12 horas luz/12 escuro, e alimentados com milho e algodão embebido em água destilada. Os dias decorridos desde a postura, eclosão dos ovos, e estágios necessários para que o inseto atinja a fase adulta, foram determinados.

RESULTADOS

a) Insetos coletados e dissecados :

Fonte das imagens: Galo, D (in memoriam), Nakamo, O. *et al.*, Entomologia agrícola 2002



Leptoglossus gonagra



Aetaliom reticulatum



Ninfa de *Piezodorus guildinii*



Piezodorus guildinii



Percevejo verde



DISCUSSÃO



Milho infectado com *Tripanosomatídeo* Fonte: Laboratório de Protozoologia, UEL, 2000

b) Percentual de Insetos Infectados

Dissocados	% Positivos
<i>Leptoglossus zonata</i>	50%
<i>Leptoglossus gonagra</i>	0
<i>Aetalion reticulatum</i>	0
<i>Piezodorus guildinii</i>	0
<i>Percevejo verde</i>	0

Total de insetos dissecados: 68

b) Percentual de Insetos Infectados

Dissocados	% Positivos
<i>Leptoglossus zonata</i>	50%
<i>Leptoglossus gonagra</i>	0
<i>Aetalion reticulatum</i>	0
<i>Piezodorus guildinii</i>	0
<i>Percevejo verde</i>	0

Total de insetos dissecados: 68

Insetos *Leptoglossus zonata* (Hemíptera Coreidae), foram os únicos a apresentarem infecção por tripanosomatídeos. De um total de 54 Insetos dissecados, 27 (50%) apresentaram tripanosomatídeos associados ao trato digestivo, demonstrando portanto alto índice de infecção. Embora a amostra utilizada no experimento seja pequena, revela que os insetos *Leptoglossus zonata* da região de Adamantina são freqüentemente parasitados por estes protozoários entomofílicos, o que pode estar relacionado à perda de parte da produção agrícola.

Em *Leptoglossus gonagra*, assim como, *Aetalion reticulatum*, *Piezodorus guildinii* e *Percevejo verde*, não foram encontrados tripanosomatídeos associados ao trato digestivo. Entretanto, não podemos afirmar que o índice de infecção seja baixo, uma vez que poucos exemplares foram coletados e dissecados.

O ciclo de vida do *Leptoglossus zonata* foi realizado em condições laboratoriais. A média de temperatura durante o experimento foi de 25°C.



O número de dias decorridos desde a postura à eclosão dos ovos, assim como o tempo necessário para que o inseto atinja a idade adulta, foram expressos em valores médios.

Cada fêmea durante a ovoposição, coloca 40 ovos enfileirados, que a princípio apresentam coloração marrom-esverdeada, tornando-se posteriormente marrom-café. Após a postura, 9 dias são necessários para que ocorra a eclosão dos ovos. A passagem das ninfas de primeiro estágio para o segundo é observada decorridos 3 dias após a eclosão. As ninfas de segundo estágio sofrem a muda 8 dias após a primeira ecdise. Uma semana mais tarde ocorre a passagem das ninfas de terceiro estágio para o quarto, sendo que 19 dias após tornam-se adultos. Quatro ecdises são necessárias para que o inseto atinja a fase adulta, transcorrendo para isso, um total de 37 dias após a eclosão dos ovos. O trabalho sobre a estimativa do tempo de vida do inseto ainda está em andamento.

É importante ressaltar que muitas variáveis influenciam no ciclo Biológico do inseto, tais como, estresse do cultivo *in vitro*, temperatura, alimentação e microparasitas (fungos). O mesmo ciclo de vida deverá ser repetido em casas de vegetação, simulando o máximo possível as condições naturais do inseto, e os resultados obtidos serão utilizados com fins comparativos.

Conclusão

-Os insetos *Leptoglossus zonata* da região de Adamantina apresentam alto índice de infecção por tripanosomatídeos: 50% dos insetos coletados e dissecados apresentaram-se positivos

- *Leptoglossus gonagra*, *Aetalion reticulatum*, *Piezodorus guildinii* e *Percevejo verde* coletados e dissecados não apresentaram infecção

-Cada fêmea de *Leptoglossus zonata* coloca em média 40 ovos por ovoposição. O tempo necessário para que o inseto atinja o estágio adulto, é de 37 dias após a eclosão dos ovos (em condições laboratoriais).

Referencias bibliográficas

Catarino, L. M. G. M.; Cacazzana Jr, M.; Santos, M. A.; Ueno, C. T.; Itow Jankevicius, S.; Attias & De Souza, W. 1991. Axenic cultivation and ultrastructure of *Phytomonas* sp from pomegranate (*Punica* sp) and from phytophagous hemipteran *Leptoglossus* sp. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 86 (Suppl I): 271.

Cavazzana Jr, M., Ueno, C. T., Kaneshima, E. N.; Domene, T. G.; Jankevicius J. V & Itow Jankevicius S. 1996. Detection and isolation of protozoan found in Pitanga (*Eugenia* sp Myrtaceae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91(Suppl).

Oliveira, D.; De Souza, T. A.; Murate, L. S.; Jankevicius J. V.; Gaziri, L. J. C.; Itow Jankevicius, S. 2004. Protease and Phospholipase inhibition protect *Venezia zonata* (Hemiptera Coreidae) against septicemia caused by parasite trypanosomatid 563DT. *Journal Invert. Pathol.* Jan, 85 (1): 9-17.

Fiorini, J. E.; Fiorini, C. M.; De Paula, K. F.; Pedreira, R. C.; De Almeida, D. C & Brazil, R. P. 1990. Cultivation of a *Phytomonas* isolated from orange (*Citrus aurantium* L. var. *lunaria*) and *Leptoglossus stigma* (Hemiptera Coreidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 85 (Suppl): 134.

Gallo, D. (*in memoriam*); Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R. P. L.; De Baptista, G. C.; Berti Filho, E.; Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramim, J. D.; Marchini, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. 2002. *Entomologia Agrícola* v10. Piracicaba-Fealq. 920 pp.

Itow Jankevicius, S.; Almeida, M. L.; Jankevicius J. V.; Cavazzana Jr.; Attias, M.; De Souza, W. 1993. Axenic cultivation of trypanosomatids found in corn (*Zea Mays*) and in phytophagous hemipterans (*Leptoglossus zonatus* Coreidae) and their experimental transmission. *J. Euk. Microbiol.* 40(5) : 576-81.

Jankevicius, J. V. Ciclo Biológico de *Phytomonas serpens*. São Paulo, 1992. *Tese de Doutorado*



Escola Paulista de Medicina.

Jankevicius J. V.; Itow Jankevicius S.; Carmo, J.B.; Conchon, I.; Maeda, L. A.; Campaner, M.; Camargo, E. P. Roitman, I. 1987. "In vitro" culture of *Phytomonas* of Solanaceae. IN: Dollet, M & Wallace, F. G. 1987. Compte rendu du Premier *Phytomonas* Workshop-Cayene, mars 1987. *Oleagineux* 42:461-8.

King, A.B.S. & Saunders, J.L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en

América Central. Londres, Overseas Development Administration. p.p. 182.

Kubo, R. K & Batista, F. A. 1992. Ocorrência e danos provocados por *Leptoglossus zonatus* (Dallas, 1852) (Hemíptera Coreidae) em *citrus*. *Annais Soc. Entomol. Brasil* 21, 467-470.

Vainsten, M. H.; Roitman, I. 1986. Cultura de *Phytomonas sp* isolada de mandioca com sintomas de chochamento das raízes. *Fitopatol. Brasil* 9: 428.