



**Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Ecologia**

**Ecologia do gafanhoto *Stiphra robusta* (Orthoptera:  
Proscopiidae) e seu controle biológico com o fungo  
entomopatogênico *Metarhizium flavoviride*  
(Hyphomycetes)**

**Sérgio Vicentini**

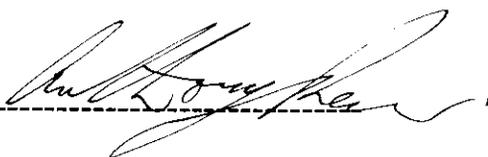
**Dissertação apresentada ao  
Departamento de Ecologia da  
Universidade de Brasília, como  
requisito parcial à obtenção do  
título de Doutor em Ecologia.**

**Brasília  
1999**

Trabalho realizado junto ao Departamento de Ecologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob a orientação do Dr. Anthony Raw, com suporte financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa e Tecnologia (CNPq).

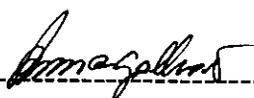
Aprovado por:

Dr. Anthony Raw  
Orientador e Presidente da Banca – UnB



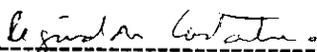
Handwritten signature of Dr. Anthony Raw, written in black ink over a dashed horizontal line.

Dr. Bonifácio P. Magalhães  
Membro Titular da Banca



Handwritten signature of Dr. Bonifácio P. Magalhães, written in black ink over a dashed horizontal line.

Dr. Reginaldo Constantino  
Membro Titular da Banca



Handwritten signature of Dr. Reginaldo Constantino, written in black ink over a dashed horizontal line.

Dra. Ivone Resende Diniz  
Membro Titular da Banca



Handwritten signature of Dra. Ivone Resende Diniz, written in black ink over a dashed horizontal line.

Dra. Helena Castanheira de Moraes  
Membro Titular da Banca



Handwritten signature of Dra. Helena Castanheira de Moraes, written in black ink over a dashed horizontal line.

**À minha esposa Katia, uma  
mulher especial que sempre me  
incentivou a atingir a distante  
linha do horizonte, estendendo  
sua mão nos difíceis e inúmeros  
momentos deste trabalho.**

## Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de pós-graduação cedida durante todo o período de realização do Curso de Doutorado.

Ao Departamento de Ecologia, Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, pelo suporte financeiro, técnico e científico durante o decorrer deste trabalho.

À EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia – pelo projeto inicial que culminou neste trabalho de Tese. Além disso, esse órgão também proveu parte do suporte financeiro, técnico e científico.

Ao orientador e amigo, Dr. Anthony Raw, cujo espírito científico independente e capacidade de visualizar temas de estudo, bem como seus conselhos, indicaram os melhores caminhos para execução dos trabalhos desta tese.

Ao co-orientador, Dr. Bonifácio Peixoto Magalhães (EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia), cuja amizade, já de outras épocas, muito me orgulha e que, sempre acoplada de seu grande valor científico, apoiou em todos os momentos de minha formação.

Ao amigo Marcos Faria (EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia), principalmente pelo apoio oferecido no final deste trabalho, fundamental para sua conclusão, assim como pela oportunidade de continuação em pesquisas de controle biológico.

À EMPARN – Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte – pelo espaço físico e técnico cedidos. Em especial, agradeço ao Dr. José Flamarion de Oliveira, por ter gentilmente cedido o espaço físico da Estação Experimental do Jiqui, local de realização da maior parte dos trabalhos desta Tese, bem como pelo incentivo e crédito na sua finalização.

Em profundo reconhecimento, agradeço ao amigo Mário Sérgio Nascimento de Oliveira, gerente responsável pela Estação Experimental do Jiqui, pela camaradagem e companheirismo. Os momentos vividos nestes dois anos de convivência nessa Estação serão sempre bem lembrados.

Não poderia deixar de lembrar e agradecer aos também amigos da Estação do Jiqui, Tarcísio da Silva e Juvêncio Alves Neto, companheiros diários que acompanharam e auxiliaram este trabalho.

Aos amigos Maria de Fátima Pinto Barreto e José Francisco da Silva Sobrinho, sempre dispostos à uma boa coleta de insetos no campo. Sua ajuda foi essencial e crucial para o desenrolar deste trabalho.

Aos grandes amigos Diná e Marcos Moreira e seus filhos Alessandra e Fabinho (nossa segunda família em Natal), pela acolhida, pelos inúmeros momentos felizes e pela valorosa ajuda em vários aspectos durante nossa permanência nesta cidade.

Ao recente mas caro amigo, Dr. Dermeval Aparecido do Carmo (Laboratório de Micropaleontologia da Universidade de Brasília), pelo auxílio da editoração de muitas das figuras compreendidas nesta Tese.

Aos meus queridos pais, irmãos e parentes, por apostarem e incentivarem a minha formação, sempre me auxiliando nos inúmeros momentos da minha vida.

Aos meus preciosos parentes indiretos (sogra, sogra, cunhados e mais 500 tios e primos), que mais uma vez apostaram e me apoiaram durante o passar dos meses, acreditando na conclusão de mais esta etapa. Que eu possa, no futuro, corresponder e agradecer os momentos mais brandos que eles proporcionaram.

Minhas mais sinceras desculpas pela omissão daqueles que, de uma forma ou de outra, me ajudaram na elaboração, execução e finalização deste trabalho e que, por injusto esquecimento, me fogem à lembrança. O meu mais sincero agradecimento.

# Índice

Resumo geral .....	1
General abstract .....	2

## Capítulo I - Introdução Geral - A praga de gafanhotos: Histórico e Controle

---

Resumo .....	4
Abstract .....	5
1 - O problema das pragas .....	6
2 - O controle dos gafanhotos .....	9
2.1 - Controle químico .....	9
2.1.1 - Vantagens e desvantagens dos inseticidas químicos .....	10
2.2 - Controle biológico .....	14
2.2.1 - Vantagens e desvantagens do uso de microrganismo .....	15
2.3 - Principais entomopatógenos de gafanhotos.....	17
3 - Controle do gafanhoto <i>Stiphra robusta</i> .....	21
3.1 - Controle biológico de <i>Stiphra robusta</i> .....	22

## Capítulo II - Estudos ecológicos do gafanhoto *Stiphra robusta*

---

Resumo .....	26
Abstract .....	27
1 - Introdução .....	28
1 - Área de estudo .....	31
2 - História natural de <i>Stiphra robusta</i> .....	35
3 - Distribuição geográfica atual .....	38
II - Material e Métodos .....	40
1 - Coleta de ovos e insetos adultos .....	40
2 - Criação dos insetos .....	41
3 - Estudos ecológicos de <i>Stiphra robusta</i> .....	42
3.1 - Profundidade de incubação dos ovos .....	42
3.2 - Viabilidade e longevidade dos ovos .....	43
3.3 - Comportamento sexual e capacidade reprodutiva ...	44
3.4 - Número de estádios e intervalo entre mudas .....	46
III - Resultados .....	47
1 - Profundidade de incubação dos ovos .....	47
2 - Viabilidade e longevidade dos ovos .....	50
3 - Comportamento sexual e capacidade reprodutiva .....	54
4 - Número de estádios e intervalo entre mudas .....	63
IV - Discussão .....	64
1 - Influência abiótica sobre os ovos .....	64
2 - Viabilidade e longevidade dos ovos .....	67
3 - Dinâmica populacional de <i>Stiphra robusta</i> .....	70

4 - Maturação sexual .....	73
V - Conclusões .....	75

**Capítulo III - Uso do fungo *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes) no controle biológico do gafanhoto *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae)**

---

Resumo .....	80
Abstract .....	81
I - Introdução .....	82
II - Material e Métodos .....	89
1 - Obtenção de <i>Metarhizium flavoviride</i> .....	89
2 - Estudos de laboratório .....	89
2.1 - Processo infectivo .....	89
2.1 - Efeito da temperatura no processo infectivo .....	90
2.3 - Horário de aplicação do patógeno .....	90
2.4 - Preferência alimentar .....	91
2.5 - Influência da infecção sobre o consumo foliar .....	92
2.6 - Virulência dos conídios expostos ao meio ambiente .....	93
2.7 - Comportamento dos insetos sob pulverização .....	94
III - Resultados .....	95
1 - Processo infectivo .....	95
2 - Efeito da temperatura no processo infectivo .....	97
3 - Horário de aplicação do patógeno .....	99
4 - Preferência alimentar .....	101
5 - Influência da infecção sobre o consumo foliar .....	102
6 - Virulência dos conídios expostos ao meio ambiente ...	104
7 - Comportamento dos insetos sob pulverização .....	106
IV - Discussão .....	109
1 - Processo infectivo .....	109
2 - Efeito da temperatura no processo infectivo .....	110
3 - Horário de aplicação do patógeno .....	112
4 - Preferência alimentar .....	113
5 - Influência da infecção sobre o consumo foliar .....	113
6 - Virulência dos conídios expostos ao meio ambiente ...	115
7 - Comportamento do gafanhoto sob pulverização .....	116
V - Conclusões .....	117
VI - Conclusões Gerais .....	119
VII - Bibliografia citada .....	122

# Índice de Figuras

## Capítulo I – Introdução Geral - A praga de gafanhotos: Histórico e Controle

---

- Figura 1 -** Ocorrência de surtos de gafanhotos no Brasil ..... 7

## Capítulo II – Estudos ecológicos do gafanhoto *Stiphra robusta*

---

- Figura 2 -** Fêmea e macho adultos do gafanhoto *Stiphra robusta* ..... 29
- Figura 3 -** Variação mensal da média diária da temperatura e precipitação pluviométrica ocorrida na Estação Experimental do Jiqui durante os anos de 1996 e 1997 ..... 34
- Figura 4 -** Variação mensal da média diária da umidade relativa ocorrida na Estação Experimental do Jiqui durante os anos de 1996 e 1997 ..... 35
- Figura 5 -** Influência da profundidade de incubação de ovos de *Stiphra robusta* sobre a taxa de eclosão de ninfas ..... 47
- Figura 6 -** Influência da profundidade de incubação de ovos de *Stiphra robusta* sobre o tempo necessário para ocorrer eclosão das ninfas ..... 48
- Figura 7 -** Viabilidade de ovos de *Stiphra robusta* colhidos no campo e no laboratório em relação aos insetos que atingiram a fase adulta .... 50
- Figura 8 -** Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do campo, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre o tempo necessário para eclosão ... 51
- Figura 9 -** Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do campo, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre a porcentagem eclosão de ninfas . 52
- Figura 10 -** Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do laboratório, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre o tempo necessário para eclosão de ninfas ..... 53
- Figura 11 -** Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do laboratório, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre a porcentagem eclosão ..... 54
- Figura 12 -** Variação do número de posturas de *Stiphra robusta* produzidas por 15 fêmeas mantidas em cativeiro desde o início da fase reprodutiva até sua morte ..... 55
- Figura 13 -** Número máximo e médio de ovos de *Stiphra robusta* produzidos durante um ciclo reprodutivo ..... 56
- Figura 14 -** Porcentagem de machos e fêmeas de *Stiphra robusta* eclodidos a partir de ovos de posturas colhidas no campo e no laboratório .... 58
- Figura 15 -** Análise da freqüência do número de ovos de *Stiphra robusta* normalmente presentes em 242 posturas colhidas no campo ..... 59

<b>Figura 16</b> - Análise da frequência do número de ovos de <i>Stiphra robusta</i> presentes em 120 posturas obtidas no campo .....	60
<b>Figura 17</b> - Frequência do número de ovos de <i>Stiphra robusta</i> em relação ao comprimento de 242 posturas colhidas no campo .....	61
<b>Figura 18</b> - Frequência do número de ovos de <i>Stiphra robusta</i> em relação ao comprimento de 242 posturas colhidas no laboratório .....	61
<b>Figura 19</b> - Ciclo biológico do gafanhoto <i>Stiphra robusta</i> .....	77

### Capítulo III - Uso do fungo *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes) no controle biológico do gafanhoto *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae)

---

<b>Figura 20</b> - Exemplos de fungos entomopatogênicos do gênero <i>Metarhizium</i> .....	84
<b>Figura 21</b> - Ciclo das relações patógeno-hospedeiro .....	85
<b>Figura 22</b> - Desenvolvimento de <i>Metarhizium flavoviride</i> sobre cutícula de <i>Stiphra robusta</i> .....	95
<b>Figura 23</b> - Desenvolvimento interno de <i>Metarhizium flavoviride</i> em cavidades e tecidos de <i>Stiphra robusta</i> .....	96
<b>Figura 24</b> - Influência da temperatura sobre a taxa de infecção de <i>Metarhizium flavoviride</i> sobre <i>Stiphra robusta</i> em condições de laboratório .....	97
<b>Figura 25</b> - Influência da temperatura sobre a virulência de <i>Metarhizium flavoviride</i> aplicado em <i>Stiphra robusta</i> .....	98
<b>Figura 26</b> - Consumo foliar de <i>Stiphra robusta</i> após 12 horas de exposição a dois períodos de alimentação .....	99
<b>Figura 27</b> - Infecção de <i>Stiphra robusta</i> em seus diferentes estádios após 12 horas de exposição a dois períodos de alimentação com folhas de cajueiro contendo conídios de <i>Metarhizium flavoviride</i> .....	100
<b>Figura 28</b> - Preferência alimentar de <i>Stiphra robusta</i> entre folhas pulverizadas e não pulverizadas com <i>Metarhizium flavoviride</i> após 10 horas de consumo .....	102
<b>Figura 29</b> - Consumo foliar de <i>Stiphra robusta</i> após aplicação de suspensão de <i>Metarhizium flavoviride</i> em condições de campo .....	103
<b>Figura 30</b> - Infecção acumulada de ninfas de VII estágio de <i>Stiphra robusta</i> após 7 dias da inoculação com suspensão $5 \times 10^8$ conídios/ml de <i>Metarhizium flavoviride</i> .....	104
<b>Figura 31</b> - Infecção de <i>Metarhizium flavoviride</i> sobre <i>Stiphra robusta</i> após alimentação com folhas de cajueiro mantidas em tempos crescentes de exposição ao meio ambiente .....	105
<b>Figura 32</b> - Virulência de conídios de <i>Metarhizium flavoviride</i> aplicados em folhas de cajueiro expostas ao meio ambiente .....	106
<b>Figura 33</b> - Curva de crescimento de <i>Stiphra robusta</i> em ambos os sexos, desde a eclosão até a fase adulta .....	108

# Índice de Tabelas

## Capítulo I - Introdução Geral - A praga de gafanhotos: Histórico e Controle

---

Tabela 1 -	Principais projetos de controle de pragas no Brasil utilizando fungos entomopatogênicos .....	20
------------	---	----

## Capítulo II - Estudos ecológicos do gafanhoto *Stiphra robusta*

---

Tabela 2 -	Principais características morfológicas utilizadas para descrição de <i>Stiphra robusta</i> .....	29
Tabela 3 -	Nomes vulgares utilizados para o gafanhoto <i>Stiphra robusta</i> nas diferentes localidades dos Estados do nordeste .....	38
Tabela 4 -	Espécies vegetais freqüentemente observadas sob ataque de <i>Stiphra robusta</i> .....	39
Tabela 5 -	Quebra de dormência de ovos de <i>Stiphra robusta</i> obtidos em laboratório através da manutenção da umidade no solo de ovoposição .....	49
Tabela 6 -	Número de dias de intervalo entre posturas de 15 fêmeas estudadas durante o período de vida fértil, a partir do ato da primeira cópula .....	57
Tabela 7 -	Tabela de vida de fertilidade baseada na análise de 15 fêmeas de <i>Stiphra robusta</i> .....	62
Tabela 8 -	Número de dias necessários para mudança de fase ninfal entre indivíduos de <i>Stiphra robusta</i> eclodidos a partir de ovos colhidos no campo e laboratório .....	63

## Capítulo III - Uso do fungo *Metarhizium flavoviride* no controle biológico de *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae)

---

Tabela 9 -	Teste de agilidade de <i>Stiphra robusta</i> no solo, em seus diferentes estádios, após a pulverização de 3 ml de água por inseto com aparelho micro-ulva .....	107
------------	---	-----

## Ecologia do gafanhoto *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae) e seu controle biológico com o fungo entomopatogênico *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes).

**Resumo geral.** Diante dos diversos problemas de poluição ambiental ocorridos no Brasil e em vários países devido ao uso de produtos químicos na agricultura e pecuária, o desenvolvimento de novas estratégias de controle de pragas se fez necessário, dando oportunidade ao surgimento do controle biológico. Com o isolamento do fungo entomopatogênico *Metarhizium flavoviride* de cadáveres do gafanhoto *Schistocerca pallens* (Orthoptera: Acrididae), foi possível ampliar o estudo de controle biológico para outras espécies de gafanhotos considerados praga no país, como *Stiphra robusta*, objeto de estudo deste trabalho. Para isso, foram analisados a reprodução e desenvolvimento do inseto e a viabilidade do uso do fungo entomopatogênico *M. flavoviride*. Após a coleta de posturas no campo, os estudos de laboratório iniciaram-se com a determinação da profundidade ideal de incubação dos ovos em solo arenoso. Incubações entre 11 e 5 cm proporcionaram 95% a 97% de eclosões de ninfas, respectivamente. A 3 e 1 cm, a eclosão foi de apenas 74% e 23%. Para ovos do campo, profundidades de 11 a 5 cm resultaram num tempo de incubação de 36 a 37 dias, subindo para 40 a 69 dias em profundidades de 3 e 1 cm. Ovos obtidos em laboratório necessitaram de um maior tempo de incubação, variando de 87 a 93 dias para profundidades de 11 a 5 cm. A 3 e 1 cm, o tempo de incubação foi de 123 a 177 dias. Os ovos apresentaram alta viabilidade, produzindo cerca de 97% de ninfas que resultaram em 92% de insetos adultos. No entanto, o armazenamento dos ovos no laboratório em solo seco afetou sua longevidade, decaindo com o passar dos meses. Estudos de capacidade reprodutiva em laboratório revelaram um número mínimo de 5 e máximo de 8 posturas, com um total de 155 a 535 ovos. Após a eclosão, o inseto passou por 7 estádios ninfais, levando até 106 dias para atingir a fase adulta e com um ciclo de vida de 7 a 8 meses. Taxas de até 100% de infecção foram obtidas a 27°C e 32°C, com início da mortalidade a partir do 5º dia. No entanto, a 17°C e 22°C, houve redução para 25% e 83% da taxa de infecção, respectivamente. A persistência de *M. flavoviride* também foi afetada em condições de campo, variando de 3 dias para ocasionar início da mortalidade no tratamento sem exposição do patógeno ao ambiente a até 11 dias no tratamento com 4 dias de exposição, quando não mais se verificou mortalidade. Seu potencial em causar infecção foi mais evidente em aplicações diurnas de conídios (91%), em comparação ao período noturno (4,7%). Esta diferença resultou em 55,6% e 3,94% de área foliar consumida entre o período diurno e noturno, respectivamente. O consumo reduziu após a aplicação do fungo (de 64% para 48%), com interrupção da alimentação a partir do 4º dia. Com 4 dias de exposição do fungo ao meio ambiente, a taxa de infecção caiu de 83% para 57%.

## Ecology of the grasshopper *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae) and its biological control with the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes).

**General abstract.** Considering diverse environmental pollution problems registered in Brazil and other countries due to use of chemicals in agriculture and livestock, the development of new pest control strategies is necessary, and biological control has emerged as an alternative. Following isolation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride* from cadavers of the grasshopper *Schistocerca pallens* (Orthoptera: Acrididae) it was possible to extend studies on biological control to other grasshopper pests, such as *Stiphra robusta*, the target of this work. In order to do that, reproduction and development of this insect were analyzed as well as the feasibility of using the fungus *M. flavoviride*. After collecting egg pods in the field, laboratory studies were initiated by determining the ideal deep for egg incubation in sandy soil. Incubations between 11 and 5 cm resulted in hatching rates varying from 95% to 97%, respectively. At 3 and 1 cm, hatching was only 74% and 23%. For eggs collected in the field, deeps from 11 to 5 cm led to incubation periods varying from 36 to 37 days, whereas it varied from 40 to 69 days at 3 and 1 cm. Eggs obtained at laboratory conditions needed a larger incubation period, varying from 87 to 93 days at 11 and 5 cm. At 3 and 1 cm, incubation period was 123 and 177 days. Eggs showed a high viability, resulting in approximately 97% nymphs and, from those, 92% reached the adult stage. However, storage under laboratory conditions of eggs in dried soil affected their longevity as time passed by. Reproduction capacity studies in the laboratory, revealed that females lay a minimum of 5 egg pods and a maximum of 8, and a total of 155 to 535 eggs are obtained per female. Following emergence, insects went through 7 nymphal instars, taking up to 106 days to reach the adult stage, with a life cycle from 7 to 8 months. Infection rates up to 100% were observed at 27°C and 32°C, with mortality onset at the fifth day. However, at 17°C and 22°C, there was a reduction in infection rates to 25% and 83%, respectively. Performance of *M. flavoviride* was affected by environmental factors, and mortality onset varied from 3 days in the treatment without conidial exposition to 11 days in treatment in which conidia were exposed during 4 days, after which mortality was no longer recorded. Better results were obtained when conidia were applied during the days (91%), in comparison to night applications (4.7%). This difference resulted in 55.6% and 3.94% of leaf consumption between day and night applications, respectively. Food consumption was reduced following fungal application (from 64% to 48%), and leaf ingestion was not observed from day 4<sup>th</sup> on. After 4 days exposure of conidia under field conditions, infection rate dropped from 83% to 57%.

## **Capítulo I**

### **INTRODUÇÃO GERAL**

#### **A PRAGA DE GAFANHOTOS: Histórico e Controle**

## A praga de gafanhotos: Histórico e Controle

**Resumo.** Diante dos diversos problemas de poluição ambiental ocorridos em vários países do mundo, devido ao uso em grande escala de produtos químicos na agricultura e pecuária, o desenvolvimento de novas estratégias de controle de pragas e doenças se fez necessário. No Brasil, o constante embargo do uso desses produtos químicos, principalmente contra pragas de gafanhotos, estimulou o desenvolvimento de programas de controle biológico com entomopatógenos. Estes se caracterizam por não poluírem o meio ambiente, uma vez que são de livre ocorrência na natureza. Além disso, são específicos, atacando apenas uma determinada espécie de inseto e, portanto, não atuando contra seus outros prováveis inimigos naturais. O Brasil possui um grande número de microrganismos potenciais para o uso em programas de controle biológico (protozoários, nematóides, rickétsias, bactérias, vírus e fungos). Isso, devido principalmente ao excelente clima e à diversidade de ecossistemas. Dentre eles, os fungos (mais de 90 gêneros e 700 espécies) foram os primeiros a serem utilizados em programas de controle biológico. A partir do isolamento do fungo *Metarhizium flavoviride* de cadáveres do gafanhoto do nordeste *Schistocerca pallens*, foi possível ampliar o estudo de controle biológico em outras espécies de gafanhotos considerados praga no país. O sucesso observado nos primeiros trabalhos de controle realizados com o gafanhoto do Mato Grosso *Rhammatocerus schistocercoides*, usando *M. flavoviride* também incentivou a elaboração de novas pesquisas contra *Stiphra robusta*, de ocorrência comum em toda a região nordeste do Brasil e objeto de estudo deste trabalho. Para isso, duas linhas de pesquisas foram adotadas: 1) estudos de reprodução e desenvolvimento do inseto alvo, determinando-se as características de seu ciclo biológico e (2), estudo da viabilidade do uso do fungo entomopatogênico *M. flavoviride*, observando-se principalmente a influência do meio ambiente sobre a manutenção da patogenicidade e virulência desse microrganismo.

## The pest of grasshoppers: Historical and Control

**Abstract.** Considering diverse environmental pollution problems registered in Brazil and other countries due to use of chemicals in agriculture and livestock, the development of new pest control strategies is necessary, and biological control has emerged as an alternative. Brazil have a great number of potential microorganisms for use in biological control programs (mainly fungus), by virtue to excellent climate and ecosystems diversity. Fungus are over 90 genus and 700 species, first order utilized in biological control programs. Following isolation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride* from cadavers of the grasshopper *Schistocerca pallens* (Orthoptera: Acrididae) it was possible to extend studies on biological control to other grasshopper pests, such as *Stiphra robusta*, the target of this work. In order to do that, reproduction and development of this insect were analyzed as well as the feasibility of using the fungus *M. flavoviride*.

## *1 - O problema das pragas*

O Brasil conheceu de perto vários problemas causados por pragas ocorridas em seu sistema agropecuário. Para recordarmos alguns, na cultura canavieira tivemos os tripses, os ácaros, as cigarrinhas, as brocas, entre outros. Na citricultura, os cupins, as brocas e os gorgulhos. A pecuária também sofreu problemas com a mosca do chifre. Do mesmo modo, as pastagens não ficaram isentas do ataque das cigarrinhas e cupins. Os coqueirais apresentam problemas de besouros vetores, além de tantas outras culturas e pragas não menos importantes. No entanto, muitas dessas pragas foram erradicadas ou mantiveram-se controladas. Algumas porém, ainda permanecem de forma endêmica em certas regiões e, de tempos em tempos, podem ressurgir como epidemia.

Um exemplo típico dessa possibilidade é o da praga de gafanhotos ocorrida em alguns estados do Brasil (Cosenza *et al.* 1994), bem como em muitas outras regiões tropicais do mundo, em geral, em países africanos e asiáticos (Prior & Streett 1997).

De um modo geral, os gafanhotos estão presentes em agroecossistemas de muitos países, sendo encontrados principalmente nas regiões mais secas. Dessa forma, as principais espécies tidas como pragas ocorrem na África e Índia, sendo o seu principal representante, o gafanhoto *Schistocerca gregaria* (Showler 1995). Também na África, *Locusta migratoria* tem resultado em sérios prejuízos agrícolas (Zimmermann *et al.* 1994, Prior & Streett 1997). A Austrália tem enfrentado problemas com gafanhotos das espécies *Chortoicetes terminifera* e *Phaulacridium vittatum* (Milner 1997). A América do Norte, com *Melanoplus sanguinipes* (Inglis

et al. 1997a) e América do Sul, com *Schistocerca pallens* e *Rhammatocerus schistocercoides* também não ficaram isentas de ataques severos desses insetos (Cosenza et al. 1994, Miranda et al. 1996).

No Brasil, a história dos gafanhotos data apenas de pouco mais de meio século (Duranton et al. 1987). Os primeiros registros ocorreram em 1938 e 1946 (Figura 1), quando nuvens de *Schistocerca cancellata* migraram da Argentina e Paraguai para o sul do Brasil, atingindo Minas Gerais, causando as infestações clássicas de 1942 e 1971/74 (Fornari 1986).

## O gafanhoto no Brasil

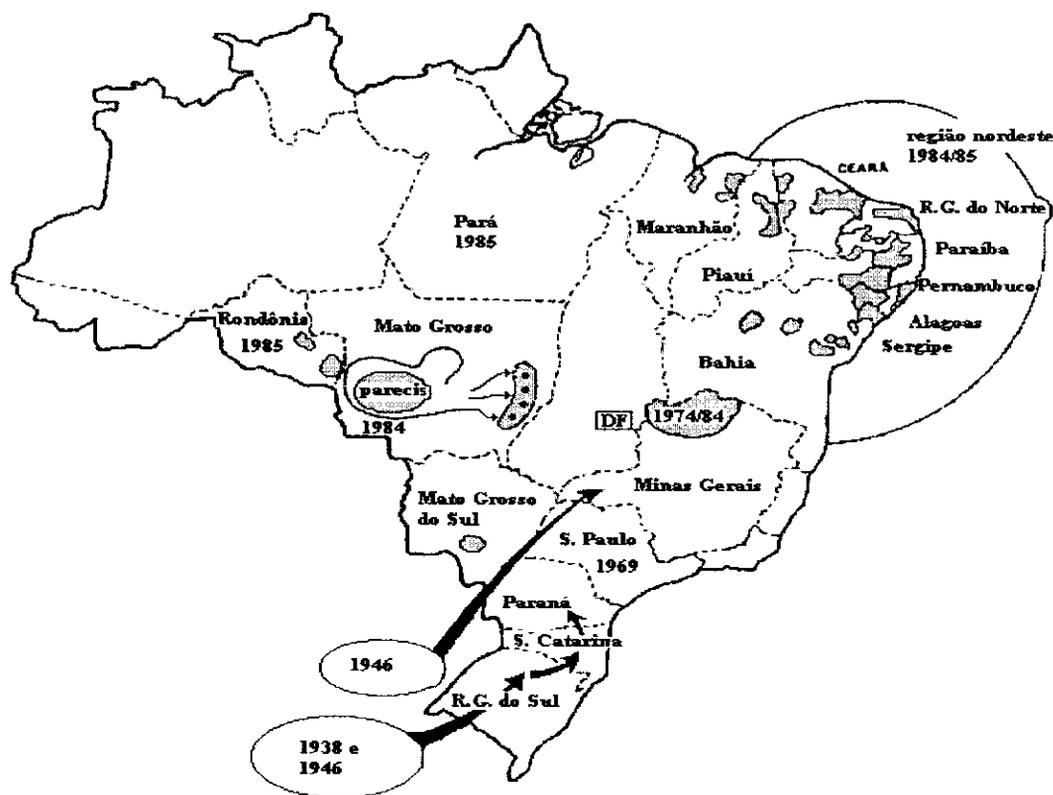


Figura 1. Ocorrência de surtos de gafanhotos no Brasil. Extraído de Fornari (1986).

Outra grave infestação ocorreu em 1985 e 1986 em Pernambuco, Piauí e Paraíba, com o ataque de *S. pallens* (Cosenza *et al.* 1994). Ainda segundo o autor, em 1991/92 o Rio Grande do Sul registrou ataques de *Rhammatocerus conspercus*, *Rhammatocerus pictus* e *Staurorhectus longicornis*. No entanto, o Mato Grosso enfrentou a mais séria infestação de gafanhotos ocorrida em 1984/88, quando nuvens de *R. schistocercoides* migraram da reserva indígena dos Parecis para a região de Diamantino, causando prejuízos em cerca de 2 milhões e 100 mil hectares (Cosenza *et al.* 1990). Estas infestações têm ressurgido de tempos em tempos, estendendo-se até os dias de hoje e resultando em prejuízos alarmantes.

Além dessa grave infestação no Mato Grosso, outro grave problema com a ocorrência e ressurgimento de gafanhotos tem sido notado na região nordeste do Brasil, principalmente em Pernambuco, Paraíba, Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte, onde um número apreciável de espécies está presente (Lecoq 1986). Dentre essas, *Schistocerca pallens* e *Stiphra robusta* têm se destacado como insetos com potencialidade para se tornarem pragas, causando recentemente prejuízos em torno de 500.000 ha cultiváveis (Launois 1984, Cosenza *et al.* 1994).

Nessa região, a ocorrência desses surtos certamente está relacionada com o favorecimento das condições climáticas, tendo porém, como influências mais imediatas, as mudanças no manejo da terra, a introdução de novas culturas e o conseqüente abandono de culturas tradicionais. Isso foi observado para *S. pallens* quando, sempre após um longo período de seca, com a nova oferta de alimento, ocorria o ressurgimento da praga em caráter de infestação. A presença e o crescimento de *S. robusta* também foram associados à expansão de áreas anteriormente ocupadas por culturas

de algodoeiro (*Gossypium mirsutum*) e onde hoje cultiva-se algaroba (*Prosopis juliflora*), cajueiros (*Anacardium occidentale*) e tantas outras espécies vegetais, principalmente frutíferas (Cosenza *et al.* 1994).

## **2 - O controle dos gafanhotos**

### **2.1 - Controle químico**

Inseticidas químicos são substâncias que quando aplicadas direta ou indiretamente sobre os insetos em concentrações adequadas, provocam a sua morte (Matsumara 1985). De acordo com o composto químico presente nas formulações, os inseticidas são divididos em grupos como os organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, entre outros. Seu poder tóxico é determinado estabelecendo-se a dose mínima necessária para matar os insetos, sendo variável entre os produtos existentes (Beingolea 1995).

Antes da descoberta e utilização dos inseticidas organoclorados feita por Müller em 1939 (Casida & Quistad 1998), usou-se o controle físico para o combate de pragas de gafanhoto no Brasil. O método consistia em cavar valas e espantar os insetos em sua direção. Em seguida, estes eram esmagados, enterrados ou mesmo queimados. Outro método utilizado era o emprego de iscas contendo arsênico, mas sem muito sucesso (Cosenza *et al.* 1994). Por volta dos anos 40 se deu o início da utilização do BHC (Benzeno hexa clorado). O inseticida começou a ser empregado por via terrestre e em 1946 se fez o primeiro polvilhamento por via aérea contra os gafanhotos *Schistocerca cancellata* no sul do país (Cosenza 1977). A

seguir, em 1969, foi usada pela primeira vez a pulverização aérea a ultra-baixo volume no controle de gafanhotos *Rhammatocerus pictus* na região de Sorocaba (SP). Em 1972, na região de Montes Claros (MG), foi comparado o polvilhamento aéreo com o de ultra-baixo volume, concluindo-se ser o primeiro muito lento e oneroso para se combater pragas de gafanhotos *Dichoplus bergii* e *Staurorhectus longicornis* presentes em mais de 100.000 ha (Cosenza 1977). No Mato Grosso, o uso de organoclorados contra gafanhotos *R. schistocercoides* mostrou-se eficaz, atingindo índices de mortalidade de 85,3 a 100% em alguns casos (Cosenza *et al.* 1990). No Ceará, o uso do inseticida organosintético metil-parathion resultou em 82,7% de controle de *S. robusta* (Bastos 1975a, Bastos & Alves 1979).

### **2.1.1 - Vantagens e desvantagens dos inseticidas químicos**

A eficiência da aplicação de inseticidas na agricultura, pecuária e no controle de pragas presentes nas cidades (cupins, ratos, baratas, escorpiões, entre outras) não deixa dúvidas da importância do seu uso. O aumento da resposta do crescimento da produção e da produtividade de grãos, carne, leite e derivados, entre outros, é eficaz e rápido (Cook & Baker 1983). Porém, entidades governamentais e não governamentais têm lutado contra a aplicação de inseticidas químicos e outros agrotóxicos, tanto no Brasil quanto em outros países. Suas principais preocupações são com os fatores residuais presentes nos alimentos e os danos causados ao meio ambiente. Estes produtos contaminam os mananciais hídricos quando da lixiviação dos solos pouco conservados. Também possuem ação poluente na

atmosfera ou mesmo pela liberação de resíduos tóxicos nos oceanos, como o recente problema de Minamata (Japão), onde centenas de pessoas foram intoxicadas pelo consumo de alimentos contaminados por Mercúrio (Sheail 1985).

Os inseticidas provocam vários efeitos indesejáveis no homem, produzindo reações alérgicas, lesões físicas, químicas, genéticas ou mesmo neuropsíquicas. Problemas mais recentes foram observados nos EUA, onde constatou-se que resíduos de 17 inseticidas diferentes foram detectados em águas superficiais e subterrâneas de 23 Estados. Também nos EUA, acredita-se que cerca de 80% dos casos de câncer dietário são provenientes de resíduos químicos de 10 inseticidas freqüentemente encontrados em alimentos (Azevedo 1998).

No Brasil, porém, estes problemas poderiam ser minimizados com o cumprimento das leis vigentes no país, como a lei nº 7.802 publicada no Diário Oficial de 11 de janeiro de 1990, onde estabelece:

“... a total proibição de registro de agrotóxicos que sejam potencialmente ou efetivamente prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente, para os quais não haja antídoto ou tratamento e o manuseio correto dos agrotóxicos e formas de eliminação de embalagens ...”.

Contudo, um dos problemas mais recentes com o emprego de agrotóxicos ocorreu no controle do gafanhoto. Na tentativa de eliminar ou diminuir o impacto causado pela praga e dar assistência aos agricultores e pecuaristas, os governos Federal e Estadual, juntamente com a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação), implementaram vários projetos de controle com o uso de inseticidas químicos nos anos de 1986, 1991/92 e 1992/93 (Magalhães 1994).

Todavia, tanto aqui quanto em outros países (Austrália, Estados Unidos, vários países da África e Europa), o controle químico de gafanhotos usando novos inseticidas não tem sido tão eficaz quanto os inseticidas organoclorados (dieldrin), os quais tiveram seus registros cancelados por serem altamente tóxicos ao homem e ao meio ambiente. O inseticida químico substituto (fenitrothion – organofosforado), embora pouco persistente na natureza, possui ação tóxica sobre os mamíferos, mesmo que moderada. Além disso, apresenta também alta toxicidade a artrópodes aquáticos e terrestres considerados não alvo de controle (Prior & Streett 1997).

No Brasil, a proibição do uso desses produtos trouxe como consequência uma reinfestação de gafanhotos nômades no Mato Grosso (sendo considerado como calamidade pública por este governo estadual) e no nordeste, o mesmo ocorrendo no Rio Grande do Sul, em 1991-92 (Cosenza *et al.* 1994).

Além das preocupações com os efeitos dos produtos químicos sobre o meio ambiente e o homem, outro grave problema é o favorecimento da resistência adquirida pelos indivíduos ditos alvos de controle. Semelhante ao ocorrido com bactérias, as quais se tornam resistentes aos antibióticos, ou aos fungos patogênicos, que adquirem resistência aos fungicidas, os insetos também são capazes de apresentar tal fenômeno (Azevedo 1998).

Problemas com resistência a um ou mais inseticidas foram demonstrados em pelo menos 447 espécies de insetos e ácaros, as quais tornaram-se hábeis em tolerar virtualmente todos os inseticidas disponíveis para o seu controle. Um exemplo extremo é o do besouro *Leptinotarsa decemlineata*, que desenvolveu resistência a todas as classes de inseticidas

sintéticos modernos (Roush & McKenzie 1987). Nesses casos, os custos financeiros e humanos para se tentar controlar pragas resistentes são muito altos e inviáveis. Além disso, há necessidade constante em se repetir pulverizações com maiores dosagens (o que acarretaria em maiores problemas ambientais e humanos), além da busca e desenvolvimento de novos compostos, resultando em elevados custos com registros, patentes e seu manufaturamento (Fontes 1992).

Assim sendo, há necessidade do desenvolvimento de estratégias para diminuir a probabilidade da evolução da resistência. Isso só é possível, com estudos da ecologia de populações das pragas e o conhecimento dos fatores genéticos para resistência dos produtos químicos utilizados hoje na agricultura (Fowler & Di Romagnano 1992).

A utilização desmedida de inseticidas pode levar também a desequilíbrios biológicos causados pela destruição de muitos insetos, como as abelhas e outros polinizadores e, de inimigos naturais de pragas. Além disso, existe a possibilidade da ocorrência do chamado "vácuo biológico", ou seja, a total ausência de organismos, o que poderia resultar no surgimento de organismos oportunistas, gerando assim o surgimento de novas pragas.

Diante da necessidade de redução do uso de produtos químicos no combate às pragas, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de métodos alternativos não-poluentes e que resultem em um menor impacto ambiental. Uma técnica utilizada como estratégia de controle e que procura uma harmonia com o ambiente é o manejo integrado de pragas (MIP). Neste, a principal característica é a aplicação de táticas de aproveitamento de controle natural das pragas, podendo ou não serem complementados

pelo controle químico, práticas agrícolas ou mesmo juntamente com outros agentes biológicos (Gravena 1992). Neste caso, a quantidade aplicada de inseticida poderia ser reduzida, resultando em menores danos ao ambiente e mantendo a população de insetos em níveis satisfatórios que não afetem as culturas. Dentre os métodos utilizados pelo MIP, o controle biológico utilizando microrganismos entomopatogênicos é um dos mais estudados e, de interesse para este trabalho, será descrito a seguir com maiores detalhes.

## 2.2 - *Controle biológico*

Segundo Bosch (1971), controle biológico é a “utilização de microrganismos naturalmente exóticos a uma determinada região capazes de controlarem insetos-praga ali existentes”. Diferentes do conceito de regulação, o qual permite a oscilação do nível de indivíduos dentro de uma população e, portanto, não desejada nos programas de combate à pragas, três outras definições mais recentes foram propostas para o conceito de controle biológico: Para Baker (1987), controle biológico “é a ação de parasitos, predadores ou patógenos que mantêm a densidade da população de outro organismo mais baixa que a existente na sua ausência”. Já para Fontes (1992), “controle biológico é a supressão de pragas e doenças através de agentes bióticos que lhes são tóxicos, antagonísticos e/ou letais”. Ainda, para Grønvold *et al.* (1996), “é um método ecológico desenvolvido pelo homem para diminuir a população parasita ou praga a densidades aceitáveis para conservá-la em níveis não prejudiciais usando antagonistas naturais vivos”.

De fato, o controle de pragas utilizando-se inimigos naturais já havia sido realizado há mais de dois séculos no combate ao gafanhoto vermelho

*Nomadacris septemfasciata* nas ilhas Maurício (sudeste Africano), com a introdução de pássaros da espécie *Acridotheres tristis* originários da Ásia (Greathead 1971, em: Prior & Greathead 1989).

Estes inimigos podem influenciar as populações das pragas, mantendo-as com baixo número de indivíduos. No entanto, no caso de gafanhotos, os inimigos naturais não são capazes de evitar a ocorrência de surtos devido a baixa velocidade de crescimento das populações desses predadores (Prior & Greathead 1989, Greathead 1992, Prior & Streett 1997).

Atualmente, os programas de controle de pragas estão espalhados por todos os continentes e utilizam principalmente microrganismos entomopatogênicos, sendo os fungos os mais estudados. No Brasil, em decorrência principalmente da grande quantidade de patógenos e de um clima considerado favorável ao desenvolvimento de doenças, existe um número crescente de trabalhos sobre controle biológico de várias espécies de insetos, hoje com cerca de 1.400 artigos científicos publicados (Alves 1998).

### ***2.2.1 - Vantagens e desvantagens do uso de microrganismos***

A especificidade e a seletividade talvez sejam as principais virtudes de alguns patógenos, já que atacam apenas hospedeiros de determinadas espécies. Assim, evitam possíveis problemas de desequilíbrios ecológicos, uma vez que não afetam outros inimigos naturais, predadores ou mesmo insetos polinizadores (Prior & Greathead 1989). Por serem organismos de rápida multiplicação e eficiente disseminação, podem resultar em

enzootias, afetando as gerações seguintes, muitas vezes por diminuírem a oviposição e a viabilidade dos ovos de várias espécies de insetos (Mason & Erlandson 1994).

Ao contrário do controle químico, não poluem o ambiente e não são tóxicos ao homem e outros animais, já que são de ocorrência comum na natureza (Fontes 1992). Além disso, uma vez que os inseticidas microbianos podem ser utilizados em diferentes estratégias de combate às pragas em conjunto com programas de manejo integrado, podem substituir ou diminuir o uso dos produtos químicos (Alves *et al.* 1993, Moino Jr. & Alves 1993, Alves *et al.* 1995, Cardoso *et al.* 1995). Mesmo que alguns bioinseticidas tenham ação mais lenta que os químicos, eles podem ser utilizados para retardar o crescimento populacional das pragas através de uma contínua transmissão no campo (Fuxa 1987), afetando a frequência da ocorrência de surtos e, com isso, limitando a necessidade da utilização de grandes quantidades de produtos químicos (Woods *et al.* 1992).

Por outro lado, embora possam apresentar outras tantas características benéficas, como por exemplo, a obtenção de plantas transgênicas resistentes aos insetos, a compatibilidade com inseticidas químicos e o baixo custo de desenvolvimento e aplicação, o controle com microrganismos pode apresentar uma série de desvantagens. Entre elas, alguns exemplos são importantes, tais como o espectro de ação específica contra apenas uma determinada praga, possibilitando com isso o surgimento de outras; a ação mais lenta em causar mortalidade, resultando em um maior dano econômico (Alves 1998); a necessidade de condições ambientais adequadas, uma vez que estas exercem forte influência sobre o desenvolvimento dos microrganismos (McCoy *et al.* 1992) e, entre outros,

a atual possibilidade dos insetos adquirirem resistência a bioinseticidas manipulados geneticamente (Davidson 1992).

### 2.3 - Principais entomopatógenos de gafanhotos

**Protozoários** - Dentre os protozoários entomopatogênicos, os microsporídeos são os mais importantes, destacando-se *Nosema locustae* pela atuação em mais de 60 espécies de gafanhotos.

Causam hipertrofia do tecido adiposo, podendo também originar o aparecimento de asas e patas trançadas ao final do processo de ecdise. Além dessas anomalias, causam reduções na taxa de alimentação, fecundidade, diminuição da taxa de dispersão ou migração, características básicas de interesse para controle biológico (Henry *et al.* 1985, Silva *et al.* 1994, Johnson 1997).

**Nematóides** - Recentemente têm tido uma maior importância no estudo de controle biológico de gafanhotos por apresentarem dois tipos de relação patógeno/hospedeiro, de interesse potencial para o controle: parasitismo facultativo, o qual pode causar esterilização sexual dos insetos e, parasitismo obrigatório, onde os nematóides se desenvolvem parcial ou totalmente no interior do inseto, levando-os muitas vezes à morte.

Nestes grupos, destacam-se: *Steinernema* spp. e *Neosteinerinema glaseri* (Steinernematidae); *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae); *Deladenus siricidicola* (Neotylenchidae); *Mermis nigrescens*, *Agamermis decaudata* e *Romanomermis culicivorax* (Mermithidae) (Doucet & Doucet 1990, Aguilera & Smart 1993, Baker & Capinera 1997).

**Rickétsias** - Atuam principalmente sobre insetos das ordens Diptera, Orthoptera e Lepdoptera, estando presentes nas células da epiderme, células musculares adjacentes ao epitélio do intestino, traquéia e corpos gordurosos desses insetos. São importantes para o uso em programas de controle biológico por causarem incompatibilidade reprodutiva entre populações de insetos de regiões geográficas distintas, além de diminuírem a atividade, locomoção e alimentação (Frutos *et al.* 1994, Wedincamp Jr. *et al.* 1996).

**Bactérias** - O número de bactérias associadas a insetos é muito grande. Porém, as bactérias entomopatogênicas que atacam gafanhotos são poucas, sendo que as mais estudadas encontram-se nas famílias Enterobacteriaceae (*Serratia marcescens*) e Bacillaceae (*Bacillus* spp.). Nesta última família, o gênero *Bacillus* é importante devido principalmente ao seu potencial em causar morte do hospedeiro pela ação tóxica de cristais protéicos ( $\delta$ -endotoxinas) que atuam no intestino de insetos que apresentam pH alcalino, causando paralisação alimentar (em geral, *Bacillus thuringiensis*). Porém, o grau de controle obtido em ensaios com o gafanhoto *R. schistocercoides* ainda é baixo, variando de 10 a 30% de mortalidade (J.B.T. da Silva, não publicado).

Os principais representantes de bactérias relatados ou estudados em pesquisas de controle biológico de gafanhotos são: *B. thuringiensis*, *B. sphaericus* (Bacillaceae), *S. marcescens* (Enterobacteriaceae) e *Pseudomonas aeruginosa* (Pseudomonadaceae) (Rahmet-Alla & Rowley 1989, Orduz *et al.* 1992, Schenkel *et al.* 1992, Zelazny *et al.* 1997).

**Vírus** - Grupo de organismos onde se desenvolve o mais amplo programa de controle biológico de praga mundiais. O Brasil é seu maior representante, com a utilização de *Baculovirus anticarsia* contra a lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis*. Possui cerca de 16 famílias que se multiplicam no interior de insetos, geralmente após a ingestão de alimentos contaminados. No ambiente alcalino do intestino, as partículas virais encontram condições adequadas para o início da infecção das células epiteliais, levando o hospedeiro à morte.

Destas famílias, a Poxviridae tem sido considerada a única a possuir vírus capazes de infectar gafanhotos, além de terem sido comprovados em cerca de 35 espécies de insetos em 5 ordens (Colgan 1986, Tanada & Kaya 1993, Tabashnik 1994, Abot *et al.* 1995, Abot *et al.* 1996).

**Fungos** - Os fungos foram os primeiros organismos utilizados em programas de controle biológico. Este grupo é formado por mais de 90 gêneros e 700 espécies entomopatogênicas distribuídas nas cinco classes (Ascomicotina, Basidiomicotina, Deuteromicotina, Mastigomicotina e Zigomicotina), causando cerca de 80% das doenças em insetos (Goettel *et al.* 1995a, Robbs & Bittencourt 1998).

Dentre as classes de fungos, a Deuteromicotina (Hyphomycetes) é composta pelo maior número de entomopatógenos importantes, sendo utilizados nos principais programas de controle de pragas no Brasil, incluindo àquelas causadas por gafanhotos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Principais projetos de controle de pragas no Brasil utilizando fungos entomopatogênicos.

Praga	Inseto hospedeiro	Agente de controle
Cigarrinha da cana-de-açúcar	<i>Mahanarva posticata</i> e <i>M. fimbriolata</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
Cigarrinhas-das-pastagens	<i>Mahanarva</i> sp., <i>Deois</i> sp. e <i>Zulia</i> spp.	<i>M. anisopliae</i>
Cupins das pastagens	<i>Cornitermes cummulans</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
Cupins da cana-de-açúcar	<i>Heterotermes tenuis</i>	<i>B. bassiana</i>
Gorgulho da cana-de-açúcar	<i>Sphenophorus levis</i>	<i>M. anisopliae</i> , <i>B. bassiana</i>
Broca da bananeira	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>M. anisopliae</i> , <i>B. bassiana</i>
Cigarrinha verde do feijão	<i>Empoasca</i> sp.	<i>Zoophthora radicans</i>
Gorgulhos aquáticos do arroz	<i>Oryzophagus oryzae</i> , <i>Helodytes faveolatus</i>	<i>B. bassiana</i>
Brocas-dos-citros	<i>Diploschema rotundicolle</i>	<i>M. anisopliae</i>
Formiga-de-fogo	<i>Solenopsis</i> spp.	<i>B. bassiana</i>
Mosca-de-renda da seringueira	<i>Leptopharsa heveae</i>	<i>Sporothrix insectorum</i>
Broca-do-café	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>M. anisopliae</i>
Lagarta-da-soja	<i>Anticarsia gemmatilis</i>	<i>Nomuraea rileyi</i>
Broca da cana-de-açúcar	<i>Diatraea saccharalis</i> , <i>Castnia licus</i>	<i>M. anisopliae</i> , <i>Beauveria</i> spp.
Gafanhoto do Mato Grosso	<i>Rhammatocerus schistocercoides</i>	<i>M. flavoviride</i>
Gafanhoto do Nordeste	<i>Siphra robusta</i>	<i>M. flavoviride</i>

Ampliado de Alves (1998).

Em gafanhotos, a doença mais comum causada por fungos é conhecida por “doença do topo” ou “summit disease”, em decorrência da infecção por *Entomophthora grylli* (Zigomiceto). Como característica, os insetos infectados adquirem o hábito de subir ao ápice das plantas (buscando aquecer seus corpos na tentativa de eliminar o agente causador da doença), onde ali permanecem até morrerem (Streett & McGuire 1990, Carruthers *et al.* 1997). Porém, embora sejam capazes de causar epizootias, reduzindo drasticamente a densidade populacional dos hospedeiros, este fungo não tem apresentado resultados constantes quando utilizado como agente de controle biológico.

Mesmo que em algumas partes do mundo o fungo tenha demonstrado um grande potencial, ainda são necessários mais estudos para identificar quais são os fatores que exercem influência negativa no processo de infecção.

### 3 - Controle do gafanhoto *Stiphra robusta*

Uma das principais plantas utilizadas como fonte de alimento para o gafanhoto *S. robusta* é o cajueiro. Explorado comercialmente em larga escala, o Rio Grande do Norte possui a terceira maior área plantada com esta frutífera (102.855 ha), sendo detentor da maior produtividade de castanhas-de-caju da região nordeste, com cerca de 362 kg/ha (IBGE/Anuário Estatístico do Brasil - 1997).

Durante os períodos de ocorrência de surtos desse inseto, seu controle tem sido realizado com aplicações de inseticidas químicos, como o Sumition e Folition (Fenitrotion). Estes defensivos são geralmente fornecidos pelo Ministério da Agricultura e distribuídos pelo Governo do Estado. Por possuírem um custo elevado, apenas os grandes produtores de castanha-de-caju da região têm acesso ao seu uso. Isto, geralmente por apresentarem melhor infra-estrutura, tanto na disponibilidade de implementos agrícolas para aplicação dos produtos químicos, quanto em mão-de-obra. Dessa maneira, muitas áreas onde o inseto está presente, mas que pertencem a pequenos agricultores, não são pulverizadas. Como consequência, estes locais tornam-se fontes de origem de novos surtos da praga, mantendo-se assim, um ciclo vicioso em toda a região nordeste.

Assim sendo, diante dos problemas ambientais causados pelo uso de produtos químicos e da importância econômica representada pela exploração da castanha-de-caju nessa região, torna-se evidente a busca por processos alternativos de combate da praga, sendo o controle biológico uma das principais opções.

### 3.1 - Controle biológico de *Stiphra robusta*

O sucesso da implantação de programas de controle biológico deve levar em conta a introdução do organismo biocontrolador em um novo habitat. Quando os insetos invadem novos ambientes, deixam muitas vezes inimigos naturalmente adaptados para trás. Livres destes, podem crescer com grande velocidade e abundância. Nesse caso, o sucesso do controle irá depender da procura de inimigos naturais já adaptados. Após serem encontrados nos habitats de origem da praga ou em outros habitats, são transportados para a área invadida, na expectativa de que haja colonização, estabelecimento, desenvolvimento e subjugação da praga ali instalada (Bosch 1971).

No entanto, quando os inimigos naturais importados entram em confronto com os já presentes na região, o sucesso de sua instalação e desenvolvimento pode ser muito pequeno ou até mesmo nulo. Isso, devido à uma série de fatores biológicos e ecológicos (Goeden 1976). Por exemplo, em novos ambientes podem faltar requisitos básicos tais como hospedeiros alternativos, alimentos vitais ou mesmo refúgios naturais, os quais existem em abundância nos locais de origem. Além disso, em novos habitats podem ocorrer temperaturas hostis, chuvas excessivas ou escassas e níveis de umidade muitas vezes desfavoráveis. Dessa forma, dois grandes aspectos de adaptação devem ser considerados na introdução dos entomopatógenos: (a) sua adaptação a novos ambientes físicos e (b) adaptação ao hospedeiro que será colonizado (biológica, fenológica e comportamental).

No caso da utilização de fungos entomopatogênicos contra gafanhotos, a influência do ambiente é complexa. Os fatores ambientais que governam seu crescimento, esporulação e germinação são muitos na natureza, sendo que as diferentes espécies possuem diferentes necessidades para causarem infecção sobre seus hospedeiros (Kuberappa & Jayaramaiah 1987). Além disso, tanto os patógenos quanto os insetos-alvo têm seu próprio nicho ecológico, o qual deve ser bem entendido para a manipulação de epizootias (Fuxa 1987). Porém, apesar dessas dificuldades, a técnica da introdução de inimigos exóticos mostrou ser efetiva e com total sucesso em mais de 300 casos de espécies de insetos tidos como praga em várias partes do mundo, sendo, portanto, uma alternativa de controle animadora (Prior & Greathead 1989).

De interesse para o presente trabalho, o fungo Deuteromicotina *Metarhizium flavoviride* (*M. anisopliae* var. *acridum*), Hyphomycetes (Driver *et al.* 1999), é utilizado com sucesso contra pragas de gafanhotos em programas de controle biológico mundiais (ver Capítulo III). Seu isolamento a partir de cadáveres do gafanhoto *S. pallens* presentes também no Rio Grande do Norte (Moreira *et al.* 1996), permitiu a realização de estudos preliminares de controle biológico de *S. robusta*, uma vez que o fungo é originário do mesmo local de ocorrência desse inseto, estando, portanto, já adaptado ao meio ambiente local.

A partir da observação de susceptibilidade do inseto ao fungo, o objetivo deste trabalho foi obter informações inerentes aos fatores ecológicos relacionados diretamente ao ciclo das relações patógeno/hospedeiro. Os estudos nesta área são poucos ou ainda desconhecidos, justificando, dessa maneira, a presente investigação.

Para atingir esta meta, duas linhas de pesquisa foram adotadas, sendo:

1 - através da determinação das características inerentes ao ciclo biológico do inseto, como por exemplo, estudos de reprodução e desenvolvimento (Capítulo II);

2 - através do estudo das características do ciclo das relações patógeno/hospedeiro, observando o comportamento do patógeno quando exposto ao meio ambiente, analisando-se a manutenção da sua patogenicidade e virulência (Capítulo III).

Embora o controle biológico utilizando microrganismos entomopatogênicos não deva ser considerado como a solução final de todos os problemas, o sucesso obtido na implantação de programas de controle de outras pragas brasileiras com microrganismos deverá facilitar o seu uso. Com isso, espera-se que as informações aqui obtidas possam aumentar o conhecimento dos fatores que regem o processo de interação hospedeiro/patógeno, auxiliando no combate biológico desta praga. Espera-se também que o resultado se faça presente na melhoria do meio ambiente através da diminuição do uso indiscriminado de defensivos químicos (cujas conseqüências à nossa fauna e flora são desastrosas) e pela diminuição da perda de produtos agrícolas (representada por milhões de toneladas/ano).

## **Capítulo II**

**Estudos ecológicos do gafanhoto *Stiphra robusta***

## Estudos ecológicos do gafanhoto *Stiphra robusta*

**Resumo.** Em virtude da presença crescente do gafanhoto *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae) em culturas de importância econômica exploradas pela agricultura Norterriograndense, houve necessidade do estudo do controle deste inseto. Para isso, aspectos da bioecologia foram analisados, visando empregá-los em estudos de controle microbiano. Após a coleta de posturas no campo, os estudos de laboratório iniciaram-se com a determinação da profundidade ideal de incubação dos ovos em copos plásticos contendo solo arenoso e úmido. Dessa forma, obteve-se insetos para realização de experimentos durante todo o ano. A profundidade de incubação exerceu forte influência sobre a porcentagem de eclosão de ninfas. Assim, incubações mais profundas (11 a 5 cm) proporcionaram 95 a 97% de eclosões de ninfas a partir de ovos colhidos no campo e também para os obtidos em laboratório. Nas incubações menos profundas (3 e 1 cm), a eclosão foi de apenas 74 e 23%, sendo interrompida em ovos expostos, mantidos na superfície (0 cm de profundidade de incubação). O tempo de incubação também foi influenciado pela profundidade. Para ovos do campo, profundidades de 11 a 5 cm resultaram num tempo de incubação de 36 a 37 dias, subindo para 40 a 69 dias em profundidades de 3 e 1 cm, respectivamente. Ovos obtidos em laboratório necessitaram de um maior tempo de incubação, variando de 87 a 93 dias para profundidades de 11 a 5 cm. Quando próximos da superfície, porém, o tempo de incubação foi de 123 a 177 dias, em profundidades de 3 e 1 cm. Os resultados mostraram também a possibilidade de quebra de dormência, uma vez que na natureza, as ninfas normalmente eclodiram após passarem 7 meses, a 7 cm de profundidade. Os ovos colhidos no campo e os obtidos no laboratório apresentaram alta viabilidade, produzindo cerca de 97% de ninfas e resultando em 92% de insetos adultos. No entanto, o armazenamento dos ovos no laboratório em solo seco afetou sua longevidade. Nesse caso, apenas 1% dos ovos do campo originaram ninfas após 6 meses de armazenagem. Os ovos obtidos em laboratório perderam sua viabilidade mais cedo, após 5 meses. Como resultado, apenas 1% de ninfas eclodiram. Estudos de capacidade reprodutiva durante a vida fértil realizados em laboratório revelaram um número mínimo de 5 e máximo de 8 posturas ocorridas entre as fêmeas analisadas, com um total de ovos produzidos variando entre 155 e 535 unidades. A análise do comprimento da postura permitiu estimar o número de ovos, trazendo como principal vantagem a diminuição do tempo de manutenção de insetos para reprodução em laboratório ou do tempo de permanência no campo para sua coleta. Assim, posturas colhidas no campo com comprimentos variando entre 3,2 a 5,0 cm continham 127 a 195 ovos. Ao contrário, em posturas obtidas em laboratório e com comprimentos de 2,2 a 3,5 cm, apenas 68 a 102 ovos foram contados. Após a eclosão, o inseto passou por 7 estádios ninfais, levando o tempo de até 106 dias para atingir a fase adulta e com um ciclo de vida de 7 a 8 meses. A análise de seu crescimento permitiu verificar o início de acasalamento a partir do 6º estágio, havendo, portanto, mais uma ecdise entre o 6º estágio e o inseto adulto.

## Ecological studies of the grasshopper *Stiphra robusta*

**Abstract.** Considering diverse environmental pollution problems registered in Brazil and other countries due to use of chemicals in agriculture and livestock, the development of new pest control strategies is necessary, and biological control has emerged as an alternative. Following isolation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride* from cadavers of the grasshopper *Schistocerca pallens* (Orthoptera: Acrididae) it was possible to extend studies on biological control to other grasshopper pests, such as *Stiphra robusta*, the target of this work. In order to do that, reproduction and development of this insect were analyzed as well as the feasibility of using the fungus *M. flavoviride*. After collecting egg pods in the field, laboratory studies were initiated by determining the ideal deep for egg incubation in sandy soil. Incubations between 11 and 5 cm resulted in hatching rates varying from 95% to 97%, respectively. At 3 and 1 cm, hatching was only 74% and 23%. For eggs collected in the field, deeps from 11 to 5 cm led to incubation periods varying from 36 to 37 days, whereas it varied from 40 to 69 days at 3 and 1 cm. Eggs obtained at laboratory conditions needed a larger incubation period, varying from 87 to 93 days at 11 and 5 cm. At 3 and 1 cm, incubation period was 123 and 177 days. Eggs showed a high viability, resulting in approximately 97% nymphs and, from those, 92% reached the adult stage. However, storage under laboratory conditions of eggs in dried soil affected their longevity as time passed by. Reproduction capacity studies in the laboratory, revealed that females lay a minimum of 5 egg pods and a maximum of 8, and a total of 155 to 535 eggs are obtained per female. Following emergence, insects went through 7 nymphal instars, taking up to 106 days to reach the adult stage, with a life cycle from 7 to 8 months.

## I - Introdução

A região nordeste do Brasil possui em torno de 1.000 espécies de gafanhotos, com cerca de 24 já identificadas (Lecoq 1986). No entanto, a partir de 1984, *Schistocerca pallens* (Orthoptera: Acrididae) e *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae) têm assumido caráter de praga devido principalmente às suas incidências e aos danos causados na agricultura (Cosenza *et al.* 1994).

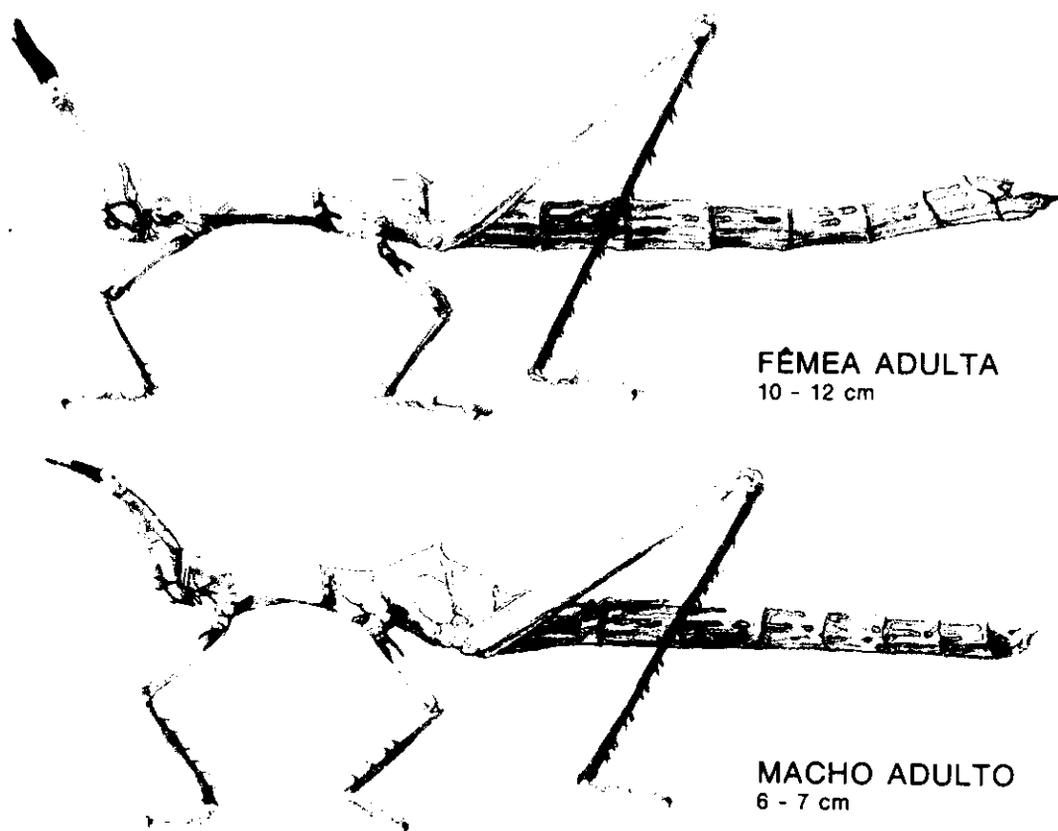
*Stiphra robusta*, de interesse para este trabalho, possui hábito desfolhador, consumindo tanto plantas frutíferas (Bastos 1975b), como também cultivadas ou nativas (Launois 1984), resultando em graves prejuízos às lavouras. *S. robusta* foi descrito como pertencendo à super-família Acridoidea e família Proscopiidae, a qual compreende 8 espécies do gênero *Stiphra*, encontradas somente na América do Sul (Mello-Leitão 1939), e possuindo as características abaixo, também observadas na Tabela 2 e Figura 2.

**Caracteres morfológicos** - Corpo de comprimento variado, sendo em média de 8 cm para machos e de 10 a 12 cm para fêmeas, ambos possuindo coloração verde-oliva. Cabeça rugosa com uma cresta mediana muito acentuada, com a porção basal muito ampla. Fastígio alto na base, achatando-se em direção ao ápice. Pronoto medindo em torno de 1,5 cm nos machos e 1,9 cm nas fêmeas. Mesonoto geralmente soldado ao metanoto, apresentando uma forte depressão, muito curvada para trás, com borda posterior elevada e formando um espinho robusto, maior no macho. Fêmur das patas anteriores com cerca de 1,4 a 1,5 cm e, nas patas

posteriores com 3,3 a 3,5 cm para machos e fêmeas, com granulações ou espinhos. Tíbias posteriores retas, finas e com espinhos robustos triangulares na parte interna e externa, variando de 3,5 a 4,0 entre machos e fêmeas.

**Tabela 2.** Principais características morfológicas utilizadas para descrição de *Stiphra robusta*.

	Macho (mm)	Fêmea (mm)
Corpo	86	121
Cabeça	16,5	21
Fastígio	4	8,5
Pronoto	15	19
Fêmur I	15	14,5
Fêmur III	33	35
Tíbia III	35	40



**Figura 2.** Fêmea e macho adultos do gafanhoto *Stiphra robusta*.

Alguns anos após a descrição de *S. robusta*, o autor descreveu uma nova espécie denominada *Stiphra bitaeniata* baseando-se no estudo de insetos com comprimento do corpo menor e com coloração apresentando manchas, diferentes de *S. robusta* (Mello-Leitão 1946, em: Moraes *et al.* 1980a). Tal fato, gerou algumas confusões, culminando com a publicação de um trabalho sobre a ocorrência de surtos de *S. bitaeniata* no trópico semi-árido (Moraes *et al.* 1980). A restauração da identidade foi estabelecida somente dois anos depois, quando Moraes (1982), estudou machos e fêmeas das duas formas mantidas separadamente em laboratório. Dessa maneira, foi possível observar que *S. bitaeniata* era, na verdade, um estágio intermediário entre ninfa e adulto de *S. robusta*, sendo então considerado como sinonímia. Estes resultados, porém, serão melhor discutidos no item 4 deste Capítulo, onde foi possível observar também a ocorrência do início de reprodução já a partir do 6º estágio.

Poucos são os trabalhos desenvolvidos sobre a ecologia de *S. robusta*. Alguns aspectos do ciclo biológico já haviam sido descritos anteriormente para insetos localizados em Pernambuco, sendo estudada principalmente a influência da umidade sobre a eclosão (Launois 1996). Porém, para a realização dos diferentes tópicos deste trabalho, feitos em quase toda a sua totalidade no Rio Grande do Norte, houve necessidade de estudá-lo em maiores detalhes. Isso, devido ao fato de que durante o período de estabelecimento da criação em laboratório, alguns insetos apresentaram características morfológicas e fisiológicas diferentes às anteriormente descritas, como o tamanho do corpo, número de estádios ninfais e tempo para eclosão, entre outros. Algumas dessas diferenças já haviam sido observadas entre espécies do gênero *Stiphra* presentes em

Pernambuco e Paraíba, onde os insetos apresentavam medidas distintas de comprimento do corpo descritas por Mello-Leitão (1939).

Características morfológicas de posturas e aspectos etológicos foram também estudados e determinados por Almeida *et al.* (1995a), bem como estudos de preferência alimentar (Bastos 1975b). No entanto, pontos que ainda permaneciam obscuros puderam ser melhor compreendidos a partir do acompanhamento diário do desenvolvimento do inseto, uma vez que em alguns estudos, o número de indivíduos e a fase ninfal analisada não foram mencionados (Bastos 1975a,b, Cavalcante *et al.* 1975, Moraes 1982, Souza *et al.* 1983), bem como o número de ovos, ovoposições e outros caracteres ecológicos.

Os resultados aqui obtidos foram fruto da utilização de um elevado número de amostragens. Com isso, o objetivo aqui enfocado foi o estudo sobre o intervalo entre ecdises, época de acasalamento, dormência dos ovos, entre muitos outros aspectos da biologia do gafanhoto. Estes puderam ser melhor entendidos e aplicados em estudos de controle biológico (Capítulo III), baseando-se também em informações obtidas a partir do conhecimento do local de ocorrência da praga (área de estudo) e da história natural do inseto, como será visto a seguir.

### ***1 - Área de estudo***

Os trabalhos de ecologia aqui desenvolvidos e os de controle microbiano (Capítulo III) de *S. robusta* foram realizados no Rio Grande do Norte. Na região litorânea desse estado predomina o clima Tropical do Nordeste Oriental, que engloba o litoral e a costa oriental desde o planalto do Rio Grande do Norte até o recôncavo Baiano. Neste domínio, ocorrem

ventos estáveis, alísios de leste e sudeste, anticiclone do Atlântico Sul que atuam com maior frequência durante a primavera e o verão, período da estação seca ou com chuvas pouco intensas. A estação chuvosa (novembro a maio) é decorrente da atuação dos sistemas instáveis do norte (CIT), de oeste e noroeste (IT), e de leste (EW), além de chuvas frontais de sul, mais expressivas no sul do Estado (IBGE/Anuário Estatístico do Brasil – 1997).

A presença do litoral e a influência moderadora dos alísios determinam temperaturas médias anuais entre 24°C e 26°C nesta região. Os meses de junho e julho são os de temperaturas mais amenas (20°C a 24°C). Já no começo do ano, as temperaturas são mais elevadas, destacando-se os meses de janeiro e fevereiro (médias superiores a 24°C), mas com máximas absolutas inferiores a 36°C (IBGE/Anuário Estatístico do Brasil – 1997).

No interior do Estado, porém, o clima predominante é semi-árido. Nesta região, a caatinga (savana estépica nordestina) abrange as várias formações que constituem um tipo de vegetação estacional-decidual. Essa vegetação contém estratos arbóreos e gramíneo-lenhosos periódicos e com numerosas plantas suculentas, sobretudo cactáceas. As árvores são baixas, raquíticas, de troncos delgados mas com engalhamento profuso. Muitas espécies são microfoliadas ou providas de acúleos ou espinhos, mostrando adaptações fisiológicas bem especializadas à economia de água (IBGE/Anuário Estatístico do Brasil – 1997).

Os solos são pouco desenvolvidos, sendo compreendidos nessa categoria os solos minerais e orgânicos, hidromórficos ou não, com horizonte A sobrejacente a camadas, a rochas ou ao horizonte C. Sua principal característica é a pouca evolução dos perfis. Também estão presentes os solos com horizonte B textural, mal drenados devido a altos

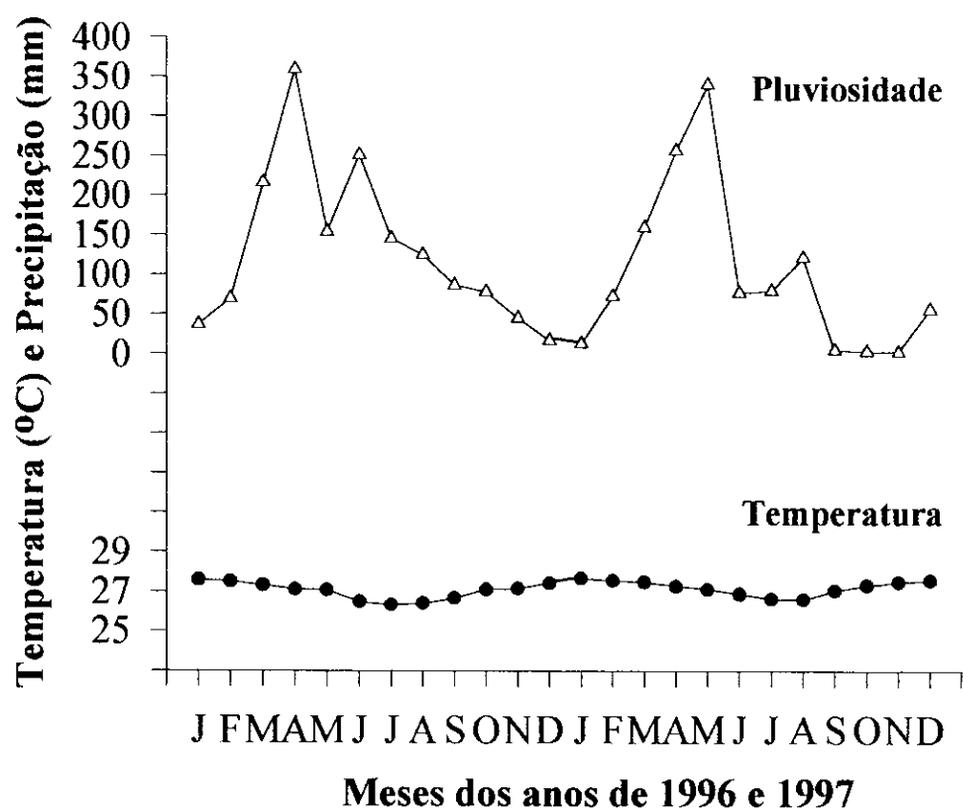
teores de argila, além de solos com horizonte B incipiente ou câmbico, com argila distribuída uniformemente nos perfis, ocasionando boa drenagem (IBGE/Anuário Estatístico do Brasil – 1997).

No local onde foram conduzidos os experimentos de campo e de laboratório (Estação Experimental do Jiqui, pertencente à Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte - EMPARN e situada a 8 km do litoral e a 10 km ao sul da capital do Estado – Natal), o regime de chuvas foi constante durante os últimos anos, com médias acumuladas de 1.415,8 mm (EMPARN/Climatologia, relatório de 1997/1998). A temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa foram semelhantes nos dois anos de atividades neste local (1996 e 1997), embora apresentando períodos mais secos e mais úmidos.

Em 1996, as médias das temperaturas mínimas mensais foi de 25,3°C e máximas de 28,5°C, sendo a mínima diária registrada em agosto (23°C) e máxima diária registrada em fevereiro (30°C). O padrão das temperaturas registradas no ano de 1997 foi semelhante, sendo as médias das temperaturas mínimas mensais de 25,5°C e máximas de 28,3°C, com mínima e máxima diária também registrada em agosto, 23,4°C e fevereiro, 29,2°C (Figura 3).

Em relação à pluviosidade, a distribuição de chuvas ocorreu durante o ano todo e nos dois anos de experimentos, porém, com médias mensais muito variadas. Em 1996, observa-se um aumento crescente da pluviosidade a partir de janeiro (37 mm) até abril (360 mm). Embora apresentando uma oscilação entre maio e junho, a precipitação diminuiu a partir deste mês (251 mm) até dezembro, onde registrou-se o menor índice pluviométrico (17 mm). As chuvas também ocorreram em todos os meses

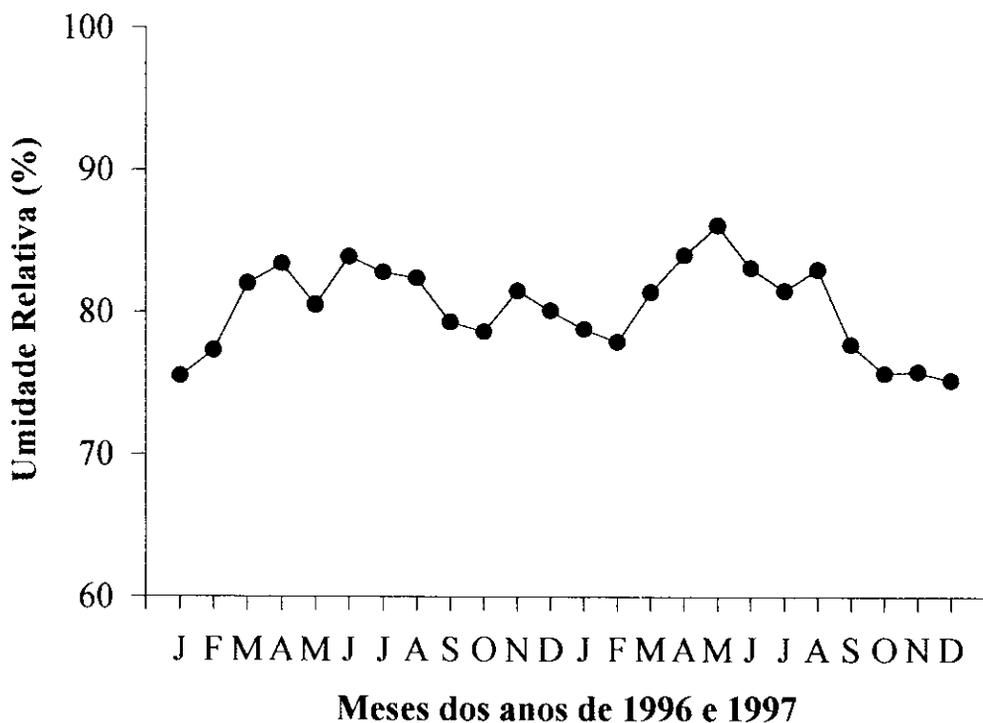
de 1997, porém, com menor intensidade. Os maiores índices pluviométricos foram registrados em abril (256 mm) e maio (340 mm), sendo as menores incidências em setembro, outubro e novembro, com 5, 3 e 3 mm, respectivamente (Figura 3).



**Figura 3.** Variação mensal da média diária da temperatura e precipitação pluviométrica ocorrida na Estação Experimental do Jiqui durante os anos de 1996 e 1997. (Fonte: EMPARN/Climatologia).

A variação da umidade relativa na Estação Experimental do Jiqui foi muito pequena durante os meses do ano e entre os dois anos (Figura 4). Em 1996, a média mensal mínima foi de 76% em janeiro e máxima de 84% em junho, com mínima diária de 65% em janeiro e máxima diária de 96% em

julho. Já em 1997, a média mensal seguiu os mesmos padrões de variação, sendo a mínima de 75% em dezembro e máxima de 86% em abril, com mínima diária de 68% em janeiro e máxima diária de 98% em maio.



**Figura 4.** Variação mensal da média diária da umidade relativa ocorrida na Estação Experimental do Jiqui durante os anos de 1996 e 1997 (Fonte: EMPARN/Climatologia).

## 2 - História natural de *Stiphra robusta*

Ao iniciarem a fase de reprodução em meados de março, os insetos copulam na parte aérea das plantas durante toda a sua vida fértil. Para oviposição, no entanto, as fêmeas descem ao chão pelo tronco. Quando no solo, introduzem o abdome até cerca de 7 a 9 cm de profundidade,

liberando uma massa de ovos que permanecem em dormência durante todo o período de seca.

Dessa forma, cerca de 40 dias após o início do período chuvoso ocorrido geralmente entre novembro e dezembro, ninfas de *S. robusta* eclodem dos ovos, sofrendo posteriormente uma metamorfose denominada por Harwood (1985) de paurometábola (Harwood 1985, em: Pfadt 1985) e hemimetábola gradual, por Barnes (1984), livrando-se da membrana que os envolve (Serosa).

Cerca de 5 minutos após a eclosão, as ninfas dão os primeiros saltos em direção ao tronco, subindo até as folhas para se alimentarem. A alimentação ocorre durante todo o dia, mas é mais ativa nas horas médias da manhã, em dias calmos e ensolarados. Os insetos dão preferência por folhas mais tenras, iniciando o consumo pelas suas bordas. Ambos, ninfa e adulto, podem consumir muitas espécies de vegetação, sendo que as mais preferidas são frutíferas como cajueiro, goiabeira (*Psidium guajava*), mangueira (*Mangifera indica*) ou vegetações típicas da região, como a jurema-preta (*Mimosa hostilis*). Como característica, os insetos alimentam-se da mesma planta desde os primeiros dias de vida, podendo, no entanto, trocar de espécie vegetal se o alimento inicial acabar. Nestas plantas, o inseto possui hábito desfolhador, consumindo folhas, pecíolos e muitas vezes pequenos ramos em busca de alimento e umidade. Sob ataques severos, podem levar as hospedeiras à morte, principalmente quando consomem brotos recém formados, não permitindo com isso, a recuperação da planta.

Quando as folhas são totalmente consumidas, os insetos descem ao solo e caminham até a próxima planta. Uma vez no solo, os saltos são

raros, geralmente ocorrendo como tática de fuga de possíveis predadores presentes no local. Nesse caso, podem atingir até cerca de um metro de distância, variando de acordo com o estágio de crescimento em que se encontram e o sexo (machos são muito mais ágeis e inquietos do que as fêmeas). Quando o alimento local acaba, migram lentamente para novas regiões, principalmente através de pontes de vegetação. Podem ocorrer casos de deslocamento a longas distâncias pela aderência do inseto em pelos de animais ou mesmo em pneus de veículos (Fotuis & Haji 1984, em: Launois 1984).

Por serem parecidos com gravetos, podem permanecer imóveis sem serem descobertos, escondendo-se sob folhas ou ramos, evitando assim os inimigos naturais e a dessecação causada pela insolação. Não se observou ainda a predação dos ovos por seus inimigos naturais ou microrganismos. As ninfas sim, podem ser predadas por algumas vespas caçadoras e, tanto ninfas como adultos, por pássaros, rãs e répteis. Não se tem notícias de mamíferos predadores de livre ocorrência na natureza, salvo casos em que pequenos rebanhos de caprinos são criados em áreas onde o inseto está presente, servindo então de alimentação (relatos populares nos locais de ataque do inseto).

É comum verificar canibalismo entre os insetos sadios e os incapacitados ou fracos, principalmente na falta de alimento ou quando a população local é grande (fato observado na criação de laboratório).

Para atingirem o pleno desenvolvimento, as ninfas sofrem ecdises até atingirem a fase adulta, resultando em uma coloração que varia de parda a bege. Nessa fase, dá-se novamente o início da reprodução, a qual será

finalizada juntamente com o término do período chuvoso, fechando assim o ciclo univoltino de vida desse inseto.

### 3 - Distribuição geográfica

*Stiphra robusta* era conhecido pela sua localização particular ao Norte do rio São Francisco, em Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará (Mello-Leitão 1939, Silva *et al.* 1968, em: Launois 1984), Bahia, Piauí (Moraes *et al.* 1980b), e com ocorrência registrada em meados de 1998 no Maranhão em cultura de babosa (Bonifácio P. Magalhães, comunicação pessoal). Acreditava-se que o rio fosse uma barreira ecológica natural e intransponível para um inseto áptero. Porém, houve relatos de ataques severos em culturas de *Eucalyptus citriodora* ao Sul do rio São Francisco (Haji *et al.* 1985). Recentemente, em meados de 1998, *S. robusta* foi identificado também ao norte de Minas Gerais e sudoeste da Bahia atacando culturas de videira (Bonifácio P. Magalhães, comunicação pessoal). A amplitude da sua localização, porém, pode estar camuflada devido à grande variedade de nomes dados ao inseto nas diferentes regiões desses Estados (Tabela 3), a qual muitas vezes dificulta sua identificação (Launois 1984).

**Tabela 3.** Nomes vulgares utilizados para o gafanhoto *Stiphra robusta* nas diferentes localidades da região nordeste.

Nomes encontrados		
Mané-magro	Gafanhoto	Alma de cavalo
Maria-mole	Maria-seca	Bicho-pau
Gafanhoto da jurema	Manoel magro	Saltão
Esperança de cavalo	Taquara seca	Cipó seco

Dados obtidos através de entrevistas da população dos locais próximos ou sob ataque do inseto e através de Launois (1984).

Por ser um folívoro polífago, sua atual presença em locais anteriormente não povoados pela praga pode estar relacionada com o desmatamento e implantação de culturas exóticas à região (Cosenza *et al.* 1994). Além disso, como dito anteriormente, o inseto possui grande habilidade em aderir-se a pêlos de animais ou mesmo em pneus ou partes de veículos, facilitando sua disseminação para outras localidades. Isto, poderia justificar o crescente número de espécies vegetais atacadas pela praga (Tabela 4), tornando-se evidente a preocupação com o seu combate.

**Tabela 4.** Espécies vegetais freqüentemente observadas sob ataque de *Stiphra robusta*.

Nome vulgar	Nome científico	Local estudado
Aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Ceará – CE
Abacateiro	<i>Persea gratissima</i>	Apodi – RN
Algaroba	<i>Prosopis juliflora</i>	RN e PB
Algodão	<i>Gossypium mirsutum</i>	Apodi – RN
Baraúna	<i>Schinopsis brasiliensis</i>	Apodi – RN
Cajueiro	<i>Anacardium occidentale</i>	toda região NE
Catingueira	<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	Paraíba – PB
Catanduba	<i>Piptademia miniliformis</i>	Paraíba – PB
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp.	Paraíba – PB
Feijão de corda	<i>Vigna unguiculata</i>	Natal – RN
Goiabeira	<i>Psidium guajava</i>	Natal – RN
Imbiruçú	<i>Pseudobombax simplicifolium</i>	agreste da região NE
Imburana	<i>Bursera leptophlocos</i>	agreste da região NE
Jurema preta	<i>Mimosa hostilis</i>	agreste da região NE
Leucena	<i>Leucena glauca</i>	agreste da região NE
Mamona	<i>Ricinus communis</i>	agreste da região NE
Mandioca	<i>Manihot esculenta</i>	toda a região NE
Mangueira	<i>Mangifera indica</i>	toda a região NE
Marmeleiro	<i>Croton sonderianus</i>	agreste da região NE
Milho	<i>Zea mays</i>	Açú – RN
Moleque-duro	<i>Cordia leucocephala</i>	agreste da região NE
Pinhão	<i>Jatropha</i> spp.	agreste da região NE
Videira	<i>Vitis</i> spp.	Norte de Minas
Babosa	<i>Aloe vera</i>	Maranhão

Dados obtidos através de entrevistas da população dos locais próximos ou sob ataque do inseto e através de Launois (1984). Esta lista poderá ser atualizada sempre que novas regiões forem monitoradas.

## II - Material e Métodos

### 1 - Coleta de ovos e insetos adultos

O início do estudo de reprodução e desenvolvimento de *S. robusta* se deu a partir de coletas de posturas no Município de Rodolfo Fernandes, distante 450 km ao Norte da capital (Natal-RN), em fazendas produtoras de castanha de caju. Para a sua localização, o solo ao redor do tronco dos cajueiros foi cavado com o auxílio de uma pá de jardineiro. As posturas foram então encontradas junto ao tronco e a uma profundidade que variou entre 5 a 11 cm. Após acondicionamento feito em copos plásticos contendo solo do local de coleta, o material obtido foi levado para o laboratório em Natal.

A captura de insetos adultos foi feita manualmente, também em Rodolfo Fernandes e no Município de Bom Jardim, cerca de 60 km ao Sul da capital, mas próximo à região litorânea, sendo encontrados, neste último Município, em substrato de Jurema preta. Para retorno ao laboratório, os insetos foram transportados em gaiolas com dimensões de 60 x 60 x 60 cm (doravante denominadas de gaiolas "tipo 1"), com capacidade de abrigar cerca de 100 indivíduos cada. Folhas frescas de cajueiro e jurema foram colocadas nas gaiolas para alimentação dos insetos durante a viagem de retorno ao laboratório.

Os insetos mortos durante o transporte do local de coleta até o laboratório foram mantidos em câmara úmida para verificação da presença de possíveis parasitóides. O mesmo procedimento foi adotado para os

insetos mortos no decorrer dos experimentos de campo e laboratório apresentados neste Capítulo e no Capítulo III.

## *2 - Criação de insetos*

A implantação da criação em laboratório ocorreu com a contagem prévia do número de ovos contidos nas posturas coletadas. Em seguida, os ovos foram incubados em copos plásticos de 300 ml contendo solo arenoso e úmido, semelhante ao do local da coleta.

Após a eclosão, as ninfas foram mantidas em gaiolas com dimensões de 30 x 30 x 30 cm (doravante denominadas de gaiolas "tipo 2"), com capacidade de abrigar cerca de 80 insetos nos primeiros estádios.

Para manutenção da colônia, ramos de cajueiro contendo alguns pares de folhas novas foram trocados diariamente nos primeiros estádios (I a III) e a cada dois dias para os posteriores (IV até adulto). Os ramos foram mantidos em recipientes contendo água, afim de retardar o ressecamento das folhas. Em dias muito quentes, pulverizou-se água na superfície foliar para que os insetos obtivessem uma maior fonte de umidade. A limpeza das gaiolas foi conduzida juntamente com a troca da alimentação, diminuindo assim o manuseio dos insetos e evitando a perda de indivíduos causada por estresse, muitas vezes observada no início deste trabalho.

Conforme será observado aqui, alguns experimentos apresentam o termo "posturas padronizadas". Isto, devido ao número irregular de ovos encontrados em cada uma, tanto para as obtidas no laboratório quanto para as de campo. Dessa forma, dependendo do tipo de estudo realizado, algumas posturas foram desmembradas, mantendo-se então o mesmo

número de ovos e facilitando-se assim a análise estatística dos dados obtidos.

Todos os gráficos deste trabalho foram feitos com o programa Jandel Scientific Graphics<sup>®</sup>. A análise estatística foi realizada com o programa SigmaStat 2.0<sup>®</sup>.

### ***3 - Estudos ecológicos de *Stiphra robusta****

Com o estabelecimento prévio da colônia em laboratório a partir dos ovos coletados no campo, deu-se início aos estudos dos diferentes tópicos sobre reprodução e desenvolvimento do inseto, cada qual apresentando metodologia própria devido à variabilidade dos temas aqui desenvolvidos.

#### ***3.1 - Profundidade de incubação dos ovos***

A obtenção de ninfas em laboratório foi uma das principais metas a serem atingidas para a manutenção dos estudos propostos. Para isso, ovos colhidos no campo foram incubados em sete diferentes profundidades (11, 9, 7, 5, 3, 1 e 0 cm), em copos plásticos de 300 ml contendo solo arenoso e úmido, semelhante ao de origem das posturas. Os recipientes de incubação foram fechados com filme plástico transparente para evitar a fuga das ninfas eclodidas. Todas as "tampas" foram perfuradas para permitir a ventilação. A medida que o solo perdia umidade com o passar dos dias de incubação, acrescentou-se água até encharcá-lo. O excesso foi extraído mediante a presença de pequenos furos no fundo desses recipientes. Cada tratamento de profundidade foi realizado com 4 repetições de posturas padronizadas em 100

ovos cada. A mesma metodologia foi aplicada para ovos obtidos em laboratório a partir do cruzamento de insetos adultos obtidos no campo. Porém, as posturas foram padronizadas em 80 ovos devido ao menor número presente em cada uma, conforme será visto posteriormente.

Como controle, o mesmo número de ovos obtidos em laboratório foi incubado a 7 cm de profundidade, ao pé de troncos de cajueiros, também em 4 repetições. A profundidade de 7 cm foi adotada devido ser a média da profundidade das posturas normalmente encontradas na natureza. Para evitar a fuga das ninfas eclodidas, utilizou-se filó de malha fina amarrada ao redor dos troncos dos cajueiros e coberta com solo arenoso nas suas bordas, formando assim uma espécie de tenda. As observações de eclosão foram feitas diariamente, tomando-se como medidas o número de dias de incubação necessários para ocorrer eclosão das ninfas e sua porcentagem em cada tratamento de profundidade.

### **3.2 - Viabilidade e longevidade dos ovos**

O impacto causado pelos insetos sobre as culturas locais foi analisado inicialmente através do número de ninfas eclodidas após o início das primeiras chuvas. Assim, a viabilidade dos ovos de *S. robusta* colhidos no campo e dos obtidos em laboratório foi determinada a partir da sua incubação a 7 cm de profundidade em copos plásticos contendo solo arenoso e úmido e tampados com filme plástico perfurado. Após a eclosão, foram determinadas a porcentagem inicial de ninfas eclodidas e a porcentagem de insetos que atingiram a fase adulta, de ambas as procedências (campo e laboratório). O experimento foi realizado com 10 repetições de 50 ovos.

Para se determinar a longevidade dos ovos e com isso dispor de material para a realização de experimentos durante os anos de 1996 e 1997 em laboratório e campo, as posturas foram armazenadas em copos plásticos contendo solo arenoso mantido permanentemente seco. A cada mês, 150 ovos foram separados em lotes de 50 unidades e incubados a 7 cm de profundidade em copos plásticos contendo solo permanentemente úmido. A longevidade foi então obtida com base no tempo de incubação necessário para haver o início da eclosão e a porcentagem de insetos resultantes em relação aos meses de armazenagem em solo seco.

Como controle, utilizou-se dois tipos de tratamentos: o primeiro, pela incubação a 7 cm de profundidade de 3 lotes (repetições) de 50 ovos em solo úmido antes do armazenamento; o segundo, com 3 posturas colhidas no campo sendo desmembradas e contadas, padronizando-se o número de ovos em 50 unidades. Estes ovos foram incubados a 7 cm de profundidade no mesmo local onde foram encontrados, simulando assim a profundidade de oviposição e condições ambientais normalmente encontradas na natureza. Utilizou-se a tenda de filó para evitar a fuga das ninfas eclodidas. A mesma metodologia foi aplicada para ovos obtidos em laboratório (ovos frescos recém ovipositados), sendo o controle mantido também sob cajueiros no campo.

### *3.3 - Comportamento sexual e capacidade reprodutiva*

O estudo do comportamento sexual e da capacidade reprodutiva foi necessário para se estimar o potencial de descendentes da próxima geração. Com isso, o comportamento sexual em cativeiro foi obtido a partir da

observação do número de cópulas de casais mantidos em gaiolas tipo 1 e distribuídos como segue: isolamento de 10 fêmeas com apenas 01 macho e isolamento de 10 machos com apenas 01 fêmea. A identificação dos indivíduos durante a cópula foi feita com a colagem de etiquetas numeradas, no dorso de todos os insetos.

Para o estudo do número total de posturas realizadas durante um ciclo reprodutivo, foram formados 15 casais de *S. robusta*. Cada casal foi mantido em uma gaiola e alimentado com ramos de cajueiro substituídos a cada dois dias. No piso de cada gaiola foi colocado solo arenoso para abrigar as posturas ovipositadas. A observação do número de posturas foi feita diariamente durante todo o período de vida fértil das fêmeas. As posturas foram obtidas com a retirada e peneiração do solo mantido no interior das gaiolas, anotando-se os dias de intervalo entre ovoposições.

A determinação da porcentagem de machos e fêmeas eclodidos foi obtida a partir da incubação de posturas a 7 cm de profundidade em copos plásticos contendo solo arenoso e úmido.

O experimento foi realizado com 10 posturas (repetições) colhidas no campo e 10 obtidas no laboratório. As ninfas eclodidas em cada uma das repetições foram mantidas em gaiolas tipo 2 até completarem o III estágio, quando foram então sexadas.

Estudou-se também a frequência do número de ovos normalmente encontrados na natureza. Para isso, 242 posturas colhidas no campo foram medidas com auxílio de uma régua graduada. Em seguida, as posturas foram desmembradas e os ovos contados. Os resultados foram comparados com as medidas e o número de ovos de 120 posturas obtidas em laboratório.

### 3.4 - Número de estádios e intervalo entre mudas

Embora alguns estudos sobre a ecologia de *S. robusta* tenham sido feitos anteriormente (Souza *et al.* 1983, Lecoq 1984, Almeida *et al.* 1995a, Launois 1996), o número de estádios ninfais ainda era uma incógnita. Dessa forma, esse número e o intervalo entre os estádios foi aqui determinado, tanto para ovos colhidos no campo quanto para os obtidos em laboratório.

Para esse estudo, posturas foram incubadas a 7 cm de profundidade em copos plásticos contendo solo arenoso e úmido. As ninfas eclodidas permaneceram em gaiolas tipo 2 até completarem o III estágio, quando então puderam ser separadas por sexo.

O número de estádios e seu intervalo foi obtido pela retirada das exúvias presentes no interior das gaiolas. O experimento foi realizado com 6 repetições de 10 indivíduos de cada sexo, totalizando 120 insetos.

### III - Resultados

#### 1 - Profundidade de incubação dos ovos

O sucesso da eclosão de ninfas de *S. robusta* dependeu da profundidade de incubação dos ovos (Figura 5). Dos ovos colhidos no campo e no laboratório, houve entre 97% e 95% de eclosão de ninfas, respectivamente, nos tratamentos utilizando profundidades variando entre 11 e 5 cm.

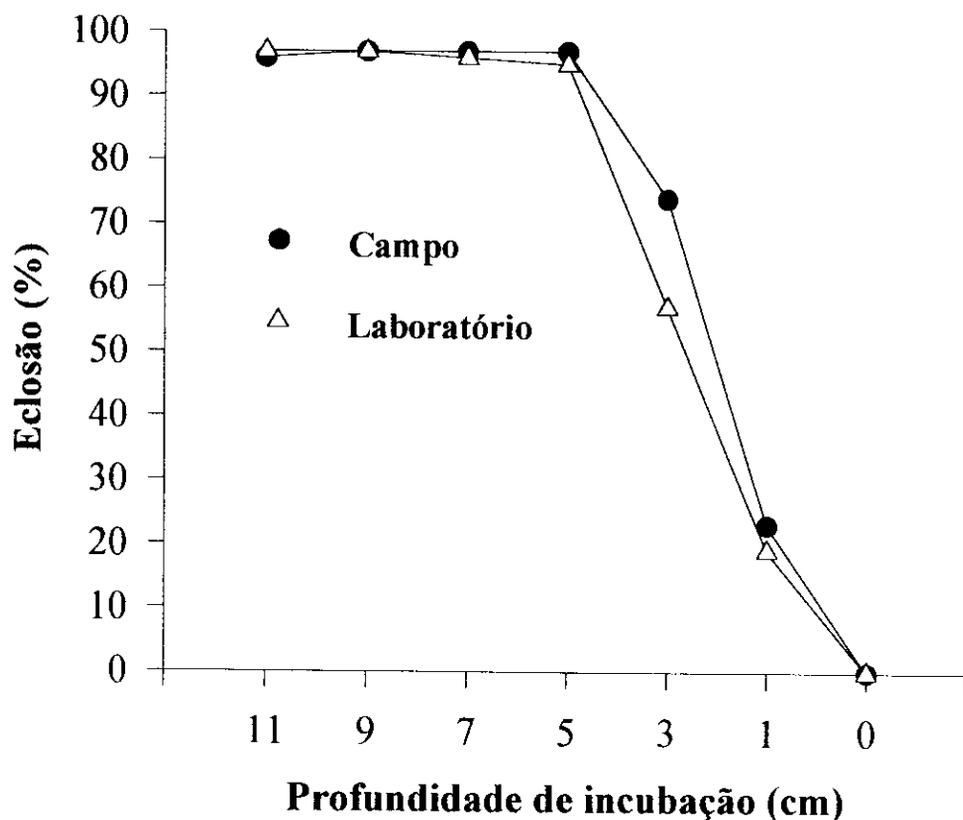
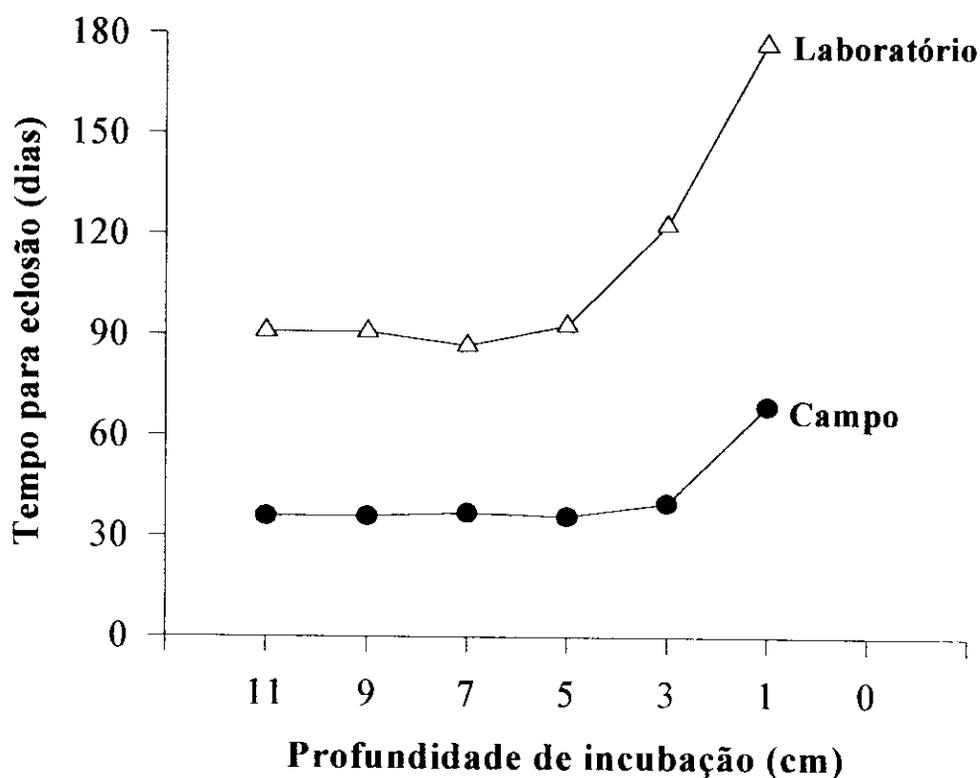


Figura 5. Influência da profundidade de incubação de ovos de *Stiphra robusta* sobre a taxa de eclosão das ninfas. Resultados são médias de 4 repetições de 100 ovos colhidos no campo e 80 no laboratório.

As incubações feitas próximas da superfície (3 a 1 cm), resultaram na queda da porcentagem de eclosão, sendo que em ovos mantidos na superfície (tratamento com 0 cm de profundidade), não ocorreram eclosões em ambos os casos. Nos ovos mantidos sob cajueiros a 7 cm de profundidade e utilizados como controle, houve cerca de 94% de eclosões.

O tempo necessário para maturação e eclosão de ninfas também está diretamente relacionado com a profundidade de incubação em laboratório (Figura 6). Nas incubações mais profundas (entre 11 e 5 cm), foram necessários apenas 36 a 37 dias para ovos colhidos no campo e de 87 a 93 dias para ovos colhidos no laboratório, para iniciar a eclosão das ninfas.



**Figura 6.** Influência da profundidade de incubação de ovos de *Stiphra robusta* sobre o tempo necessário para ocorrer eclosão das ninfas. Resultados são médias de 4 repetições de 100 ovos colhidos no campo e 80 ovos obtidos no laboratório.

Porém, a 3 e 1 cm de profundidade, houve necessidade de um maior período de incubação para ocorrer eclosão (de 40 a 69 dias para ovos do campo e de 123 a 177 dias para ovos do laboratório). No controle, o tempo para eclosão das ninfas de ovos incubados sob cajueiros foi semelhante ao normalmente observado na natureza, com cerca de 7 meses.

O estudo da profundidade de incubação revelou ainda, a possibilidade da interrupção da dormência ocorrida nos embriões de *S. robusta*, espécie que apresenta apenas um ciclo reprodutivo durante o ano (univoltismo). A partir dessa observação, um novo experimento foi conduzido com ovos recém ovipositados e mantidos em solo úmido, sendo o controle mantido no campo e incubado sob cajueiros (Tabela 5).

Em todas as repetições, os ovos originaram ninfas em laboratório num período que variou de 88 a 105 dias, confirmando assim a quebra da dormência desses embriões, uma vez que no controle, os ovos levaram até 7 meses para originarem ninfas, semelhante ao ocorrido na natureza.

**Tabela 5.** Quebra de dormência de ovos de *Stiphra robusta* obtidos em laboratório através da manutenção da umidade no solo de oviposição.

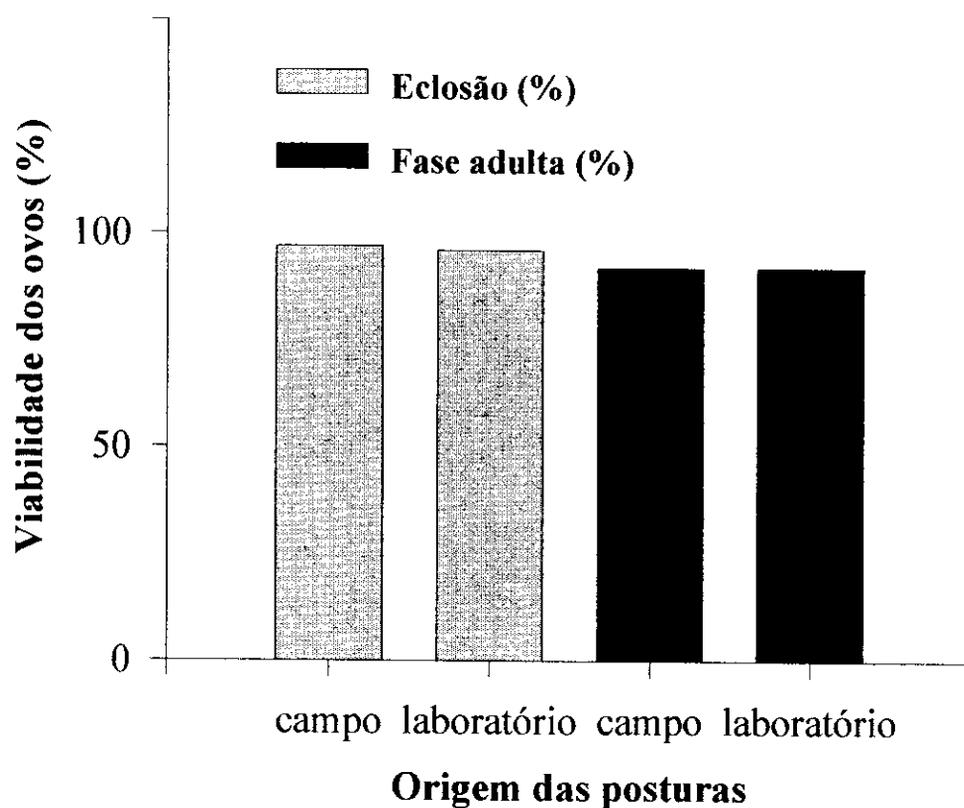
Repetições <sup>1</sup>	Ovos (N)	Eclosão (%)	Eclosão (dias)	Controle <sup>2</sup>
1	132	43,7	93	7 meses
2	61	98,3	105	7 meses
3	51	100,0	103	7 meses
4	74	94,5	88	7 meses
5	87	87,3	98	7 meses

<sup>1</sup>Média de ovos de 5 posturas para repetição n° 1 e de ovos de 3 posturas para repetições 2 a 5, todos ovipositados e incubados no mesmo dia.

<sup>2</sup>Controle mantido sob cajueiros no campo a 7 cm de profundidade.

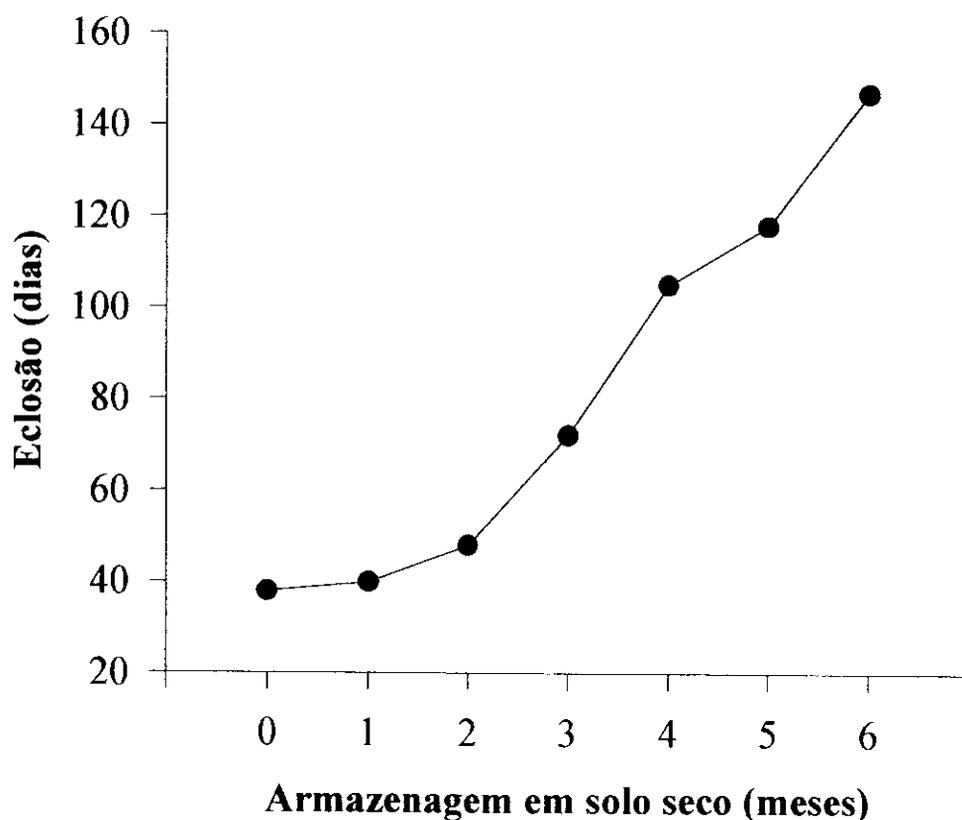
## 2 - Viabilidade e longevidade dos ovos

Ovos de *S. robusta* possuem alta viabilidade para originar ninfas saudias e com desenvolvimento normal até atingirem a fase adulta (Figura 7). Observa-se porcentagens elevadas de eclosão de ninfas de ovos colhidos no campo (97%) e laboratório (95%), sendo que, do total eclodido, cerca de 92% das ninfas atingiram a fase adulta em ambos os casos.



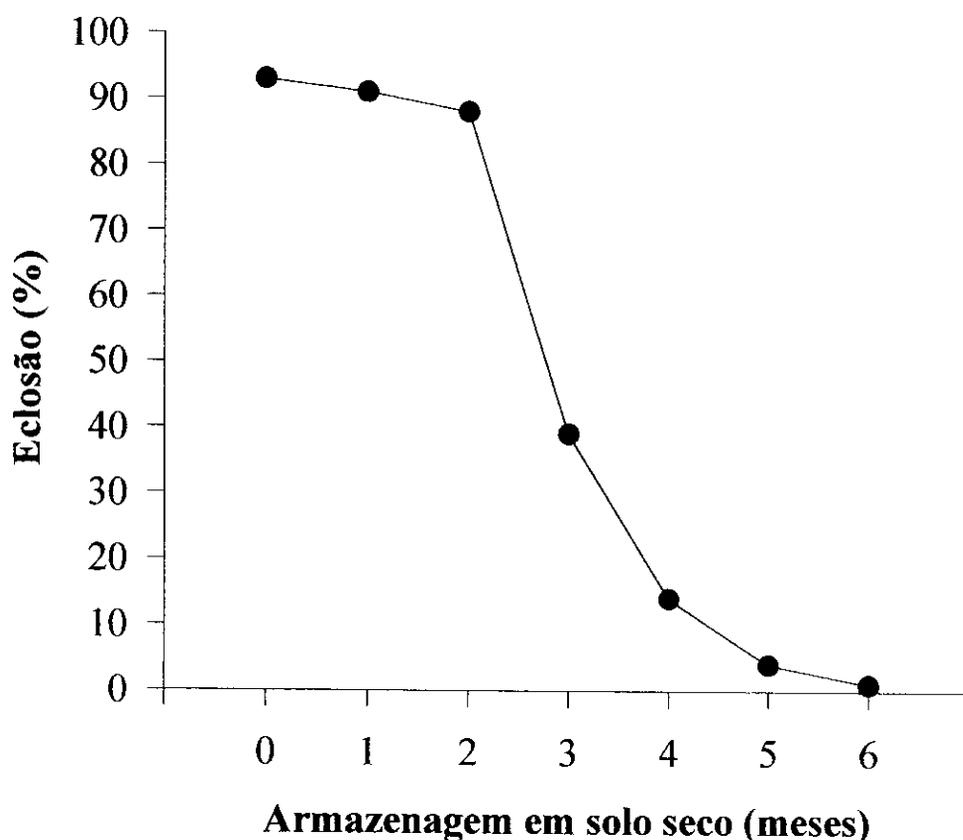
**Figura 7.** Viabilidade de ovos de *Stiphra robusta* colhidos no campo e no laboratório em relação aos insetos que atingiram a fase adulta. Resultados são médias de 10 repetições de 50 ovos cada.

Ovos provenientes do campo e armazenados em laboratório, porém, não se mostraram viáveis quando mantidos por períodos superiores a seis meses em solo seco, afetando a sua longevidade (Figura 8). O tempo necessário de incubação dos ovos em solo úmido para ocorrer o início da eclosão das ninfas foi crescente e diretamente proporcional ao tempo de armazenagem, variando de 38 a 147 dias. No controle, os ovos mantidos sob cajueiros no campo necessitaram de até 213 dias para iniciar eclosões de ninfas.



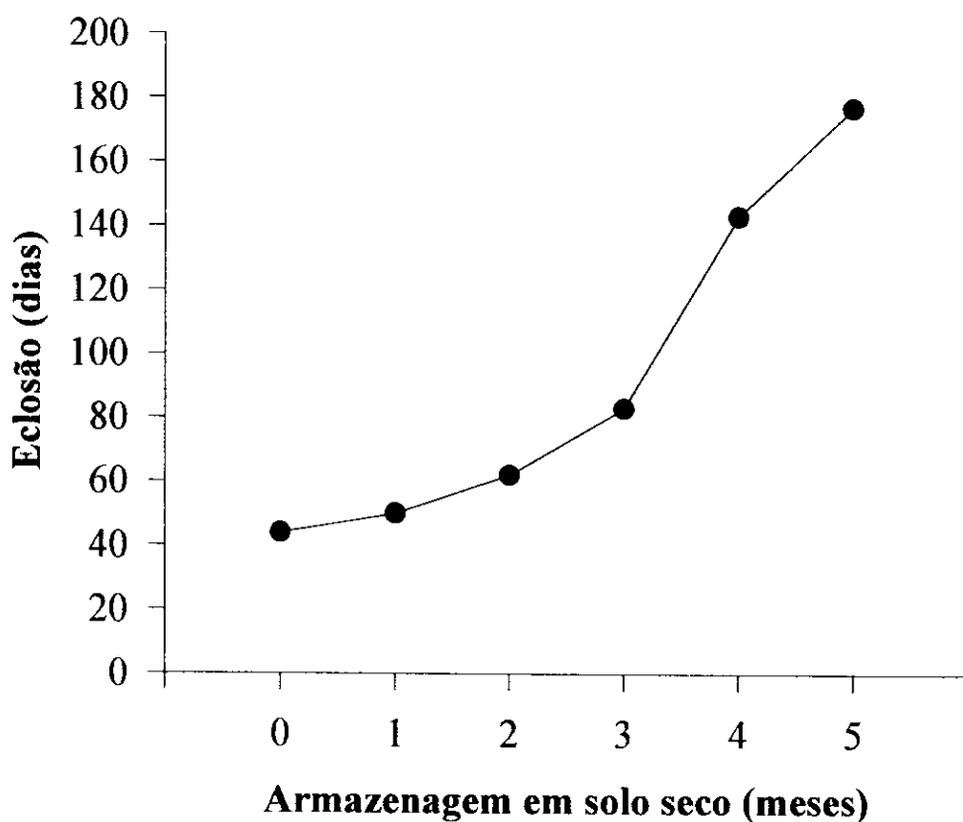
**Figura 8.** Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do campo, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre o tempo necessário para eclosão. Resultados são médias de 3 repetições de 50 ovos cada. Controle foi mantido sob cajueiros no campo.

O tempo crescente de armazenagem influenciou também a porcentagem de eclosão (Figura 9). Nos tratamentos onde os ovos foram incubados sem armazenagem (tempo 0), 93% de ninfas eclodiram. Com o passar do tempo de armazenagem, a eclosão caiu para uma taxa de apenas 1% após 6 meses, sendo que, a partir daí, os ovos não mais originaram ninfas.

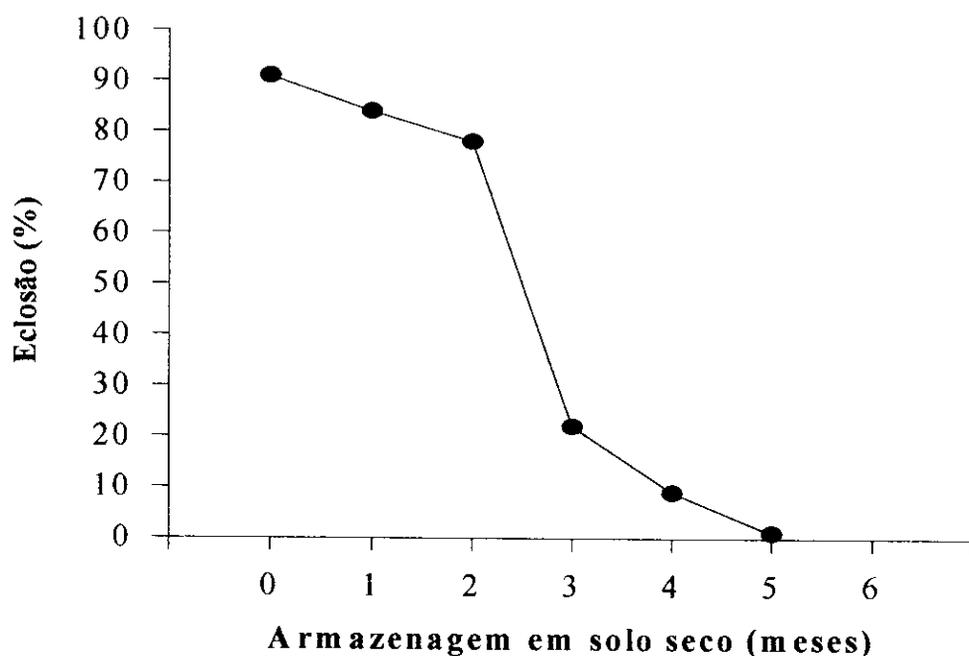


**Figura 9** – Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do campo, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre a porcentagem de eclosão de ninfas. Resultados são médias de 3 repetições de 50 ovos cada. Controle foi mantido sob cajueiros no campo.

Resultados semelhantes foram observados para ovos obtidos e armazenados em laboratório, porém, necessitando de mais dias de incubação (Figura 10). Com o passar do tempo de armazenagem, os ovos perderam sua viabilidade já após o 5º mês, resultando na paralisação da eclosão (Figura 11).



**Figura 10.** Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do laboratório, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre o tempo necessário para eclosão de ninfas. Resultados são médias de 3 repetições de 50 ovos cada. Controle foi mantido sob cajueiros no campo.



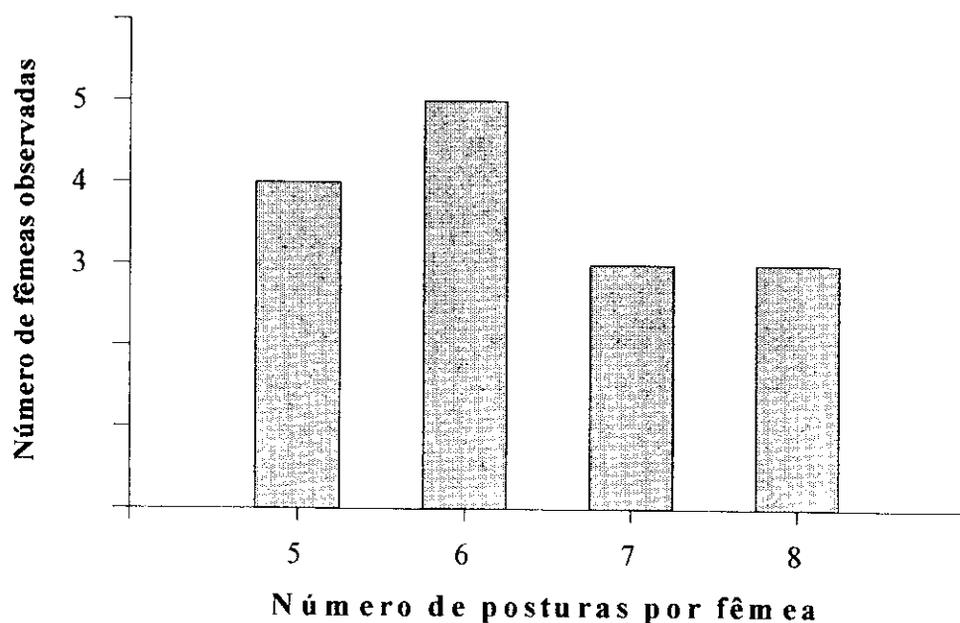
**Figura 11** - Influência do tempo de armazenagem de ovos de *Stiphra robusta* provenientes do laboratório, mantidos em solo seco por um período de até 7 meses, sobre a porcentagem de eclosão. Resultados são médias de 3 repetições de 50 ovos cada. Controle mantido sob cajueiros no campo.

### 3 - Comportamento sexual e capacidade reprodutiva

O comportamento sexual de *S. robusta* em cativeiro revelou um tempo de cópula variando entre 20 a 190 minutos. Em experimentos utilizando um número de dez machos e uma fêmea mantidos em uma mesma gaiola, somente dois dos machos realizaram cópula. Isso só ocorreu quando o primeiro macho abandonou a fêmea para se alimentar, sendo então substituído por um segundo indivíduo. Observações de laboratório e de campo mostraram que os machos interrompem ou diminuem a alimentação durante o período de acasalamento. A fêmea porém, mantém uma alimentação contínua. Também o comportamento normalmente

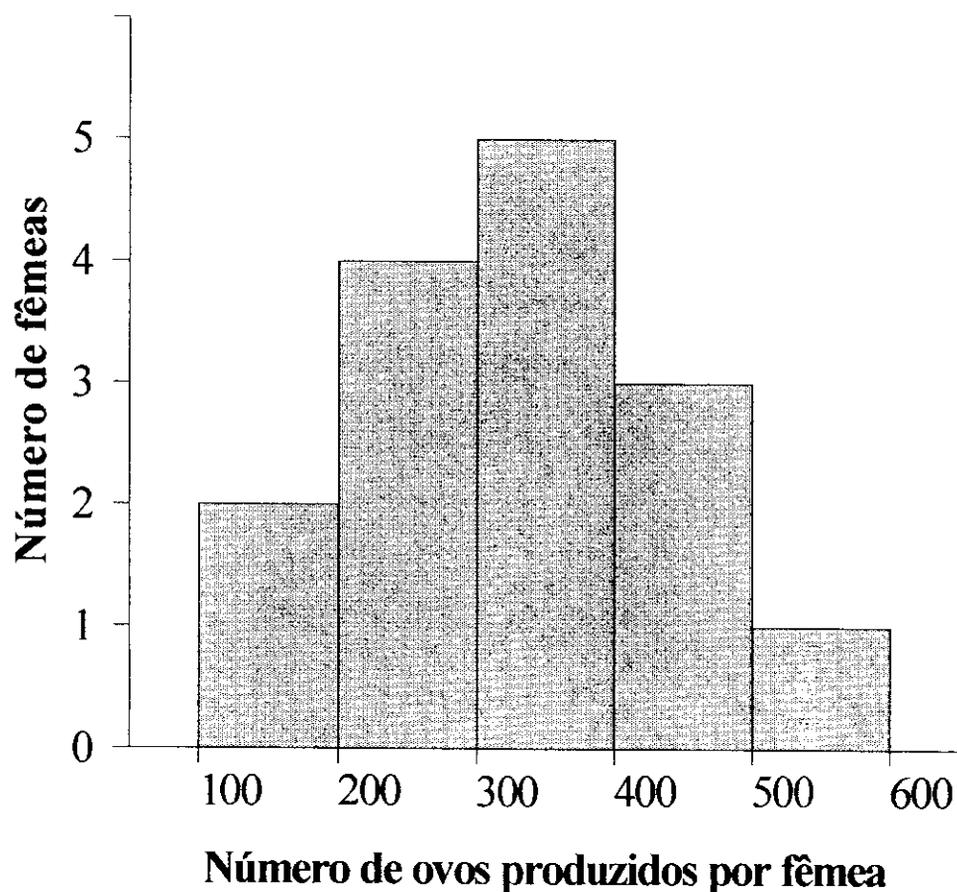
observado durante a fase de reprodução foi o dos machos montados sobre as fêmeas sem abandoná-las mesmo durante a realização da oviposição. Os machos restantes assumiram posição de cópula, formando aglomerados de insetos de mesmo sexo. Talvez, devido ao provável estímulo de hormônios sexuais (feromônios), ainda não detectado para a espécie. Já em experimentos utilizando dez fêmeas e apenas um macho mantidos em uma mesma gaiola, todas as fêmeas foram cobertas, algumas mais de uma vez.

A partir das observações de acasalamento, foi possível estimar o número máximo de posturas produzidas por cada fêmea em um ciclo reprodutivo, nas condições de laboratório (Figura 12). As 15 fêmeas analisadas produziram um total de 95 posturas, sendo o número mínimo observado de 5 oviposições (feitas por 4 das fêmeas) e o máximo de 8 (feitas por 3 das fêmeas).



**Figura 12.** Variação do número de posturas de *Stiphra robusta* produzidas por 15 fêmeas mantidas em cativeiro desde o início da fase reprodutiva até sua morte.

Com base nestes resultados, foi possível determinar o número máximo de ovos produzidos durante um ciclo reprodutivo em laboratório (Figura 13). Com isso, foi possível estimar a produção média de ovos ( $X = Y \pm SE$ ), resultando em 320 ovos por fêmea (a partir de um total de 4.801 ovos), bem como também o intervalo entre oviposição (Tabela 6).

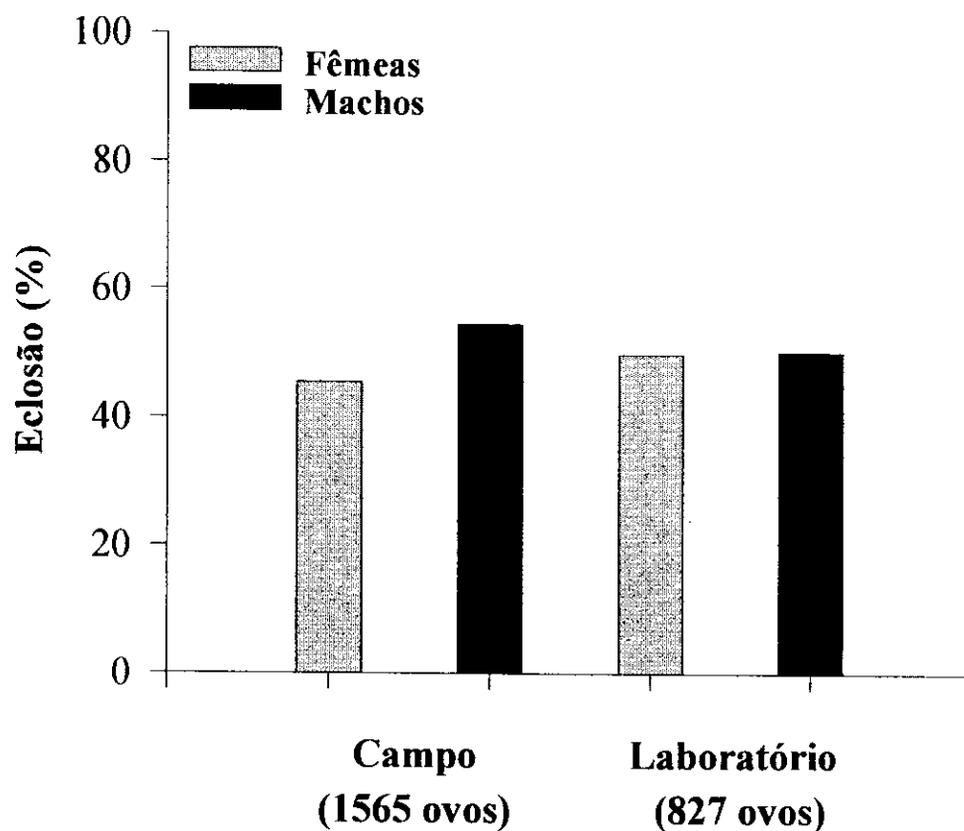


**Figura 13.** Número máximo e médio de ovos de *Stiphra robusta* produzidos durante um ciclo reprodutivo. Resultados são médias de oviposições de 15 fêmeas criadas em laboratório.

**Tabela 6.** Número de dias de intervalo entre 95 posturas de 15 fêmeas de *Stiphra robusta* estudadas durante o período fértil de vida, a partir do ato da primeira cópula.

Fêmea	Intervalo entre as oviposições (dias)							
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª
1	5	16	17	21	7	17	13	
2	4	17	20	17	29	05		
3	6	26	27	07	16			
4	7	15	45	08	27	13	11	6
5	7	13	19	20	29	20		
6	11	9	23	45	07			
7	6	15	22	19	23	11		
8	6	14	12	17	20	25	11	37
9	3	13	19	21	24	20		
10	5	17	20	17	24			
11	6	11	14	26	9	20	20	
12	7	14	17	20	9			
13	6	14	14	26	9	25	26	13
14	7	12	19	22	32	15	17	
15	5	14	14	28	23	24		
Média	6,7	14,7	20	21	19,4	17,5	16,3	19

Dos ovos analisados, a relação entre machos e fêmeas eclodidos assumiu a proporção de 50:50, ou muitas vezes próximas desses valores, tanto a partir de ninfas eclodidas de ovos do campo quanto de laboratório (Figura 14).



**Figura 14.** Porcentagem de machos e fêmeas de *Stiphra robusta* eclodidos a partir de ovos de posturas colhidas no campo e no laboratório. Resultados são médias de 10 posturas de cada origem.

A dependência da obtenção de insetos para realização de experimentos em diferentes épocas do ano mostrou a necessidade de se conhecer a quantidade de posturas que deveriam ser colhidas e armazenadas no laboratório. Assim, a busca por posturas no campo revelou a frequência de um número elevado de ovos presentes em cada uma delas

(Figura 15). De um universo de 242 posturas colhidas, cerca de 92,5% apresentaram um número superior a 150 ovos, sendo o mais comum de 185 unidades (57 vezes). Em laboratório, no entanto, o número de ovos por postura foi muito inferior, com o máximo de 102 ovos encontrados apenas 14 vezes. No entanto, o mais comum observado foram posturas contendo até 88 ovos em 18 delas (Figura 16).

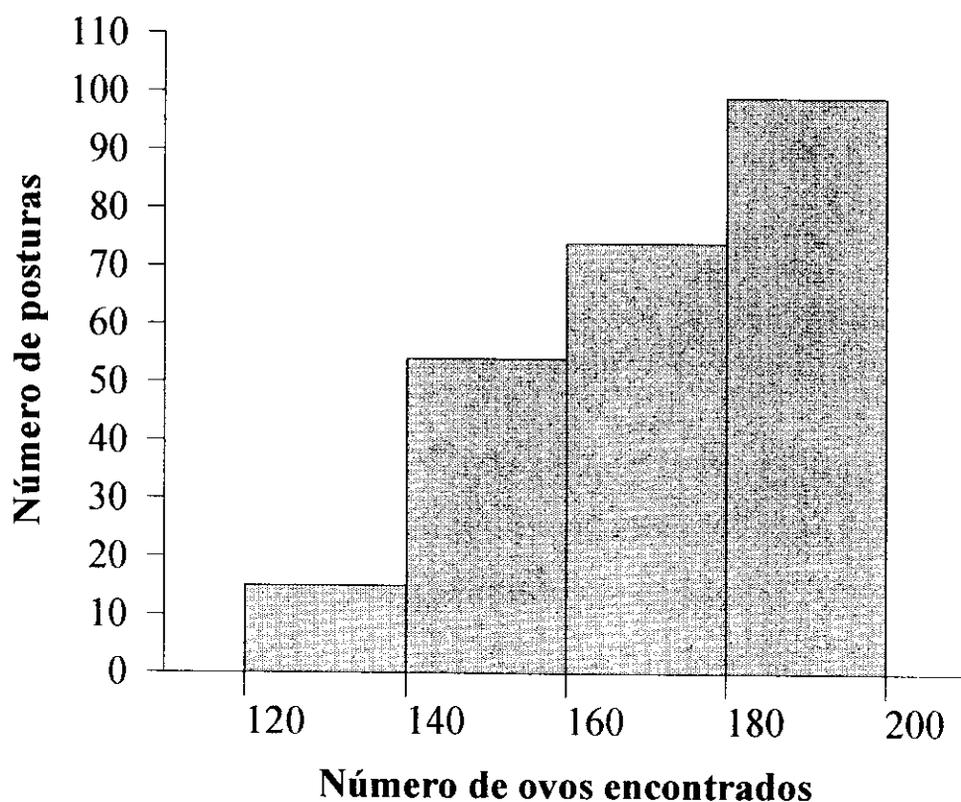
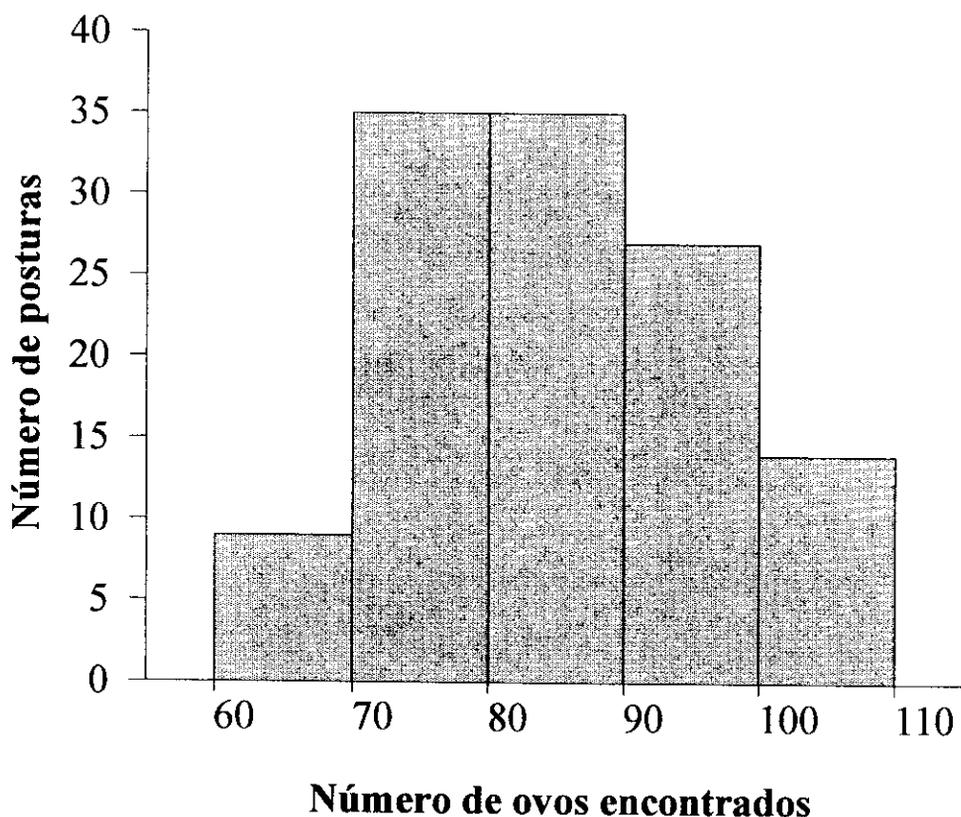


Figura 15. Análise da freqüência do número de ovos de *Stiphra robusta* normalmente presentes em 242 posturas colhidas no campo.



**Figura 16.** Análise da freqüência do número de ovos de *Stiphra robusta* presentes em 120 posturas obtidas no laboratório.

Através da análise do comprimento das posturas, também é possível estimar o número aproximado de ovos. Do total de 242 posturas colhidas no campo (Figura 17), foram encontradas medidas de comprimento que variaram de 3,2 a 5,0 cm, com 127 e 195 ovos, respectivamente ( $P < 0,001$ ). Em laboratório, porém, o comprimento das posturas foi inferior ( $P < 0,001$ ), variando de 2,2 a 3,5 cm, com 68 e 102 ovos, respectivamente (Figura 18).

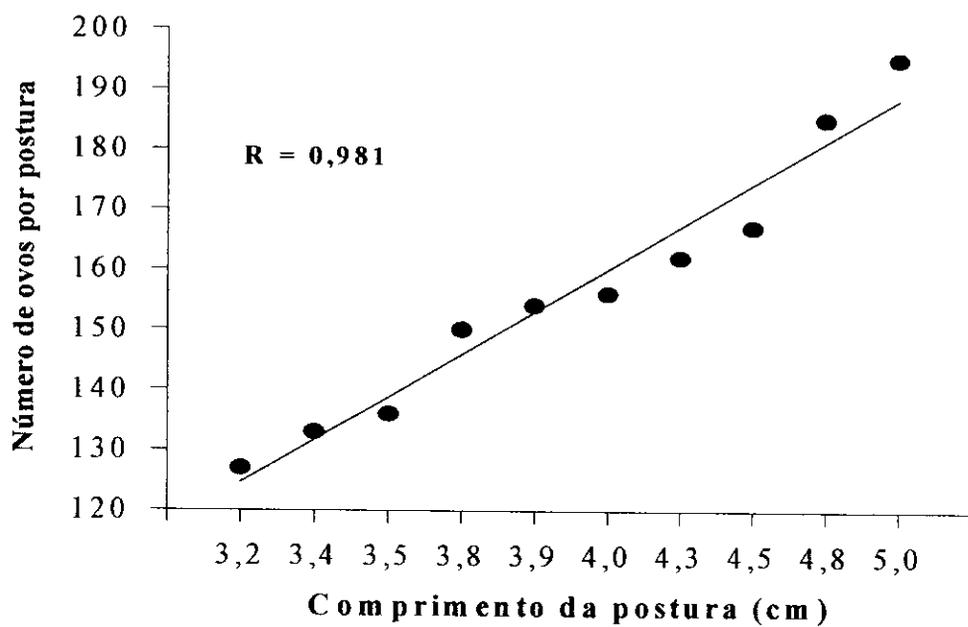


Figura 17. Frequência do número de ovos de *Stiphra robusta* em relação ao comprimento de 242 posturas colhidas no campo.

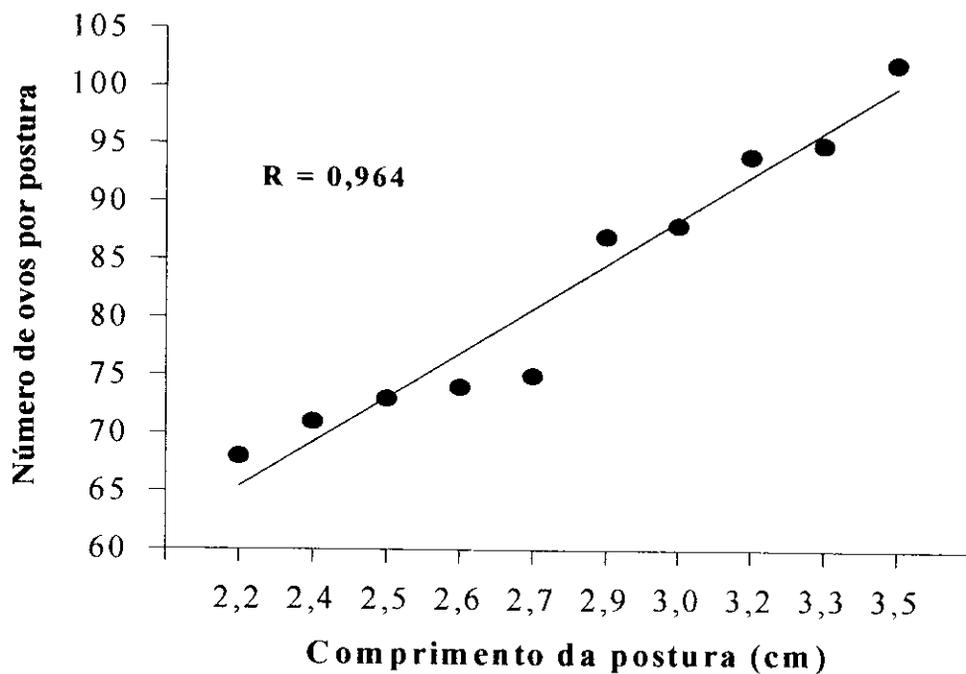


Figura 18. Frequência do número de ovos de *Stiphra robusta* em relação ao comprimento de 120 posturas colhidas no laboratório.

Com os dados de oviposição obtidos, foi possível estabelecer a fertilidade de *S. robusta*, fator chave para compreensão da dinâmica populacional desse gafanhoto, cujos resultados são pouco animadores (Tabela 7). Em laboratório, a espécie apresentou uma fertilidade específica elevada (produção total de ovos por fêmea e que resultarão em novas fêmeas). Aliado ao baixo índice de mortalidade observado (0,08%), o número final de novas fêmeas é alarmante, com cerca de 2.207 descendentes a partir de somente 15 mães.

**Tabela 7.** Tabela de vida de fertilidade baseada na análise de 15 fêmeas de *Stiphra robusta*.

Fêmeas	Mx	Lx	Mx.Lx
1	394/2 = 197	0,92	181,24
2	209/2 = 104	0,92	95,68
3	214/2 = 107	0,92	98,44
4	307/2 = 153	0,92	140,76
5	170/2 = 85	0,92	78,20
6	155/2 = 77	0,92	70,84
7	278/2 = 139	0,92	127,88
8	408/2 = 204	0,92	187,68
9	425/2 = 212	0,92	195,04
10	316/2 = 158	0,92	145,36
11	364/2 = 182	0,92	167,44
12	236/2 = 118	0,92	108,56
13	535/2 = 267	0,92	245,64
14	414/2 = 207	0,92	190,44
15	376/2 = 188	0,92	172,96
Σ	2.398	0,92	2.206,16

Mx = fertilidade específica (total de ovos pôr fêmea durante todo o período fértil e que resultarão em novas fêmeas. Lx = taxa de sobrevivência desde a eclosão até a fase adulta. Mx.Lx = número final de descendentes fêmeas.

#### 4 - Número de estádios e intervalo entre mudas

Para atingir o pleno desenvolvimento, *S. robusta* passa por sete estádios ninfais, como mostra a Tabela 8. Nota-se que os intervalos entre mudas dos insetos eclodidos a partir de ovos do campo e do laboratório foram semelhantes para todas as fases, tanto para machos quanto para fêmeas. No entanto, devido a falta de recursos óticos adequados durante a execução do experimento, os resultados entre machos e fêmeas dos estádios I a III de ambas as procedências foram os mesmos, uma vez que foi impossível a diferenciação sexual nestas fases.

O tempo total de desenvolvimento do inseto desde a eclosão até atingir a fase adulta, também foi semelhante para insetos de ambas as origens, com cerca de 71 a 106 dias para ninfas eclodidas de ovos do campo e 74 a 104 dias para as de laboratório.

**Tabela 8.** Número de dias necessários para mudança de fase ninfal entre indivíduos de *Stiphra robusta* eclodidos a partir de ovos colhidos no campo e no laboratório.

Número de estádios	Tempo para muda (dias)			
	Campo		Laboratório	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
I	7 a 12		8 a 12	
II	7 a 15		9 a 14	
III	8 a 12		9 a 12	
IV	9 a 13	9 a 14	8 a 12	10 a 13
V	10 a 14	11 a 14	11 a 12	10 a 14
VI	9 a 13	10 a 13	9 a 12	9 a 14
VII	10 a 12	9 a 14	10 a 12	8 a 13
Adultos	11 a 12	11 a 12	10 a 12	11 a 12
Tempo total	71 a 103	72 a 106	74 a 98	74 a 104

Resultados são médias de 6 repetições de 10 insetos para cada sexo.

## IV - Discussão

### 1 - Influência abiótica sobre os ovos

Em *S. robusta*, a queda das taxas de eclosão de ninfas observada a partir das menores profundidades de incubação, entre 3 e 0 cm (Figura 5), pode ter sido resultante de variações ambientais às quais os ovos estão sujeitos. Assim, o grande número de ninfas eclodidas nos tratamentos de 11 a 5 cm pode ter sido conseqüência de um melhor desenvolvimento embrionário na presença de maiores teores de umidade nesses níveis. Tal confirmação foi obtida a partir de cortes longitudinais feitos no solo dos recipientes de incubação, onde foi possível observar a formação de um gradiente de umidade. Neste gradiente, o solo apresentava-se mais seco nas camadas superficiais e mais úmido nas camadas mais profundas, onde os ovos estavam incubados.

Além disso, a diferença da necessidade de um maior tempo de incubação entre ovos colhidos no laboratório e no campo (Figura 6) pode revelar a necessidade de *S. robusta* manter a temperatura e umidade constantes por um determinado tempo, semelhante ao observado por Hilbert *et al.* (1985), em *A. elliotti* e *M. sanguinipes*. Nesse caso, os ovos de *S. robusta* colhidos no campo já haviam permanecido no local de oviposição durante toda uma estação e, portanto, mantidos sob influência ambiental daquele local. Dessa forma, apenas a presença da umidade contida nos recipientes de incubação poderia ter sido suficiente para desencadear o processo de desenvolvimento dos embriões. Por outro lado, os ovos obtidos no laboratório não ficaram expostos ao ambiente,

explicando assim, talvez, a necessidade de um tempo maior de incubação para ocorrer o desenvolvimento embrionário e a eclosão.

Uma provável confirmação dessa necessidade advém quando analisamos os ovos de laboratório recém ovipositados usados como controle e incubados no campo sob cajueiros. Nesse caso, os ovos permaneceram a mercê das condições ambientais, resultando na eclosão de ninfas somente após 220 dias (7 meses), mas semelhante ao normalmente observado na natureza.

Embora os resultados aqui obtidos tenham sido originados a partir de estudos realizados na Estação Experimental do Jiqui, distante 8 km do litoral e, portanto, de clima mais úmido que o do interior do Estado, onde se concentra a maioria dos sítios de postura de *S. robusta*, a ocorrência de períodos com baixos índices pluviométricos também é verificada nesse local (veja Figura 3). Dessa forma, os experimentos foram realizados durante o período mais seco do ano, onde os ovos utilizados como controle foram mantidos no campo desta Estação e puderam receber as influências climáticas do meio ambiente. Além disso, a presença natural de insetos e de sítios de postura em Bom Jesus (60 km do litoral), assim como também em Nízia Floresta (20 km do litoral), indica que *S. robusta* está adaptado também a esse hábitat, fator que corroboraria os resultados aqui obtidos. De qualquer forma, os ovos mantidos como controle sob cajueiros nesse local, só completaram seu desenvolvimento após 7 meses, indicando que a umidade foi suficiente apenas para a manutenção da viabilidade dos embriões, igualmente ao ocorrido no interior do Estado.

Embora os mecanismos fisiológicos de gafanhotos não sejam ainda conhecidos em sua totalidade, sabe-se que as taxas de desenvolvimento

embrionário estão fortemente correlacionadas com os fatores abióticos que atuam sobre o solo de oviposição (Wagner *et al.* 1984, Kemp 1986, Kemp & Onsager 1986, Kemp & Dennis 1989).

Embriões de muitas espécies de gafanhotos dependem de temperaturas constantes durante um certo número de dias para que ocorra o pleno desenvolvimento da pré e pós-diapausa (Hilbert *et al.* 1985). Essa dependência foi verificada em estudos de laboratório feitos com as espécies *Aulocara elliotti* e *Melanoplus sanguinipes* (Kemp & Sanches 1987), revelando a necessidade de tempos diferentes de manutenção da temperatura para completar o desenvolvimento da pós-diapausa. Isso, devido ao tipo de solo e a profundidade de incubação dos ovos. Nesse caso, a oviposição em *A. elliotti* é feita geralmente em áreas abertas, horizontalmente e a 1 cm de profundidade, resultando em uma rápida variação da temperatura dos ovos devido a proximidade com a superfície exposta ao meio ambiente.

Já em *M. sanguinipes*, a oviposição normalmente é feita em campos contendo vegetação rasteira, sendo realizada verticalmente e a 2 cm de profundidade, onde a variação da temperatura e umidade é menor e com menor intensidade.

A profundidade de incubação de ovos mostrou ser fator de influência também para gafanhotos das espécies *Chorthippus parallelus* e *C. brunneus* em laboratório (Monk 1985). Nesse caso, ovos de sítios de postura apresentando temperaturas mais baixas originaram ninfas mais rapidamente quando incubados em menores profundidades, indicando a necessidade do aumento de graus de temperatura para ocorrer eclosão, a qual é verificada nas camadas mais próximas da superfície.

## 2 - Viabilidade e longevidade dos ovos

O tempo normal para eclosão de ninfas de *S. robusta* no campo é em torno de 7 meses para as condições do Rio Grande do Norte, também observado em Pernambuco, com cerca de 220 a 240 dias (Souza *et al.* 1983). Contudo, a queda da viabilidade dos ovos em relação ao tempo de armazenagem em laboratório deve ser evitada a fim de se manter material disponível para a realização de estudos por um período maior de tempo.

No primeiro tópico deste Capítulo (profundidade de incubação dos ovos), a umidade foi um dos principais fatores relacionados com a porcentagem de eclosão, influenciando o desenvolvimento embrionário. Isso poderia explicar a queda da viabilidade dos ovos verificada na Figura 5, quando armazenados em solo seco. Estes ovos perderiam umidade para o meio, causando assim a morte do embrião. No campo, porém, os ovos estão sob influência das condições ambientais as quais estão adaptados. Com isso, a temperatura e umidade permaneceriam em teores ideais apenas para manutenção da viabilidade dos embriões.

Em presença de condições adversas, algumas espécies de gafanhotos podem sofrer o fenômeno da diapausa, caracterizada pela interrupção do desenvolvimento de estágios específicos do ciclo de vida dos insetos, tais como ovo, larva, pupa e adulto (Delinger 1986). Segundo este autor, a diapausa é geralmente regida por fatores climáticos, como a duração e quantidade de chuvas, fotoperíodo, insolação, entre outros, sendo necessária para ocorrer a maturação fisiológica desses estágios.

Em *S. robusta*, a ocorrência da diapausa dos ovos também é característica da espécie. Na natureza, no período de baixa umidade

ocorrido no final da estação chuvosa nos locais de oviposição, o embrião começa a segmentar-se, mas o processo é interrompido após a formação das membranas embrionárias (Launois 1984). Os ovos entram então em diapausa e assim permanecem até o início da próxima estação das chuvas. No entanto, a partir dos resultados de eclosão observados nos experimentos de laboratório (Figuras 5 e Tabela 5), a quebra de dormência dos ovos recém ovipositados foi obtida, originando ninfas viáveis e indicando que esse fenômeno pode ser interrompido.

Com isso, o surgimento de grandes populações de determinadas espécies de gafanhotos poderia ser explicado. Segundo Colvin (1996), o surgimento de surtos de gafanhotos *Oedaleus senegalensis*, espécie de ocorrência comum em Sahel (região oeste da África e de clima semi-árido), é decorrente da produção de um grande número de posturas. Dessas, porém, apenas 10% dos ovos originam ninfas em condições ambientais de temperatura e umidade desfavoráveis, sendo suficientes apenas para manutenção de nova reprodução. Quando em condições favoráveis, no entanto, os ovos acumulados em estado de dormência nos chamados "bancos de posturas" originam grandes quantidades de ninfas, ocasionando o surgimento de pragas.

Embora tenha sido verificada a queda na viabilidade dos ovos armazenados no laboratório em solo seco (Figuras 8 a 11), a sua manutenção por longos períodos no campo não foi possível de ser observada para este trabalho. No entanto, o surgimento de surtos periódicos de *S. robusta* talvez possa indicar essa possibilidade. Segundo observações feitas por Haji *et al.* (1983, em: Launois 1984), ocorrências de grandes populações foram verificadas em anos subseqüentes aos de menor

incidência de pluviosidade (1979 a 1983), em algumas regiões do nordeste (Haji *et al.* 1983, em: Launois 1984). A explicação para o surgimento desses surtos pode estar ligada ao fato de que, em épocas mais secas, ocorreriam migrações de gafanhotos para novas regiões em busca de alimentos, havendo portanto, oviposições nesses locais. Dessa maneira, devido à oscilação comumente verificada na frequência, intensidade e localidade das chuvas da região, os ovos permaneceriam acumulados e em dormência por um período maior de tempo. Destes ovos, apenas uma parcela eclodiria onde houvesse chuvas mais intensas, semelhante ao ocorrido em *O. senegalensis* e observado por Colvin (1996). Assim, quando da ocorrência de chuvas em localidades onde o clima apresentou-se seco durante um período maior de tempo, os ovos acumulados e mantidos em dormência originariam uma maior quantidade de insetos, ocasionando os surtos. Dessa forma, estas observações poderiam indicar que existe a possibilidade de manutenção da viabilidade dos ovos por um período mais prolongado. Porém, estas observações devem ainda ser melhor analisadas, afim de se obter novos dados que possam confirmar essa hipótese.

Os estudos sobre quebra de dormência de *S. robusta* ainda estão em fase inicial de investigação. Assim, novos experimentos devem ser realizados para determinar os teores de umidade ideais que devem ser mantidos nos recipientes de incubação para forçar a quebra dessa dormência. Com esses dados, alguns aspectos sobre a ecologia dessa espécie poderiam ser melhor entendidos, estudando-se, por exemplo, se ocorreria quebra de dormência quando de uma possível ocorrência de anos com maiores pluviosidades e qual seria o impacto ambiental resultante da presença, portanto, de dois ciclos do gafanhoto num mesmo ano.

Além disso, visto que a umidade induz a eclosão de ninfas, novos métodos de armazenagem devem ser pesquisados. Como exemplo, a liofilização, gradientes de temperaturas ou quaisquer outros que possam prolongar o tempo de armazenagem, poderiam garantir a realização de experimentos fora da época de ocorrência normal de *S. robusta*.

### **3 - Dinâmica populacional de *Stiphra robusta***

Mediante a análise do tamanho da postura com o auxílio de uma régua graduada, foi possível estimar o número aproximado de ovos presentes em cada postura. Embora essa estimativa pudesse ter sido obtida também através da pesagem das posturas, o uso desse método implicaria na necessidade da aquisição e transporte de uma balança de precisão durante a prospecção no campo, inviável na ocasião da execução desse trabalho. Como vantagem dessa estimativa, a manutenção de casais para reprodução em cativeiro poderia ser interrompida a partir da contagem e medição das posturas produzidas, resultando na economia de tempo para alimentação dos casais e espaço físico ocupado pelas gaiolas de reprodução. Da mesma forma, a coleta em campo poderia ser suspensa quando um número conhecido de posturas tivesse sido atingido, resultando em menor tempo de permanência no local e, proporcionando com isso, a execução de outras atividades, tais como observação de comportamento, inimigos naturais, alimentos alternativos, entre outras.

Os resultados observados no decorrer deste trabalho demonstraram a grande variação existente entre posturas realizadas durante um ciclo de reprodução de *S. robusta*, revelando a fecundidade potencial dessa espécie.

A fecundidade é determinada pelo número de ovariolos (número máximo de ovos que podem ser ovipositados por postura) e o número final de ovos ovipositados (Pfadt & Smith 1972). Como resultado, os gafanhotos podem produzir médias variadas de ovos de acordo com a estação do ano ou da disponibilidade de alimento, como normalmente ocorre com algumas espécies, tais como *Camnula pellucida*, *M. sanguinipes* e *Phaulacridium vittatum* (Joern & Gaines 1990, em: Chapman & Joern 1990). Além disso, essa diferença pode também ser resultante da alocação de recursos energéticos para manutenção da reprodução (Reznick 1985).

Embora os organismos utilizem energia para manutenção somática dos tecidos, crescimento corpóreo ou reservas, a alocação para reprodução depende de fatores bióticos e abióticos incidentes sobre o ciclo de vida do inseto (Calow 1983). Esses fatores podem influenciar diretamente a dinâmica populacional da espécie (Wall & Begon 1987). Neste caso, sob estresse causado por condições de temperatura e umidade impróprias, ou mesmo escassez e qualidade nutricional dos alimentos, as fêmeas podem produzir quantidades maiores ou menores de ovos.

Também, um fator que influencia o número final de ovos diz respeito à densidade de insetos. Esta influência foi observada por Wall & Begon (1987), onde o gafanhoto *C. brunneus* mostrou grande diferença no número, tamanho e desenvolvimento dos ovos de acordo com a densidade de indivíduos. Nesse caso, em laboratório, as fêmeas realizaram posturas com poucos ovos devido à baixa densidade de indivíduos. Com isso, uma vez que a competição alimentar era pequena, não houve necessidade da alocação de energia para reprodução. Por outro lado, em situações de campo com alta densidade de insetos, as fêmeas produziram posturas com

mais ovos. Isso, devido à grande competição alimentar, o que garantiria o êxito do estabelecimento da próxima geração.

Em *S. robusta*, o menor número de ovos observado entre posturas produzidas em laboratório e no campo pode ter sido consequência desses e dos seguintes fatores:

- a) baixa densidade de insetos nas gaiolas;
- b) variado tempo de duração da cópula (20 a 190 minutos, o qual permitiria uma maior ou menor transferência de esperma;
- c) possível influência da qualidade nutricional da alimentação, mesmo que trocada a cada dois dias;

Comparativamente, em situações de campo, o grande número de ovos presentes nas posturas de *S. robusta* poderia indicar a ocorrência de competição alimentar devido à maiores densidades. Nesse caso, as fêmeas produziram mais ovos para garantir a sobrevivência da espécie, semelhante ao ocorrido com outras espécies de gafanhotos.

Porém, apesar dos fatores atuantes sobre o número de ovos serem muitos na natureza, *S. robusta* parece ser uma espécie adaptada às pressões de seleção do ambiente, demonstrada pela razão sexual de 1:1. A razão sexual geralmente encontrada em uma ampla variedade de espécies de gafanhotos é de 50:50. Incluindo espécies que se alimentam de vegetais com diferentes teores de nutrientes e também para aquelas que apresentam ou não diapausa (Pfadt & Smith 1972). Uma vez que o gafanhoto *S. robusta* está disperso no campo em uma área ampla, as chances de encontro e acasalamento poderiam ser menores, o que favoreceria então, a manutenção desta razão sexual. Contudo, a observação de proporções muitas vezes diferentes pode ser interpretada erroneamente. Na maioria das

vezes, estes achados são resultantes da etologia do inseto, onde machos e fêmeas eclodiriam e morreriam em épocas diferentes, resultando assim, em um maior ou menor número de insetos do mesmo sexo (Joern & Gaines 1990, em: Chapman & Joern 1990). Este fato já foi observado para *S. robusta* onde, no final do seu ciclo de vida, um maior número de fêmeas foi encontrado (Souza *et al.* 1983).

A fertilidade específica de *S. robusta* obtida em laboratório indicou a possibilidade de resultar um número final de novos descendentes muito elevado, conforme mostrou a Tabela 7. No campo porém, estas observações carecem ainda de maiores estudos. Sabe-se, no entanto, que essa espécie de gafanhoto possui poucos inimigos naturais e tem uma alta capacidade de resistência sob condições adversas, principalmente alimentares. Esse fato foi observado ao final de alguns experimentos, onde um grande número de insetos sobreviveu por cerca de 10 dias sem se alimentarem. Com isso, o número de sobreviventes férteis no campo pode ser também muito alto, o que resultaria na manutenção de populações com elevado número de indivíduos. A importância desses resultados será ainda discutida no Capítulo III, com referência ao consumo foliar individual.

#### **4 - Maturação sexual**

Embora *S. robusta* passe por 7 estádios ninfais até atingir a fase adulta (Tabela 8), observou-se o início da reprodução a partir do 6º estágio. O equívoco entre estádios ninfais e início de cópula já é bem antigo, como dito anteriormente. Em 1946, Mello-Leitão descreveu *S. bitaeniata* como uma espécie nova baseando-se na observação de adultos de *S. robusta* com

características de comprimento do corpo, coloração distintas e ausência de cópulas (Mello-Leitão 1946, em: Moraes 1982). A sinonímia foi estabelecida por Moraes *et al.* (1982), observando o desenvolvimento das duas espécies mantidas separadamente em gaiolas. Neste trabalho, os autores relatam:

“ ... Desta maneira, constatou-se que os indivíduos identificados como *S. robusta* foram freqüentemente observados em cópula e jamais sofreram muda. Por outro lado, os indivíduos identificados como *S. bitaeniata* nunca foram observados em cópula, e invariavelmente passavam pelo processo de muda, tornando-se esverdeados e apresentando todas as outras características de *S. robusta*”.

Com base nessas observações, os autores consideraram *S. bitaeniata* como sendo o último estágio ninfal de *S. robusta*, estabelecendo-se então a sinonímia. Porém, embora concorde com a sinonímia, as observações feitas no presente trabalho não sugerem o proposto pelos autores, uma vez que não foi mencionado por eles, quais os estádios estudados. Na verdade, seu trabalho parece ter se baseado na análise de diferentes estádios da espécie chamada *S. bitaeniata* e de apenas adultos de *S. robusta*. No entanto, foi observado aqui todos os estádios das “duas espécies” de *Stiphra*, resultando no que segue:

- mesmo número de estádios para ambas as “espécies”;
- coloração diferente em *S. bitaeniata* mantida até o 7º estágio;
- mudança para cor semelhante a *S. robusta* após tornar-se adulto;
- cópula a partir do 6º estágio em ambas as “espécies”;

Os resultados descritos no presente trabalho foram obtidos a partir da observação diária de insetos jovens e de casais confinados. A cada muda, a

exúvia era retirada, permanecendo somente o inseto no seu novo estágio. Dessa maneira, foi possível confirmar a ocorrência de maturação sexual, com início da reprodução já a partir do 6º estágio, sendo que em alguns casos, os insetos passariam por mais uma muda. Tal fato pode ser comum, uma vez que, segundo Launois (1984), fêmeas de *S. robusta* pode sofrer até 8 mudas, porém, não confirmado no presente trabalho.

## V - Conclusões

O gafanhoto *Stiphra robusta* mostrou ser uma espécie de grande interesse para pesquisa devido principalmente à sua importância para a região nordeste. Embora apenas uma pequena parte dos estudos ecológicos dessa espécie tenha sido verificada, os resultados obtidos neste trabalho buscaram elucidar muitos pontos que ainda permaneciam desconhecidos.

Assim, a partir da análise da profundidade de incubação dos ovos em recipientes contendo solo úmido, foi possível demonstrar a necessidade da manutenção da umidade para ocorrer eclosões de ninfas, resultando na possibilidade da quebra de dormência desses ovos. Esses ovos, no entanto, não se mostraram viáveis quando armazenados por longos períodos em solo seco. Com isso, novos métodos de armazenagem devem ser pesquisados, uma vez que, se mantidos em solo úmido, ocorre o desenvolvimento embrionário, resultando em eclosões não desejadas.

O estudo da frequência e medição das posturas permitiu estimar o número aproximado de ovos, possibilitando diminuir o tempo destinado para a manutenção das gaiolas de reprodução. Com isso, mais tempo pode ser dedicado para outras atividades laboratoriais e de campo.

Foi observado que a grande quantidade de ovos presente nas posturas ovopositadas no campo deve-se, provavelmente, à maior competição alimentar. Isso resultaria também na maior mortalidade de indivíduos, sendo, portanto, uma possível estratégia utilizada por *S. robusta* para garantir a perpetuação da espécie.

A obtenção desses dados foi importante para se tentar elucidar o mecanismo de surgimento de surtos para esta espécie. O potencial de *S. robusta* em causar danos provavelmente reside no fato de que as fêmeas podem produzir muitas posturas com um grande número de ovos durante sua vida fértil. Com o comportamento adotado pelos insetos no campo em busca de alimentos, a migração para outras localidades é inevitável, difundindo-se assim, para regiões antes não povoadas. Nesses locais, uma vez que o caráter pluviométrico da região nordeste é errático, os ovos ali ovipositados permaneceriam em dormência quando em condições mais secas, eclodindo apenas uma pequena parcela. No entanto, após a ocorrência de chuvas de maior intensidade, os ovos ali acumulados, originariam grandes quantidades de ninfas, resultando então, nos surtos já verificados para a espécie. Além disso, a partir da observação da fertilidade das fêmeas, a grande produção de descendentes do sexo feminino poderia ampliar ainda mais o número de ovos no campo, resultando assim, em grandes focos de origem de novos surtos. Outra possibilidade para a ocorrência desses surtos seria a da manutenção periódica de áreas contendo esses insetos mas não controladas, fato de comum ocorrência na região nordeste.

Com isso, baseando-se nos dados obtidos a partir do estudo dos diferentes tópicos apresentados neste Capítulo, foi possível resumir o ciclo

biológico de *S. robusta* (Figura 19), utilizando essas informações em estudos de viabilidade do uso do fungo entomopatogênico *Metarhizium flavoviride* contra esse inseto, o qual será apresentado no Capítulo III.

O inseto apresenta um ciclo univoltino, ou seja, com apenas uma geração por ano. Depois de atravessarem a estação seca em dormência (cerca de 6 a 7 meses), os ovos ovipositados no solo ao redor dos troncos das hospedeiras absorvem água logo após as primeiras chuvas, tornando-se totalmente túrgidos e com desenvolvimento embrionário no prazo de 35 a 40 dias.

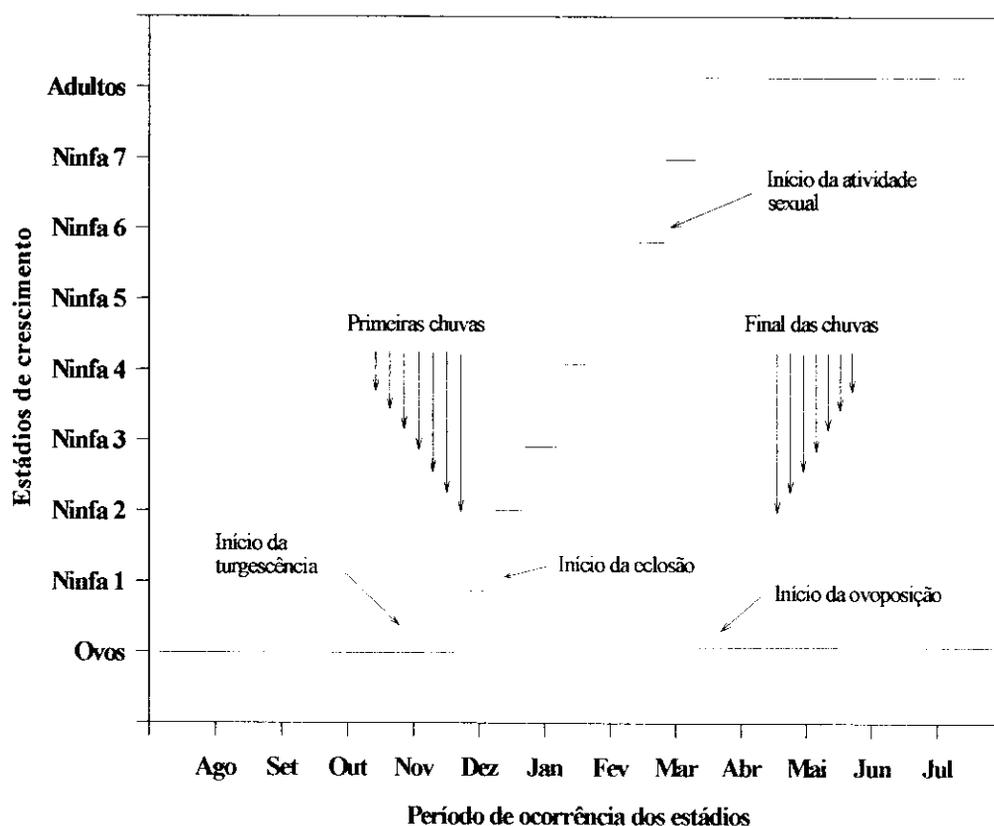


Figura 19. Ciclo Biológico do gafanhoto *Stiphra robusta*.

Com o crescimento paralelo da vegetação, as ninfas eclodidas encontram condições alimentares ideais. Os indivíduos vão se desenvolvendo, passando por 7 estádios de crescimento, com um intervalo entre os estádios variando de 10 a 12 dias e tendo um ciclo total de crescimento entre 70 a 90 dias (observou-se casos com até 104 dias).

Ao atingirem o 6º estágio, muitas fêmeas dão início da atividade sexual, que será contínua até o final da estação chuvosa. A oviposição ocorre a partir das primeiras cópulas, terminando também ao final das chuvas, onde o inseto irá morrer, totalizando um ciclo em torno de 6 a 7 meses de vida.

## **Capítulo III**

**Uso do fungo *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes)  
no controle biológico do gafanhoto *Stiphra robusta*  
(Orthoptera: Proscopiidae)**

## Uso do fungo *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes) no controle biológico do gafanhoto *Stiphra robusta* (Orthoptera: Proscopiidae)

**Resumo:** O Proscopídeo *Stiphra robusta* (Orthoptera) tem sido considerado há poucos anos como potencialmente capaz de tornar-se praga das lavouras do nordeste do Brasil. Visando o uso do entomopatógeno *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes) como agente de controle do inseto, alguns fatores atuantes na relação patógeno-hospedeiro foram analisados. O desenvolvimento do processo infectivo do fungo sobre o inseto foi influenciado pela temperatura. Taxas de até 100% de infecção foram obtidas a 27°C e 32°C, com início da mortalidade a partir do 5º dia. No entanto, a 17°C e 22°C, houve redução para 25% e 83% de infecção dos indivíduos, respectivamente. A virulência de *M. flavoviride* também foi afetada, variando de 3 dias para ocasionar início da mortalidade no tratamento sem exposição do patógeno ao ambiente à até 11 dias no tratamento com 4 dias de exposição, quando não mais se verificou mortalidade. O exame microscópico do processo infectivo revelou a formação de estruturas fúngicas típicas de *M. flavoviride*, semelhantes às observadas em outras espécies de gafanhotos infectados. Seu potencial em causar infecção foi mais eficazmente aproveitado em aplicações diurnas de inóculo (91%), em comparação ao período noturno (4,7%). Esta diferença resultou em 55,6% e 3,94% de área foliar consumida entre o período diurno e noturno, respectivamente. A preferência alimentar de *S. robusta* entre folhas contendo ou não suspensão fúngica não apresentou diferença significativa. Contudo, o consumo reduziu após a aplicação do fungo (de 64% para 48%), com interrupção da alimentação a partir do 4º dia. Com 4 dias de exposição do fungo ao meio ambiente, a taxa de infecção caiu de 83% para 57%.

**Use of the fungus *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes) in  
the biological control of the grasshopper *Stiphra robusta*  
(Orthoptera: Proscopiidae)**

**Abstract.** The infection process was influenced by temperature. Infection rates up to 100% were observed at 27°C and 32°C, with mortality onset at the fifth day. However, at 17°C and 22°C, there was a reduction in infection rates to 25% and 83%, respectively. Performance of *M. flavoviride* was affected by environmental factors, and mortality onset varied from 3 days in the treatment without conidial exposition to 11 days in treatment in which conidia were exposed during 4 days, after which mortality was no longer recorded. Better results were obtained when conidia were applied during the days (91%), in comparison to night applications (4.7%). This difference resulted in 55.6% and 3.94% of leaf consumption between day and night applications, respectively. Food consumption was reduced following fungal application (from 64% to 48%), and leaf ingestion was not observed from day 4<sup>th</sup> on. After 4 days exposure of conidia under field conditions, infection rate dropped from 83% to 57%.

## I - Introdução

Alguns estudos da viabilidade de controle biológico do gafanhoto *S. robusta* feitos em Pernambuco e utilizando o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* revelaram um alto grau de susceptibilidade desse inseto (Almeida *et al.* 1995b). No entanto, o fato do fungo *Metarhizium flavoviride* ter sido isolado de cadáveres de gafanhotos *Schistocerca pallens* na região do Rio Grande do Norte (Moreira *et al.* 1996), fez deste o principal candidato a agente de controle biológico de *S. robusta*, também presente nessa região.

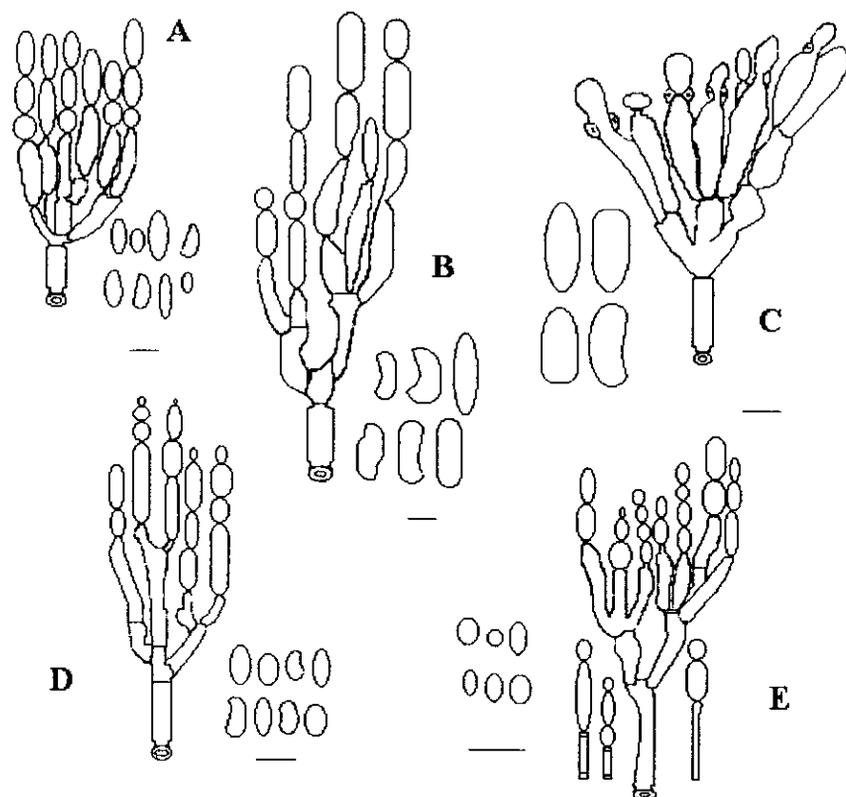
A utilização de *M. flavoviride* como agente biocontrolador de gafanhotos já é bem conhecida (Prior *et al.* 1990, Carruthers & Ramos 1991, Johnson *et al.* 1991, Bateman 1992, Prior 1992, Bateman *et al.* 1993, Milner & Prior 1994, Welling *et al.* 1994, Goettel *et al.* 1995a, Prior *et al.* 1995). Embora a maioria dos trabalhos com o fungo tenha sido feita para controle de espécies de gafanhotos de ocorrência comum no continente africano (Sieglaff *et al.* 1997), pesquisas do gênero estão sendo realizadas há alguns anos no Brasil. Ensaio de laboratório e de campo com *M. flavoviride* têm demonstrado ser este um importante aliado no controle biológico de gafanhotos, obtendo-se taxas de infecção satisfatórias (Faria & Magalhães 1993, Magalhães & Gama 1995, Vicentini & Magalhães 1996, Faria *et al.* 1999). O isolamento desse entomopatógeno abriu caminho para os trabalhos de controle biológico do gafanhoto *S. robusta* aqui desenvolvidos.

Apesar dessa espécie ter sido descrita na década de 1930 (Mello-Leitão 1939), somente há poucos anos tem recebido maior atenção.

Atualmente está sendo considerada como praga na região nordeste, causando prejuízos consideráveis principalmente em plantas frutíferas (Bastos 1975b, Cavalcante *et al.* 1975, Launois 1984, Cosenza *et al.* 1990, Cosenza *et al.* 1994) e culturas de eucalipto (Moraes *et al.* 1980, Haji *et al.* 1985). Recentemente, foi relatada a sua presença também em culturas de babosa no Estado do Maranhão e de videira no norte do Estado de Minas Gerais (Magalhães, comunicação pessoal), aumentando assim o rol de espécies consumidas.

De acordo com os dados relatados acima, alguns estudos sobre o comportamento de reprodução, desenvolvimento e ecologia do inseto (ver Capítulo II) realizados no Rio Grande do Norte, puderam ser ampliados e comparados. Os resultados obtidos tornaram possível a condução de experimentos sobre o uso de *M. flavoviride* como agente de controle biológico de *S. robusta*, objetivo do presente estudo.

O gênero *Metarhizium*, pertencente à família Moniliaceae (Hyphomycetes), é distribuído amplamente na natureza, sendo encontrado facilmente nos solos. Os conídios, geralmente hialinos ou pouco coloridos, são produzidos em cadeia, em células conidiogênicas fialídicas simples (Figura 20). Após o crescimento de hifas no exterior da cutícula dos insetos infectados, a aparência resultante da formação de micélio assume aspecto pulverulento e coloração cinza-esverdeada.



**Figura 20.** Exemplos de fungos entomopatogênicos do gênero *Metarhizium*. A) *M. anisopliae* var. *anisopliae*. B) *M. anisopliae* var. *majus*. C) *M. flavoviride* var. *flavoviride*. D) *M. flavoviride* var. *minus*. E) *M. album*. Barra = 5  $\mu$ m (Extraído de Alves 1998).

Estas espécies infectam seus hospedeiros principalmente via tegumento ou por via oral, em menor escala, quando presentes sobre folhas consumidas pelos insetos. De uma forma geral, no ciclo das relações patógeno-hospedeiro, o processo de infecção apresenta-se como demonstrado na Figura 21 e brevemente resumido como segue:

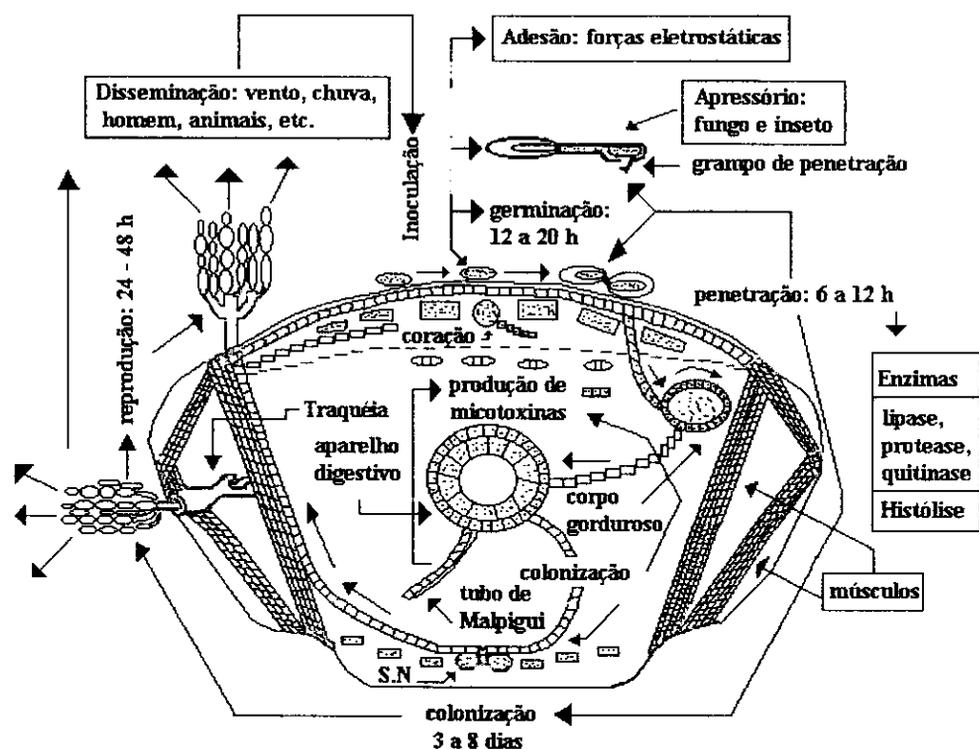


Figura 21. Ciclo das relações patógeno-hospedeiro. Modificado de Alves (1998).

**Adesão:** Uma vez disseminado por vento, chuva ou por contato físico entre insetos infectados, os conídios são depositados sobre a cutícula do inseto, onde irá ocorrer atividade enzimática (esterases e proteases), alterando sua superfície e favorecendo a nutrição e germinação do fungo.

**Germinação:** Sob condições favoráveis de temperatura, umidade, pH, oxigênio e luminosidade, a germinação ocorre com a emissão de um tubo, às vezes em ambas as extremidades do conídio (germinação bipolar).

**Formação de apressório:** Após a dilatação das hifas na extremidade do tubo germinativo, ocorre uma intensa atividade metabólica caracterizada

pela presença de mitocôndrias, ribossomos e outros componentes, facilitando a produção de enzimas necessárias para penetração.

**Penetração:** É o resultado do processo físico de pressão da hifa sobre a cutícula e da ação de enzimas (proteases, lipases e quitinases), as quais facilitam a ação do fungo e muitas vezes causam histólise das células na área de contato.

**Colonização:** Uma vez no interior do inseto, a hifa se ramifica inicialmente no tegumento do inseto e posteriormente no hemocele. Algumas vezes ocorre a formação de estruturas de proteção chamadas blastósporos, responsáveis pela manutenção das partículas infectivas livres de encapsulação formada pelo sistema de defesa do inseto.

**Reprodução:** Pode ocorrer de forma assexual, com ampla produção de conídios, ou sexual, através de conjugação de hifas.

**Morte dos insetos:** Após a morte dos insetos, as hifas emergem dos espiráculos ou áreas de menor resistência da cutícula, ganhando o exterior e formando uma trama de hifas (micélio) de coloração pardo-esverdeada contendo novos conídios.

**Disseminação dos conídios:** Nesse estágio, a disseminação dos conídios pode ser facilitada pela chuva, vento, contato físico entre insetos contaminados, homem, animais, entre outros. Ao encontrarem novos hospedeiros e sob condições ambientais favoráveis, reiniciam o processo de infecção.

Levantamentos recentemente realizados nas regiões brasileiras atacadas por gafanhotos indicaram a presença de um grande número de isolados de fungos entomopatogênicos (Magalhães, comunicação pessoal). Alguns destes isolados, em geral *M. flavoviride*, *M. anisopliae* e *Beauveria bassiana* apresentaram-se muito virulentas em testes de laboratório contra gafanhotos, sendo comparadas aos isolados mais promissores utilizados na África, Canadá e Estados Unidos (Faria & Magalhães 1993). A diferenciação das espécies do gênero *Metarhizium* é feita através de características morfológicas tais como cor e forma dos conídios, tipo de crescimento, esporulação, bem como por características das fiálides (Rombach *et al.* 1987). No entanto, estudos moleculares têm demonstrado que estas características morfológicas não representam adequadamente as distâncias genéticas para o que seria considerado espécie (Bidochka *et al.* 1994, Tigano-Milani *et al.* 1994). Com isso, anteriormente identificado como *M. anisopliae* var. *anisopliae* por R.A. Humber (ARS/USDA, Ithaca, NY), o isolado CG 423 utilizado em ensaios preliminares de controle de *Stiphra robusta* (Vicentini & Magalhães 1995) foi identificado como *M. flavoviride* após caracterização molecular feita por Magalhães *et al.* (1997). Atualmente, o fungo pertence ao grupo de *M. anisopliae* var. *acridum*, segundo revisão taxonômica baseada na análise filogenética da seqüência de DNA ribossomal (Driver *et al.* 1999).

O fungo isolado de cadáveres de gafanhotos *S. pallens* de ocorrência no nordeste (Moreira *et al.* 1996), foi primeiramente utilizado em experimentos de campo no Mato Grosso contra *R. schistocercoides* (Magalhães *et al.*, trabalho em andamento). Posteriormente, estudou-se também o processo infectivo do fungo sobre *R. schistocercoides* (Vicentini

& Magalhães 1996) e o comportamento alimentar do inseto quando infectado pelo patógeno (Faria *et al.* 1999), mostrando ser um organismo altamente virulento e com potencial para utilização em programas de controle biológico.

No entanto, como pode ser visto, as pesquisas de controle biológico de gafanhotos utilizando fungos entomopatogênicos no Brasil são recentes, tendo início em 1992 com o projeto integrado pelo Ministério da Agricultura, Embrapa e FAO (Magalhães 1994). Diante disso, existe ainda a necessidade de se obter informações básicas que gerem conhecimento da ecologia dos organismos envolvidos (fungo e inseto), consolidando as bases científicas para sua utilização. Com isso, analisou-se a dinâmica do processo de infecção, a influência de diferentes temperaturas na interação patógeno-hospedeiro e o melhor horário para aplicação fúngica para condições ambientais típicas do Rio Grande do Norte. Paralelamente, estudos sobre a preferência alimentar entre folhas pulverizadas ou não com suspensão fúngica, o consumo foliar após a infecção, a persistência do fungo em filoplanos expostos ao meio ambiente e o comportamento adotado pelo inseto durante a aplicação de suspensão fúngica também foram determinados.

## II - Material e Métodos

### 1 - Obtenção de *Metarhizium flavoviride*

O fungo *M. flavoviride* (CG 423) foi multiplicado em substrato a base de arroz parboilizado a 30°C por oito dias. Após o crescimento e a colheita dos conídios em querosene, o fungo foi formulado em óleo de soja + querosene (5%) e armazenado a 8°C por 7 dias. Toda a suspensão fúngica utilizada nos experimentos foi produzida nos laboratórios da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília-DF, gentilmente cedida para a realização deste trabalho.

### 2 - Estudos de Laboratório

#### 2.1 - Processo infectivo

A observação do desenvolvimento do processo infectivo de *M. flavoviride* sobre ninfas de segundo e quarto estádios de *S. robusta*, originadas de ovos procedentes do Rio Grande do Norte, foi feita em microscópio eletrônico de varredura (modelo Jeol, JSM 840A), no laboratório de microscopia eletrônica da Universidade de Brasília. Após a inoculação tópica com micropipeta contendo 3 µl de uma suspensão de 10<sup>7</sup> conídios/ml, os insetos foram mantidos em gaiolas (17 x 20 x 25 cm), a 26 ± 2°C e fotofase de 12 h, por até 7 dias. Os indivíduos analisados foram mortos diariamente por congelamento (0°C por 5 minutos). Em seguida, a área inoculada da cutícula foi retirada e os cortes resultantes preparados quimicamente, conforme metodologia normalmente utilizada para

observação em microscopia de varredura (Erlandsen *et al.* 1989, Silveira 1989) e fotografados em filme Neopan 120S.

## **2.2 - Efeito da temperatura no processo infectivo**

Em conjunto com o estudo do processo de infecção de *M. flavoviride* em *S. robusta*, foi feito um experimento para se conhecer a influência da temperatura sobre o desenvolvimento desse processo. Assim, ninfas de primeiro estágio originadas de ovos procedentes do Rio Grande do Norte e incubados em Brasília foram inoculadas por imersão em suspensão fúngica contendo  $10^7$  conídios/ml por cerca de dois segundos. Os insetos inoculados foram mantidos em caixas plásticas (11 x 11 x 5 cm), em câmara climatizada. Como tratamentos, foram testadas quatro temperaturas (17, 22, 27 e 32°C), sendo que foram distribuídos 12 indivíduos em cada uma delas. Os insetos utilizados como controle foram inoculados apenas com óleo + querosene (5%) e distribuídos em cada temperatura. As avaliações foram feitas diariamente até 19 dias após a inoculação. Os indivíduos mortos foram mantidos em câmara úmida para confirmação da infecção, sendo esta, determinada através da porcentagem de insetos que apresentavam estruturas fúngicas de *M. flavoviride* em relação ao número total de mortos.

## **2.3 - Horário de aplicação do patógeno**

Em experimentos preliminares de controle biológico do gafanhoto *S. robusta* realizados no Rio Grande do Norte, foi observado que a espécie

consumia pouca área foliar em certos períodos do dia. Dessa forma, para se testar o melhor horário de aplicação fúngica em relação às condições ambientais desse local e em relação ao consumo foliar dos insetos, dois tratamentos de alimentação com folhas pulverizadas com suspensão de  $5 \times 10^8$  conídios/ml foram oferecidos aos indivíduos:

- período diurno, com aplicação da suspensão fúngica às 5:00 horas
- período noturno, com aplicação da suspensão fúngica às 17:00 horas.

Em cada período, os insetos foram mantidos em gaiolas expostas ao meio ambiente (campo aberto) e contendo uma muda de cajueiro com 4 folhas numeradas e com área foliar obtida através do método de contorno da folha sobre papel gráfico (Kvêt & Marshall 1971). Após 12 horas de exposição aos insetos, as mudas foram retiradas e a área foliar resultante determinada. Os insetos mortos foram mantidos em câmara úmida para confirmação da infecção.

O experimento foi realizado com 3 repetições de 30 insetos/estádio, utilizando-se como controle os próprios tratamentos (o controle do período diurno foi o consumo noturno e vice-versa).

#### ***2.4 - Preferência alimentar***

Uma das primeiras questões antes da implantação de programas de controle biológico é se o inseto irá rejeitar o alimento contendo fungo. Para isso, o estudo de preferência alimentar de *S. robusta* entre folhas pulverizadas e não pulverizadas com conídios de *M. flavoviride* foi feito com mudas de cajueiro contendo duas folhas com área foliar previamente

determinada, mantidas em gaiolas expostas ao meio ambiente (campo aberto) com 15 insetos. Os tratamentos utilizados foram:

- pulverização de 0,5 ml de uma suspensão contendo  $5 \times 10^8$  conídios/ml em 100% da área foliar.
- pulverização de mesmo volume e concentração, mas realizada em apenas 50% da área onde uma das folhas foi envolvida por saco plástico para evitar contato com os conídios durante a pulverização, testando-se assim a preferência entre folhas contendo ou não fungo.

Como controle, utilizou-se mudas sem nenhuma pulverização. O experimento foi realizado com 10 repetições por tratamento. A verificação do efeito dos conídios sobre a alimentação se fez mediante a medição da área foliar consumida após 10 horas de exposição aos insetos.

### ***2.5 - Influência da infecção sobre o consumo foliar***

Do mesmo modo que o estudo anterior, o efeito da infecção pelo fungo sobre o consumo foliar do inseto foi determinado. Este efeito deve ser rápido e eficiente, resultando em menores prejuízos para as plantas. Dessa forma, esse estudo foi feito com a aplicação de 1 ml de suspensão de  $5 \times 10^8$  conídios/ml sobre mudas de cajueiro contendo 2 folhas cada, com área foliar previamente determinada e oferecidas a insetos no VII estágio. Após 24 horas, as mudas foram substituídas por outras não tratadas, determinando-se a área foliar consumida.

Paralelamente, analisou-se a porcentagem de infecção em relação a área foliar consumida, obtida pelo número de insetos mortos diariamente. O

experimento foi realizado em 3 repetições de 15 insetos cada. Como controle, foram utilizadas mudas com folhas não pulverizadas.

## ***2.6 - Virulência dos conídios expostos ao meio ambiente***

A utilização de entomopatógenos utilizados em programas de controle biológico depende da manutenção da patogenicidade dos organismos. Essa patogenicidade é verificada pela persistência do entomopatógeno manter a virulência com passar dos dias, mesmo quando expostos à condições adversas presentes no meio ambiente. Dessa forma, quanto mais tempo o patógeno mantiver a capacidade de causar infecção, maiores porcentagens de insetos mortos serão obtidas com o passar do tempo.

O estudo da virulência dos conídios de *M. flavoviride* pulverizados sobre filoplanos de cajueiro expostos ao meio ambiente foi realizado com aplicação de 1 ml de suspensão contendo  $2 \times 10^8$  conídios/ml de inóculo. Os tratamentos utilizados foram número de dias de exposição ao meio ambiente (0, 1, 2, 3, 4 e 5). A cada dia, uma gaiola contendo duas plantas pulverizadas (vasos com mudas de cajueiro) recebeu um lote de 46 insetos em 3 repetições. A cada dia, as plantas pulverizadas eram retiradas e substituídas por outras não pulverizadas, sendo adotado o mesmo procedimento diário e consecutivo para os outros tratamentos.

Os insetos mortos foram mantidos em câmara úmida para confirmação da infecção. Como controle, utilizou-se apenas mudas não pulverizadas, mantidas sob as mesmas condições do ambiente.

## *2.7 - Comportamento dos insetos sob pulverização*

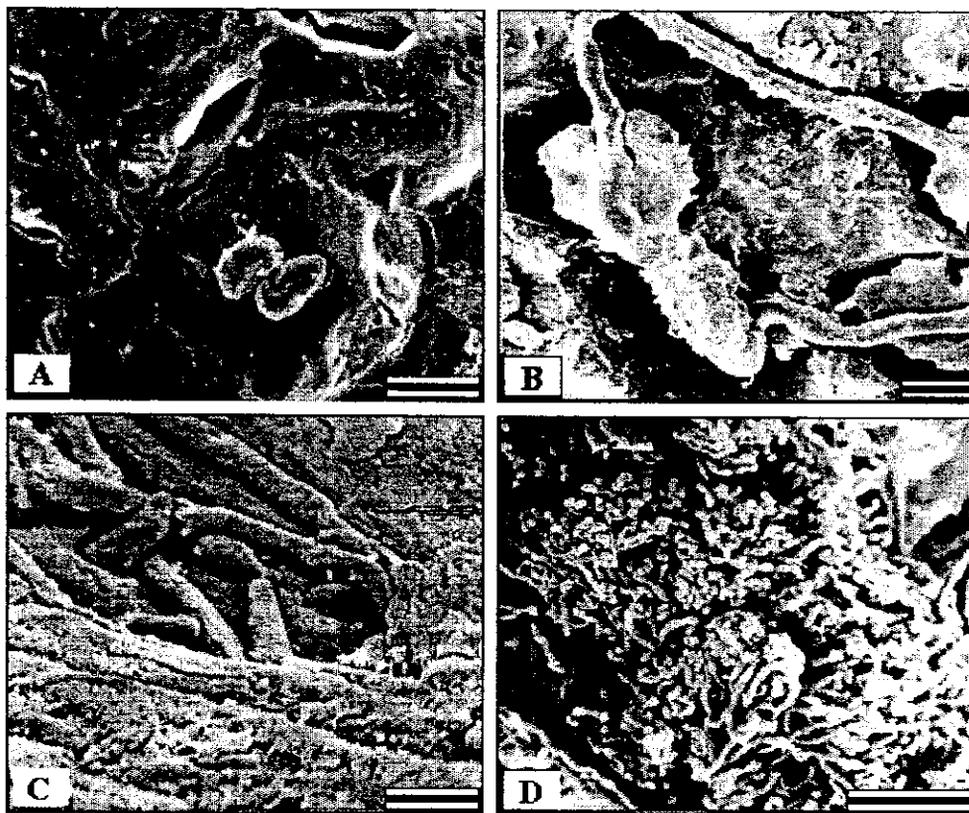
Uma das preocupações em relação à eficiência do método de aplicação da suspensão fúngica foi o tipo de comportamento adotado pelo inseto diante do uso do aparelho micro-ulva, normalmente utilizado em experimentos de controle biológico. Assim, os insetos foram levados ao solo sem vegetação, tipicamente encontrado nas plantações atacadas por estas pragas. Em seguida, pulverizou-se água com o aparelho, sendo observado o tipo de comportamento adotado pelo indivíduos. O número de insetos utilizados foi de 10 indivíduos para cada estágio e por sexo, analisando-se 10 saltos com intervalo de 5 minutos cada.

Num segundo tratamento, 30 insetos em diferentes estádios foram mantidos sobre folhas de cajueiro de uma planta jovem coberta com filó. Em seguida, pulverizou-se água sobre as folhas, sendo observado o tipo de comportamento adotado, como fuga por salto, fuga por caminhar, imobilização, camuflagem ou mesmo por manutenção da alimentação.

### III - Resultados

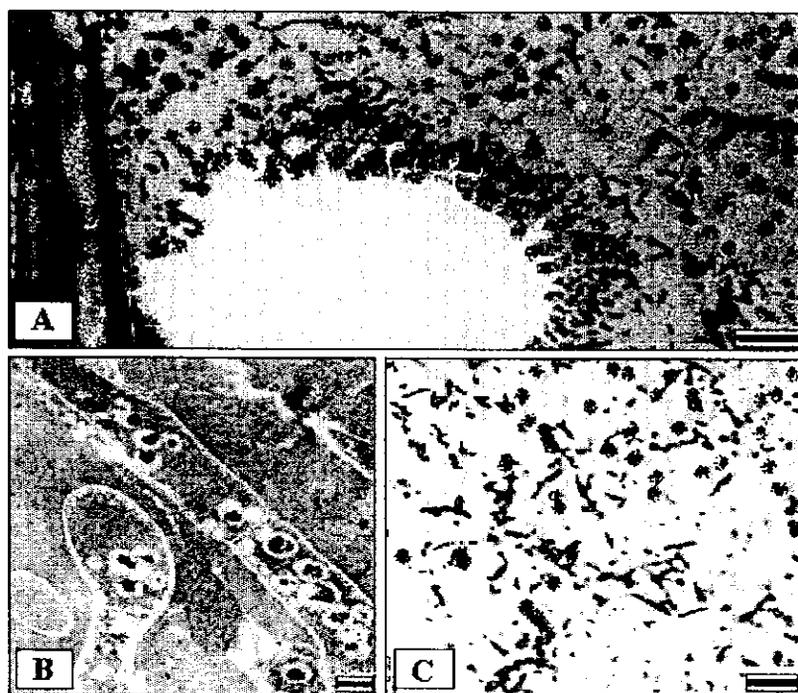
#### 1 - Processo infectivo

O desenvolvimento do processo infectivo de *M. flavoviride* sobre *S. robusta* foi obtido em laboratório (Figura 22). Após a aplicação tópica da suspensão fúngica sobre a cutícula do inseto, a infecção se iniciou com a adesão dos conídios sobre a superfície do hospedeiro (Figura 22a).



**Figura 22.** Desenvolvimento de *Metarhizium flavoviride* sobre cutícula de *Stiphra robusta*: (a), aspecto dos conídios após a aplicação; (b), germinação bipolar com formação de tubos germinativos; (c), crescimento e penetração de hifas nos tecidos do hospedeiro; (d), células conidiogênicas formadas nas cavidades do inseto. Barra = 8 $\mu$ .

A germinação dos conídios ocorreu 12 horas após a inoculação, com a emissão de tubos germinativos bipolares (Figura 22b). Na continuação do crescimento, os tubos germinativos originaram hifas frequentemente observadas percorrendo a cutícula do hospedeiro. A penetração ocorreu através de entradas naturais, tais como espiráculos, áreas de articulações ou pela cutícula (Figura 22c). No terceiro dia após a inoculação, as hifas desenvolvidas no interior de *S. robusta* formaram uma massa micelial onde houve intensa produção de conidióforos com cadeias de conídios (Figura 22d). A partir do crescimento fúngico interno (Figura 23), as células conidiogênicas fialídicas recém produzidas ocuparam todas as cavidades e espaços do interior do hospedeiro (Figura 23a).

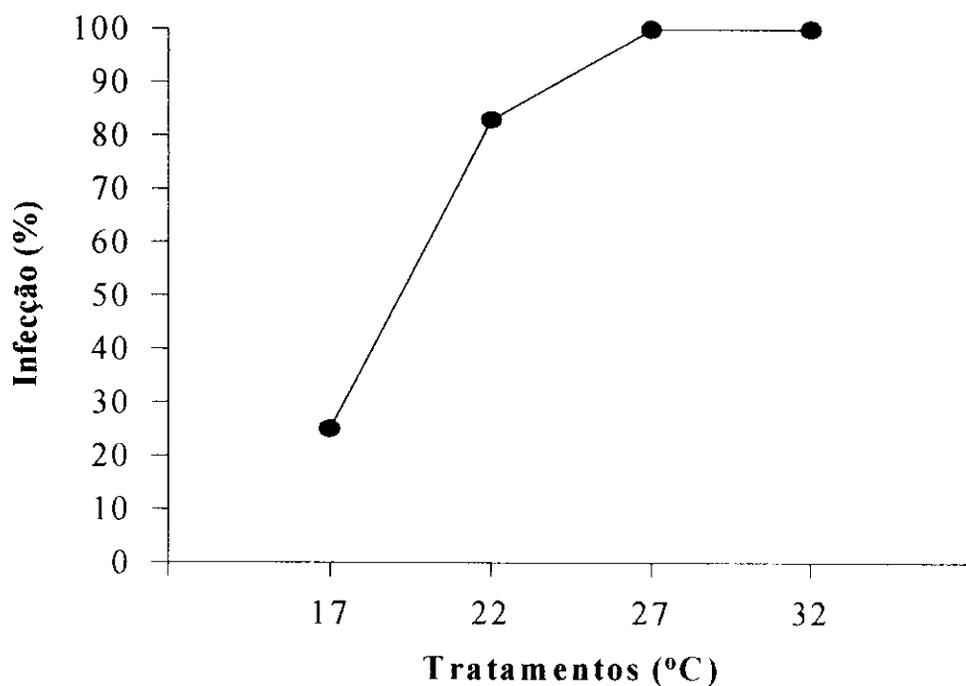


**Figura 23.** Desenvolvimento interno de *Metarhizium flavoviride* em cavidades e tecidos de *Stiphra robusta*: (a), conídios produzidos em cadeias no hemocele; (b e c), hifas crescendo através dos tecidos do hospedeiro. Barra = 8  $\mu$ .

Após a germinação interna dos conídios formados nessas células, o desenvolvimento das hifas ocorreu através dos tecidos do hospedeiro (Figura 23b), com posterior formação de novas cadeias de conídios entremeadas nesses tecidos (Figura 23c).

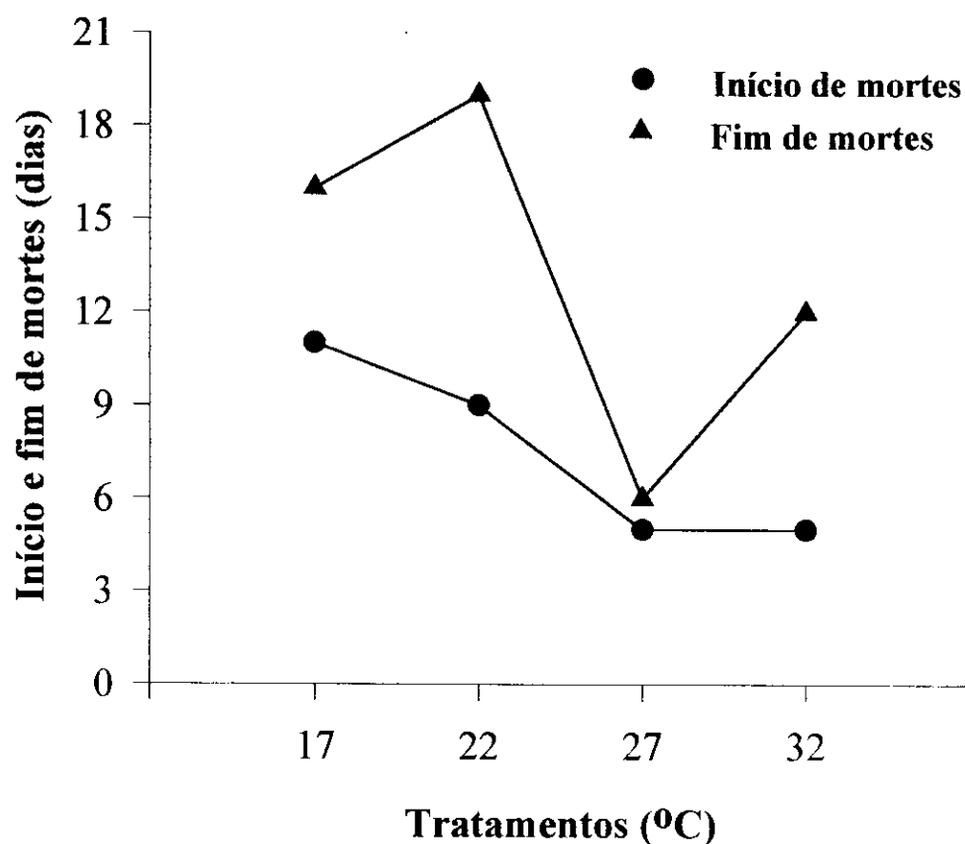
## 2 - Efeito da temperatura no processo infectivo

A temperatura de incubação de *M. flavoviride* afetou o desenvolvimento do processo de infecção de *S. robusta* (Figura 24). Taxas de mortalidade e infecção de até 100% dos indivíduos tratados foram obtidas a 27°C e 32°C. No entanto, a 22°C, houve queda da mortalidade e infecção para 83% e apenas 25% a 17°C. Nenhum indivíduo utilizado como controle (sem fungo).



**Figura 24.** Influência da temperatura sobre a taxa de infecção de *Metarhizium flavoviride* sobre *Stiphra robusta* em condições de laboratório.

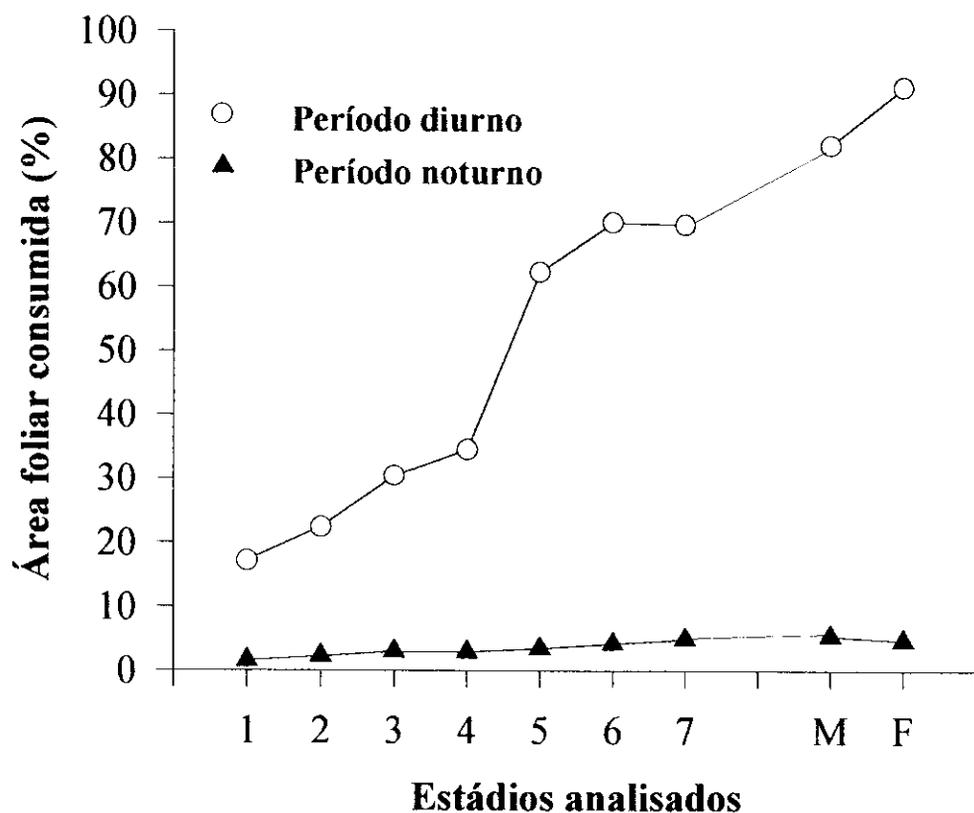
A temperatura afetou também a virulência do patógeno com o decorrer dos dias de incubação (Figura 25). Na temperatura de 17°C, o fungo necessitou de 11 dias para iniciar a mortalidade dos indivíduos, atingindo o tempo total de infecção após 16 dias. À medida em que a temperatura se elevou, o tempo necessário para iniciar a morte dos insetos foi menor, caindo para 9 dias a 22°C e apenas 5 dias nas temperaturas de 27°C e 32°C. No entanto, o tempo total de infecção da população estudada foi variável, havendo necessidade de até 19 dias a 22°C e de apenas 6 dias a 27°C.



**Figura 25.** Influência da temperatura sobre a virulência de *Metarhizium flavoviride* aplicado em *Stiphra robusta*.

### 3 - Horário de aplicação do patógeno

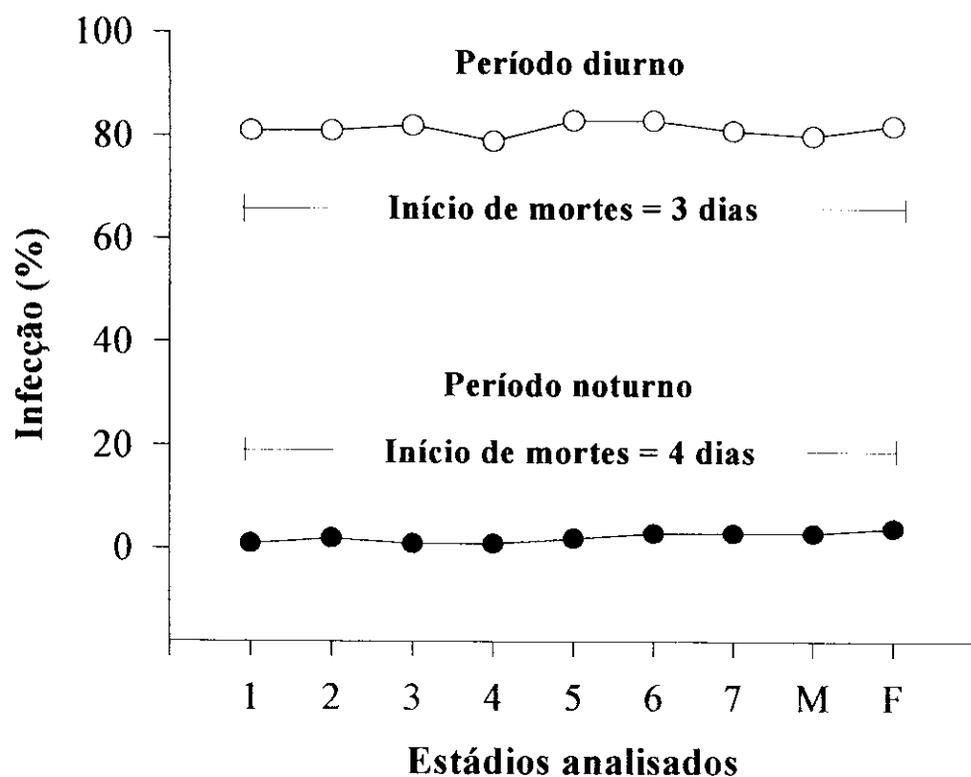
O estudo sobre o melhor horário de aplicação fúngica em relação ao hábito alimentar de *S. robusta* envolveu a análise do consumo foliar em dois períodos distintos (diurno e noturno), mostrando uma diferença marcante entre eles (Figura 26).



**Figura 26.** Consumo foliar de *Stiphra robusta* após 12 horas de exposição a dois períodos de alimentação. Resultados são médias de 3 repetições de 30 insetos em cada estádio. M = machos adultos e F = fêmeas adultas.

No período diurno, nota-se porcentagens crescentes de área foliar consumida à medida em que os insetos vão mudando de fase. Já a partir do primeiro estádio, houve um consumo de até 17% da área foliar. No entanto,

para a mesma fase ninfal no período noturno, apenas 1,5% da área foliar foi consumida. Essa diferença acentua-se ainda mais quando são feitas comparações entre insetos adultos. Nesse caso, consumos variando de 82 a até 91% da área foliar foram observados durante o dia. No período noturno, porém, a área foliar consumida foi de apenas 5,5% (macho) e 4,7% (fêmea). Estes resultados demonstram que o inseto possui hábito alimentar diurno, indicando, dessa forma, que a aplicação fúngica em outros horários que não nos períodos logo após o amanhecer resultariam em menores taxas de controle, conforme o observado na Figura 27.

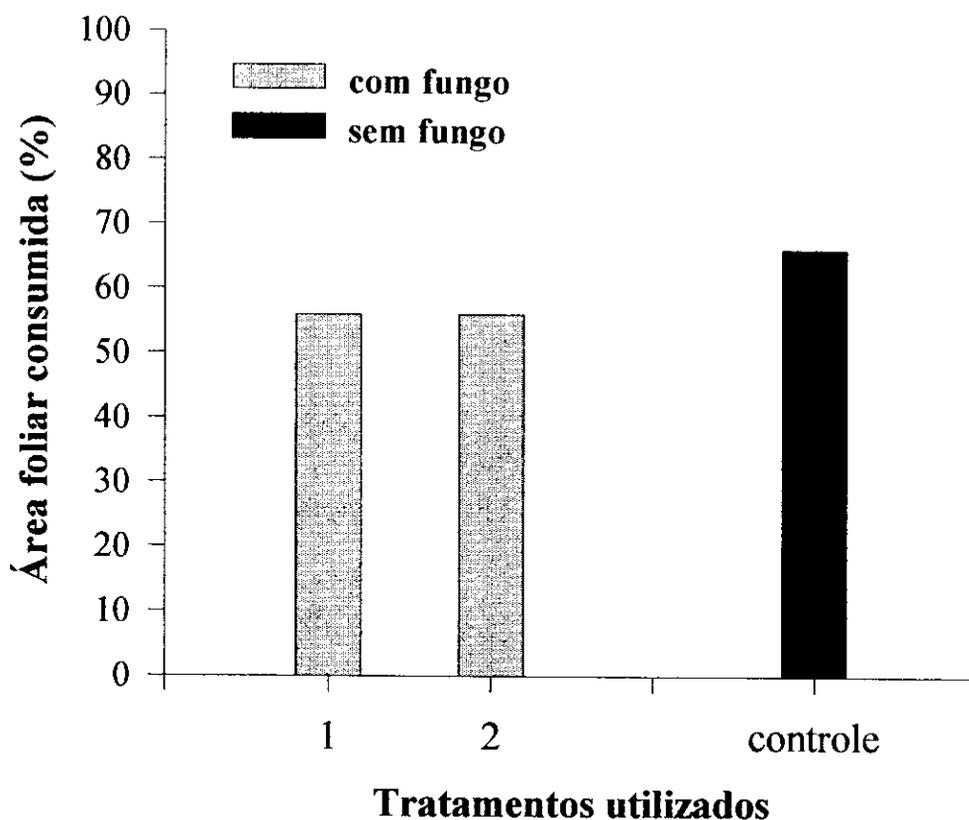


**Figura 27.** Infecção de *Stiphra robusta* em seus diferentes estádios após 12 horas de exposição a dois períodos de alimentação com folhas de cajueiro contendo conídios de *Metarhizium flavoviride*. Resultados são médias de 3 repetições de 30 insetos.

Nesse caso, o hábito alimentar de *S. robusta* afetou diretamente a taxa de mortalidade e infecção dos insetos após 12 horas de alimentação de folhas contendo conídios de *M. flavoviride*. Como mostrado nessa Figura, quando a aplicação da suspensão fúngica foi realizada no final da tarde (período noturno), o tempo para os insetos começarem a morrer foi de 4 dias, resultando em taxas mínimas de infecção (de 1 a 4% observada entre o primeiro estágio até os estágios de fêmeas adultas). Ao contrário, em aplicações diurnas, altas taxas de infecção foram observadas em todos os estágios (em torno de 80%). Estes resultados tornam-se óbvios quando se compreende que os conídios permaneceram expostos ao ambiente por cerca de 12 horas (período noturno) sem contaminarem os insetos no momento da alimentação.

#### **4 - Preferência alimentar**

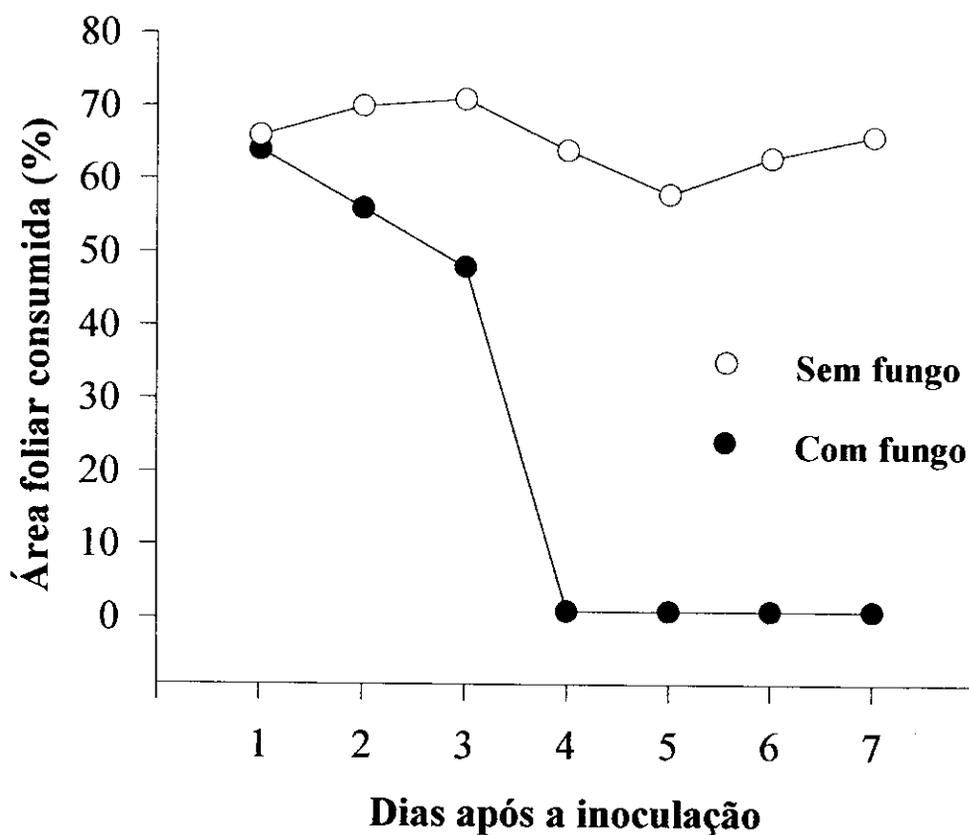
A espécie *S. robusta* mostrou ter moderada preferência entre folhas de cajueiro pulverizadas e não pulverizadas com *M. flavoviride* (Figura 28). Após 10 horas de exposição das folhas aos insetos, notou-se consumos menores entre os tratamentos onde o fungo foi aplicado (tratamentos 1, 2) e o controle ( $P \leq 0,001$ ). Porém, mesmo que os tratamentos contivessem de 50 a 100% das folhas pulverizadas, os insetos ainda consumiram cerca de 56% de sua área foliar, corroborando a viabilidade da utilização desse patógeno no controle biológico de *S. robusta*.



**Figura 28.** Preferência alimentar de *Stiphra robusta* entre folhas pulverizadas e não pulverizadas com *Metarhizium flavoviride* após 10 horas de consumo: (1), folhas com área 100% pulverizada; (2), folhas com área 50% pulverizada; Controle, sem pulverização.

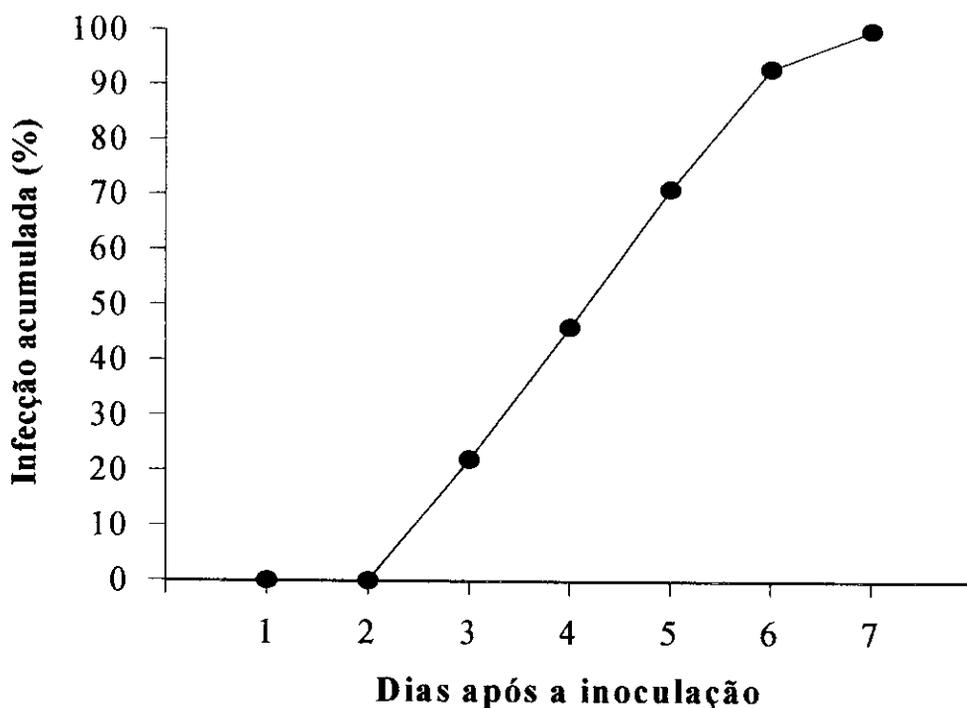
#### 5 - Influência da infecção sobre o consumo foliar

O consumo alimentar de *S. robusta* foi altamente afetado após a ingestão de folhas pulverizadas com *M. flavoviride*, caindo de 64% da área foliar observado no 1º dia, a 0%, já no 4º dia (Figura 29). Em plantas utilizadas como controle sem a pulverização, o consumo foi verificado durante todos os dias, variando entre 58 a 71%.



**Figura 29.** Consumo foliar de *Stiphra robusta* após aplicação de suspensão de *Metarhizium flavoviride* em condições de campo. Resultados são médias de 3 repetições de 15 insetos cada. Não houve mortalidade observada no controle utilizando folhas não pulverizadas.

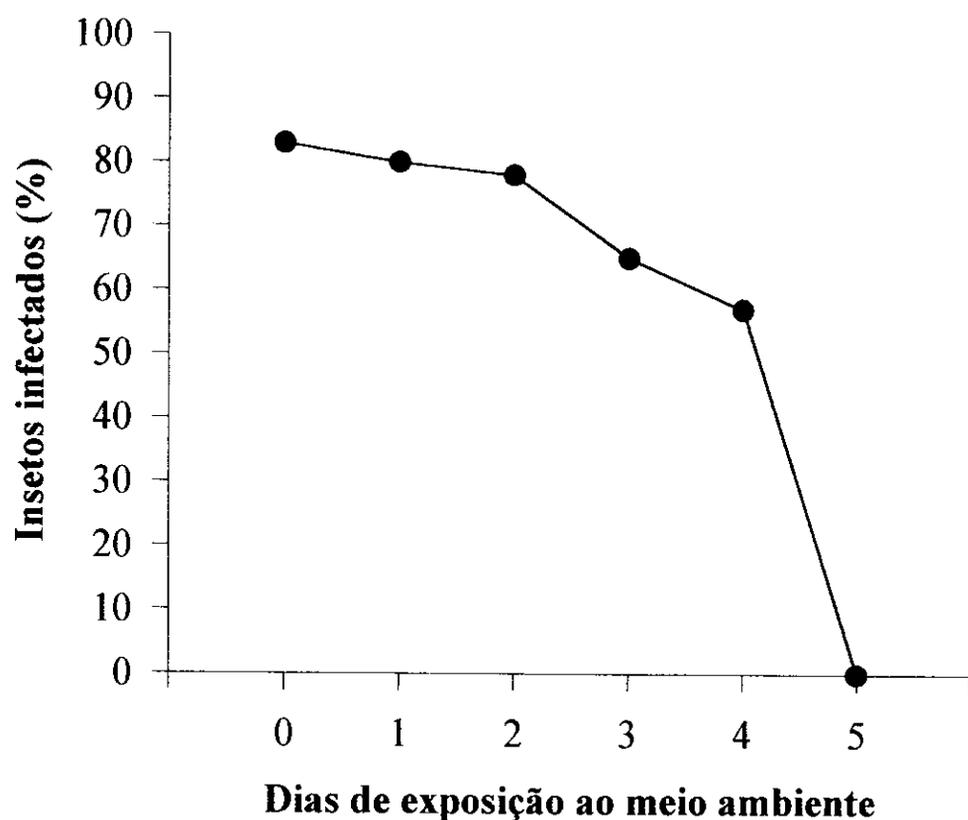
Estes resultados podem estar relacionados com as taxas de infecção observadas na Figura 30. Nesse caso, a infecção se iniciou a partir do terceiro dia, coincidindo com a queda da alimentação ocorrida entre o terceiro e quarto dias observada na Figura anterior, com tempo total de 7 dias para causar 100% da mortalidade e infecção.



**Figura 30.** Infecção acumulada de ninfas de VII estágio de *Stiphra robusta* após 7 dias da inoculação com suspensão  $5 \times 10^8$  conídios/ml de *Metarhizium flavoviride*. Resultados são médias de 3 repetições de 15 insetos cada.

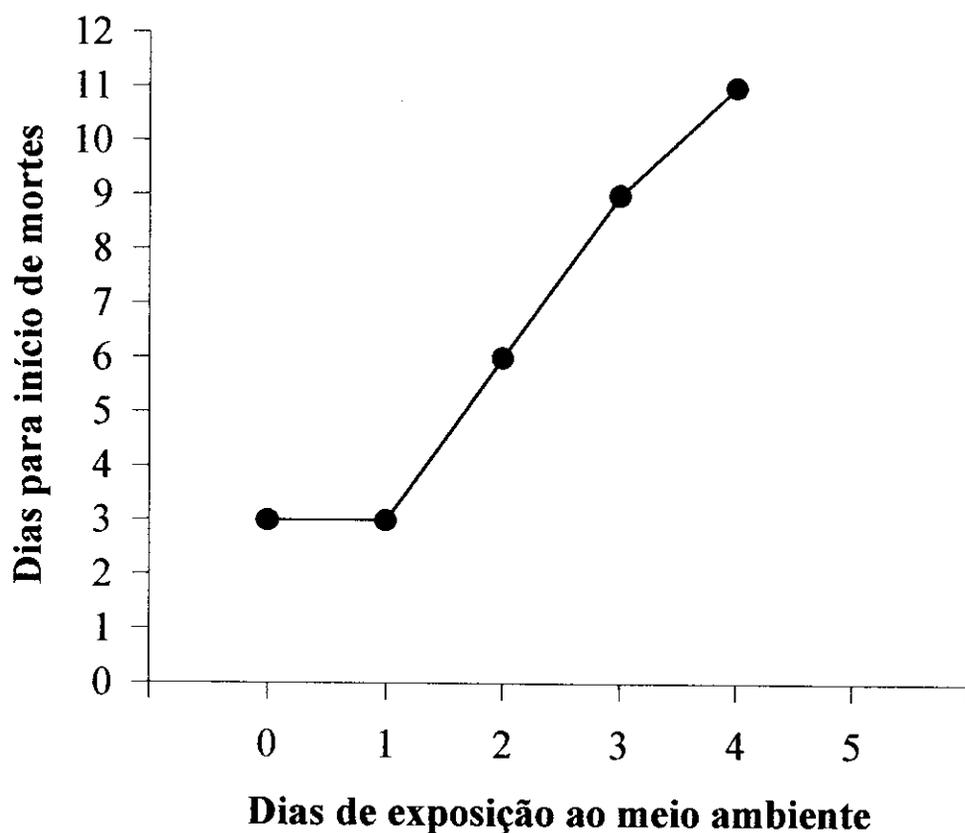
#### 6. Virulência dos conídios expostos ao meio ambiente

A exposição de *M. flavoviride* ao meio ambiente ocasionou a perda de sua virulência com o passar dos dias (Figura 31). Quando os insetos se alimentaram de folhas recém pulverizadas (zero dia de exposição), a porcentagem de infecção foi de 83%. No entanto, com apenas 1 dia de permanência no meio ambiente, a taxa de infecção decresceu de forma constante até o 4º dia (de 80% para 58%). A partir desse período, nenhum inseto morreu por infecção, mesmo após 30 dias de observação, não ocorrendo mortalidade também no controle em nenhum dos dias.



**Figura 31.** Infecção de *Metarhizium flavoviride* sobre *Stiphra robusta* após alimentação com folhas de cajueiro mantidas em tempos crescentes de exposição ao meio ambiente. Resultados são médias de 3 repetições de 46 insetos cada.

Com o passar do tempo de exposição ao meio ambiente, foram necessários mais dias para o fungo se desenvolver e causar o início e fim da infecção e mortalidade, revelando assim, a perda da virulência (Figura 32). O fungo necessitou de apenas 3 dias para iniciar a infecção e as mortes na população de insetos estudada nos tratamentos com zero e 1 dia de exposição e de até 11 dias, após 4 dias de exposição.



**Figura 32.** Virulência de conídios de *Metarhizium flavoviride* aplicados em folhas de cajueiro expostas ao meio ambiente. Resultados são médias de 3 repetições de 46 insetos cada. A partir do 5º dia, não se verificou mais mortalidade por infecção.

### 7 - Comportamento dos insetos sob pulverização

O comportamento adotado pelos insetos na presença de pulverização por micro-ulva foi o de fuga através de saltos, mostrando a grande versatilidade dos indivíduos nos seus diferentes estádios (Tabela 9).

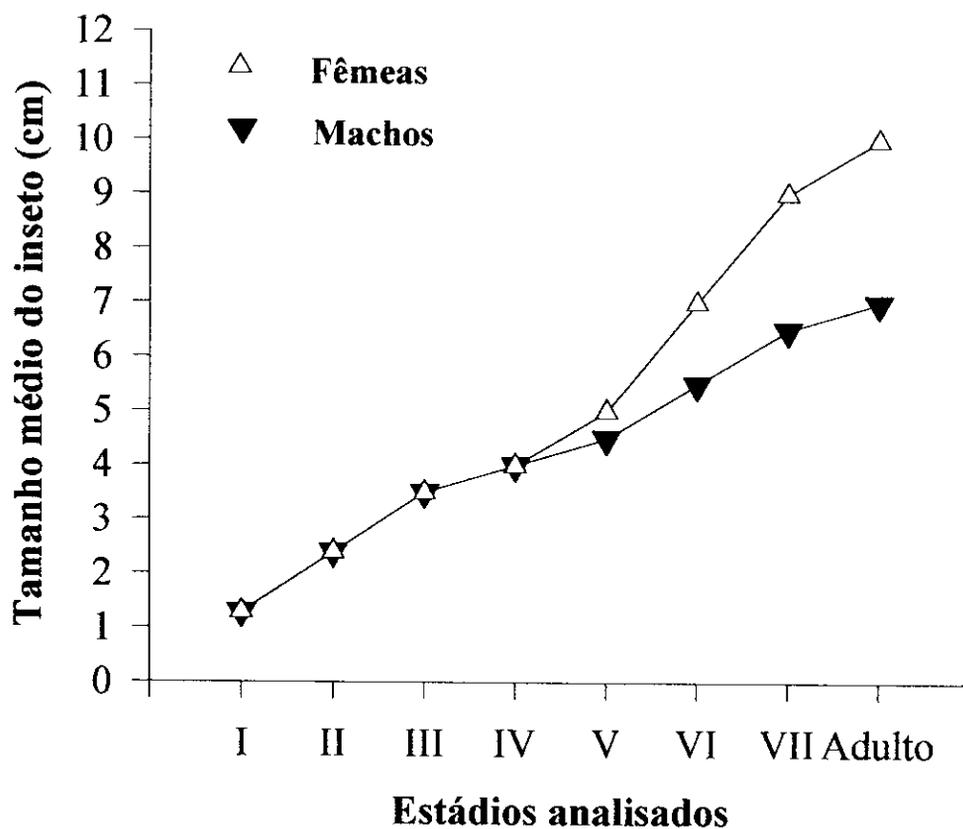
Apesar do pequeno comprimento do corpo entre o 1º e o 3º estádios, nota-se distâncias atingidas consideráveis para os insetos de ambos os sexos (23,4 a 27,9 cm para machos com 1,3 a 3,5 cm de comprimento e 23

a 27 cm para fêmeas de mesmas dimensões). A partir do 4º estágio, porém, pode-se notar uma maior agilidade dos machos, atingindo distâncias médias de até 68 cm para insetos adultos. As fêmeas mostraram-se menos ágeis (semelhante ao comportamento observado durante o manuseio diário da criação em laboratório), com distâncias médias de 39 cm (V estágio), caindo para 29 cm quando adultas devido, provavelmente, ao seu maior tamanho (Figura 33).

**Tabela 9** – Teste de agilidade de *Stiphra robusta* no solo, em seus diferentes estádios, após pulverização com aparelho micro-ulva, de 3 ml de água para cada inseto.

Estádio	Tamanho médio do inseto (cm)		Distância atingida (cm)	
	♂	♀	♂ Média ± DP	♀ Média ± DP
I	1,3	1,3	23,4 ± 6,8	23,0 ± 5,3
II	2,4	2,4	23,9 ± 4,9	23,9 ± 4,4
III	3,5	3,5	27,9 ± 10,3	27,0 ± 7,9
IV	4,0	4,0	36,6 ± 6,6	36,0 ± 6,0
V	4,5	5,0	42,7 ± 4,0	39,0 ± 4,5
VI	5,5	7,0	43,1 ± 3,4	33,0 ± 5,5
VII	6,5	9,0	55,0 ± 3,9	31,0 ± 7,0
Adulto	7,0	10,0	68,0 ± 9,0	29,0 ± 3,5

Resultados são médias de 10 saltos de 10 insetos/estádio/sexo com intervalo de 5 minutos cada. DP = Desvio padrão.



**Figura 33** – Curva de crescimento de *Stiphra robusta* em ambos os sexos, desde a eclosão até a fase adulta. Resultados são médias da observação de 30 indivíduos por sexo.

Apesar dos resultados aqui apresentados terem indicado um comportamento de fuga durante a pulverização, a área atingida pela suspensão aplicada foi em torno de 1 metro de diâmetro, variando de acordo com a altura de aplicação, mas sempre atingindo o inseto alvo. Além disso, em testes de pulverização foliar feitos em cajueiros, o comportamento dos insetos não foi alterado, mantendo-se calmos e com atividade alimentar contínua, indicando que o método de pulverização pode ser utilizado, portanto, para aplicação de suspensão fúngica.

## IV - Discussão

### 1 - Processo infectivo

A dinâmica do processo infectivo de *Metarhizium flavoviride* sobre *Stiphra robusta* foi similar ao observado contra *Rhammatocerus schistocercoides* (Vicentini & Magalhães 1996), *M. flavoviride* contra *Zonocerus variegatus* (Prior & Greathead 1989) e de *M. anisopliae* contra *Nasutitermes exitiosus* (Hänel 1982). Outras etapas desse processo, tais como formação de apressório, penetração inversa e crescimento externo também foram observadas em *S. robusta* (não documentadas aqui), não diferindo, porém, do observado nas outras espécies acima citadas.

Embora o desenvolvimento fúngico tenha se mostrado normal e efetivo contra *S. robusta*, a disseminação dos conídios formados após o ciclo infectivo provavelmente não deve ocorrer através de contato físico entre os indivíduos. Isso, devido a essa espécie não possuir hábitos gregários, como ocorre com *R. schistocercoides* e *S. gregaria*. Dessa forma, devido à pequena concentração de indivíduos de *S. robusta* em uma mesma área, a disseminação dos conídios por esse meio, se houver, será de rara ocorrência, dificultando a formação de uma possível epizootia. Esse fenômeno ainda não foi observado para este gafanhoto.

Por outro lado, o comportamento sexual adotado pelo inseto e registrado no Capítulo II deste trabalho (onde o tempo de cópula e permanência entre os indivíduos foi relativamente longo, variando de 20 a 190 minutos), pode ser de grande valia quando da escolha do momento

certo de aplicação do fungo para controle. Isso devido a um maior número de insetos estar presente num mesmo local na época de acasalamento.

De qualquer modo, a espécie mostrou-se altamente susceptível, sendo infectada rapidamente por *M. flavoviride* (com intensa produção de estruturas do fungo após somente 3 dias – Figura 21d). Ainda, *S. robusta* apresentou outras características de interesse na relação patógeno-hospedeiro, as quais serão abordadas abaixo.

## **2 - Efeito da temperatura no processo infectivo**

A influência da temperatura sobre a dinâmica do desenvolvimento fúngico é complexa. Cada estágio do processo infectivo parece ser dependente ou influenciado por diferentes temperaturas, em geral afetando o crescimento de hifas, formação de conídios e processos enzimáticos (Jacome & Schuh 1991, St. Leger 1993, Campbell *et al.* 1996). Esta influência foi observada em *M. flavoviride* infectando *Z. variegatus*. Nesse caso, temperaturas mais elevadas, próximas de 30°C, foram mais eficientes para o desenvolvimento de hifas e produção de conídios quando comparadas a temperaturas mais brandas (Thomas & Jenkins 1997). Semelhante fato foi observado no estudo do desenvolvimento de diferentes isolados de *M. flavoviride*, *M. anisopliae* e *B. bassiana* armazenados em temperaturas variando entre -10°C e 50°C. Estes fungos mostraram graus diferentes de tolerância, viabilidade e virulência, ocorridas dentro de uma mesma espécie (Morley-Davies *et al.* 1995).

O clima das regiões de ocorrência natural dos microrganismos entomopatogênicos também exerce influência sobre o desenvolvimento do

potencial de infecção (Doberski 1981). Ainda, dentro de uma mesma região climática, podem ser encontradas várias espécies de entomopatógenos com características genéticas diferentes, as quais resultam em um grau maior ou menor de infecção (Moorehouse *et al.* 1994). Isolados fúngicos de uma mesma espécie obtidos em regiões com características ambientais diferentes, em geral para *M. anisopliae* e *B. bassiana*, mostraram taxas de infecção e de virulência distintas (Fargues *et al.* 1992). Por outro lado, isolados de *M. flavoviride* originados de diferentes países como Brasil, Nigéria e Austrália, foram testados contra *R. schistocercoides*, mostrando taxas de infecção semelhantes (Magalhães *et al.* 1997). A discussão acima só vem afirmar a complexidade da relação clima *versus* patógeno/hospedeiro.

No estudo da influência da temperatura sobre o desenvolvimento do processo infectivo de *M. flavoviride* em *S. robusta*, o isolado CG 423 foi obtido na mesma região climática de ocorrência do inseto onde, tanto temperatura e pluviosidade, quanto umidade relativa têm sido constantes em 1996 e 1997 (veja Figuras 3 e 4). Com isso, a adaptação climática do isolado pode ter sido a causa da obtenção das altas taxas de infecção aqui observadas. Mesmo que o experimento tenha sido realizado em Brasília (região com clima diferente daquele de origem do fungo), o isolado CG 423 resultou em maiores taxas de infecção, mortalidade e virulência quando desenvolvido sob temperatura de 27°C, semelhante, portanto, às médias mensais observadas na região de origem do patógeno (veja Figura 3). Além disso, melhores taxas de infecção também foram obtidas com temperaturas variando entre 25 e 30°C em ensaios de campo realizados com este isolado no Mato Grosso e aplicado sobre *R. schistocercoides* (trabalho em andamento), mostrando que o fungo está adaptado a estas faixas de temperatura.

Assim sendo, diante das variações supra mencionadas entre a temperatura e o desenvolvimento fúngico e sua influência sobre a mortalidade e infecção dos insetos, os resultados aqui obtidos parecem estar de acordo com Cock & Holloway (1982). Esses autores afirmam que “a relação entre o clima do local de coleta do isolado e o clima do local de aplicação pode ser o critério principal na seleção de inimigos naturais em muitos programas de controle biológico clássicos”.

### ***3 - Horário de aplicação do patógeno***

O comportamento alimentar observado no presente trabalho foi semelhante ao de outras espécies de gafanhotos, onde houve preferência da alimentação na presença de luz. Em estudos alimentares utilizando fotofase de 12h, o gafanhoto *L. migratoria* registrou alguma atividade no período noturno. Porém, o intervalo entre refeições foi duas vezes maior do que na presença de luz (Simpson 1982). Tal comportamento, pode estar relacionado com a visualização do alimento e/ou outros fatores, como o intervalo entre refeições e defecações, e ciclos circadianos (Simpson & Ludlow 1986).

Assim, tomando-se por base estes resultados, as aplicações fúngicas dos ensaios seguintes foram feitas sempre ao amanhecer. Apesar disso, houve problemas de virulência do patógeno quando expostos ao meio ambiente, os quais serão mencionados no item sobre virulência dos conídios expostos ao meio ambiente, neste Capítulo.

#### **4 - Preferência alimentar**

Embora tenha havido diferença na taxa de consumo de *S. robusta* entre folhas pulverizadas ou não com solução fúngica, o inseto teve um comportamento alimentar satisfatório, quando comparado ao consumo do controle. A suspensão de conídios normalmente utilizada nos ensaios de controle biológico possui porcentagens de óleos vegetais e querosene contidas em sua formulação. Estes são normalmente empregados para preservação da viabilidade do fungo por longos períodos de armazenagem. Tal procedimento possibilita a manutenção da virulência e facilita a aplicação a ultra baixo volume e em áreas com climas desfavoráveis. Essa formulação aplicada contra *S. robusta* e já anteriormente testada em ensaios de laboratório, foi a mesma utilizada em ensaios do gênero com *R. schistocercoides*, onde também não houve rejeição do alimento. Nesse caso, a palatabilidade aos insetos não foi afetada mesmo quando a formulação continha querosene em três concentrações (0, 5 e 10%) e óleo de soja (Goettel *et al.* 1995b). O mesmo ocorreu para *S. robusta*, observado aqui pelas altas taxas de consumo foliar. Por consequência, mais partículas infectivas entraram em contato com as peças bucais do hospedeiro, resultando em elevadas taxas de infecção, fato desejável em programas de controle biológico.

#### **5 - Influência da infecção sobre o consumo foliar**

Vários são os exemplos de redução do consumo alimentar de insetos infectados por organismos entomopatogênicos (Mohamed 1982, Mohamed *et al.* 1982, Johnson & Pavlikova 1986, Olfert & Erlandson 1991, Moore *et*

al. 1992, Fargues *et al.* 1994, Hajek & St. Leger 1994, Seyoum *et al.* 1994). Índices de redução de até 36,6% foram observados para gafanhotos *Schistocerca americana* após 5 a 8 dias de tratamento com *M. flavoviride* (Sieglaff *et al.* 1997). Da mesma forma, ninfas de oitavo estágio de gafanhotos *R. schistocercoides*, também infectadas por *M. flavoviride*, tiveram reduções de até 74,5% na sua alimentação quando comparadas a insetos sadios (Faria *et al.* 1999).

Embora alguns autores associem o decréscimo do consumo também com a perda de qualidade nutricional das plantas, verificada com o passar do tempo de exposição aos insetos (tempo de permanência das plantas nas gaiolas) - (Thorvilson *et al.* 1985, Hajek 1989), este decréscimo pode ser consequência mais direta de distúrbios nutricionais e digestivos decorrentes de doenças, sendo os primeiros sintomas apresentados por insetos infectados durante a ingestão de folhas contendo fungos ou outros microrganismos (Alves & Pereira 1998). Com isso, problemas secundários podem surgir devido a presença, crescimento e acúmulo de estruturas do patógeno nos órgãos responsáveis pela digestão e eliminação das fezes. Nestes órgãos, o patógeno produz enzimas e toxinas que irão atuar diretamente sobre a produção de enzimas digestivas do hospedeiro, dificultando a absorção de nutrientes pelo inseto e resultando na paralisação parcial ou completa da alimentação (Gill *et al.* 1992).

A ocorrência de hifas e conídios na hemolinfa dos insetos (responsável pelas trocas químicas, hormônios, produtos de excreção e transporte de nutrientes, entre outros), também pode ocasionar interrupção da alimentação. A presença de estruturas de *B. bassiana* e *M. flavoviride* na hemolinfa do gafanhoto *S. americana* resultou em distúrbios do

comportamento alimentar com paralisação total da alimentação (Sieglaff *et al.* 1997), ou paralisação parcial em Elateridae infectadas com *M. anisopliae* (Zacharuk 1973).

Em *S. robusta*, os trabalhos sobre infecção ainda se encontram em fase inicial. Porém, conforme dito anteriormente, a presença de estruturas do patógeno no interior do inseto observadas já após 3 dias do início da infecção (Figura 22 e 23), coincidiu com a diminuição e paralisação da alimentação verificada entre o 3º e 4º dias (Figura 29). Isso poderia explicar o comportamento de redução alimentar, demonstrando o elevado potencial do uso de *M. flavoviride* em programas de controle biológico desse inseto.

#### **6 - Virulência dos conídios expostos ao meio ambiente**

Embora a virulência dos conídios de *M. flavoviride* contra *S. robusta* tenha decaído com o passar dos dias de exposição ao meio ambiente (conforme observado na Figura 31), a taxa de até 57% de micose obtida mesmo após 4 dias de exposição indica o grande potencial do seu uso nas condições do Rio Grande do Norte.

A influência de fatores ambientais sobre a eficiência de fungos entomopatogênicos em ensaios de laboratório e campo tem sido pesquisada há alguns anos. Já em 1967, estudos utilizando entomopatógenos expostos à luz ultravioleta mostraram a ação letal desses raios sobre os conídios (Müller Kogler 1967). Aquino (1974), observou um maior índice de mortalidade de conídios de *M. anisopliae* quando foram diretamente expostos à radiação solar. Também conídios de 14 isolados de *Metarhizium* sp, *M. flavoviride*, *M. anisopliae* e *B. bassiana* tiveram sua porcentagem de

germinação reduzida em apenas 24 h quando expostos à luz solar simulada em laboratório (Morley-Davies *et al.* 1995). Da mesma forma, diferentes faixas do espectro solar inativaram rapidamente *B. bassiana* (Inglis *et al.* 1995). Porém, embora os conídios de vários entomopatógenos possam ser inativados quando expostos às diferentes radiações do meio ambiente, tanto a viabilidade da germinação quanto a virulência desses microrganismos podem ser preservadas por mais tempo. Como exemplo, em experimentos de campo com o entomopatógeno *B. bassiana* contra o gafanhoto *M. sanguinipes* (Inglis *et al.* 1997b), a porcentagem de micose foi aumentada de 15% para 43%, quando os tratamentos continham protetores solares misturados na formulação. Em contrapartida, na ausência da luz ultravioleta, o fungo quando aplicado em insetos mantidos à sombra provocou 89% de infecção, mostrando, dessa forma, o efeito germicida da luz ultravioleta presente na radiação solar (Inglis *et al.* 1997b). Com isso, os resultados obtidos por Inglis *et al.* (1997b) sugerem que testes semelhantes devam ser realizados com *M. flavoviride*, principalmente no tocante ao uso de protetores solares, uma vez que a incidência de radiação solar nessa região é muito elevada.

### **7 - Comportamento do gafanhoto sob pulverização**

Embora o gafanhoto *S. robusta* tenha tido um comportamento de fuga através de saltos, quando sob pulverização terrestre com aparelho micro-ulva, os indivíduos foram atingidos pelo halo formado pela pulverização. Segundo Gabriel (1985) (em: Chapman & Joern 1990), a conduta de saltos é um método adotado por gafanhotos diante de situações de perigo ou na presença de barreiras físicas que impeçam o livre caminhar dos indivíduos. No entanto,

embora o estudo dos componentes que regem essa atividade seja um assunto de interesse e já bem conhecido (Bennet-Clark 1990, em: Chapman & Joern 1990), o objetivo aqui focado foi o de analisar apenas o comportamento adotado pelo inseto. Os testes de pulverização foliar mostraram-se satisfatórios, onde os indivíduos permaneceram sobre as plantas e com contínua alimentação, indicando ser este um bom método de aplicação da suspensão.

## V - Conclusões

A morte de insetos causada por microrganismos entomopatogênicos é a principal meta a ser atingida pelos programas de controle biológico. Atualmente, os fungos têm sido considerados os mais promissores agentes microbianos no combate aos gafanhotos onde, para várias espécies de acridídeos, *M. flavoviride* tem se mostrado bastante eficaz em causar altas taxas de infecção e mortalidade. No entanto, o uso desses organismos depende do entendimento de fatores ligados às relações patógeno-hospedeiro. Assim, no controle de *S. robusta*, fatores ambientais e de comportamento alimentar foram analisados, revelando uma influência direta sobre a dinâmica do processo de infecção.

A temperatura alterou o desenvolvimento deste processo, causando diminuição da virulência do patógeno quando utilizado em temperaturas abaixo dos 27°C. Essa influência parece estar relacionada com a origem climática da região de ocorrência do entomopatógeno e da região de aplicação. Isso explicaria as altas taxas de mortalidade e infecção aqui

obtidas, uma vez que ambos, fungo e inseto, são provenientes da mesma região, não havendo assim, a necessidade de adaptação ao clima.

Além disso, melhores taxas de infecção do fungo foram anteriormente obtidas em ensaios com temperatura variando entre 25 e 30°C contra *R. schistocercoides* nas condições climáticas do Mato Grosso, semelhante ao observado no presente trabalho e, portanto, demonstrando que o fungo está adaptado à temperaturas mais elevadas. Altas taxas de infecção também foram obtidas, em aplicações diurnas de suspensão de conídios, uma vez que no escuro não houve contaminação suficiente por propágulos infectivos.

A espécie *S. robusta* mostrou não ter preferência entre folhas de cajueiro pulverizadas ou não com o fungo, mesmo quando a formulação aplicada continha querosene ou óleo de soja. No entanto, o consumo alimentar foi afetado após a ingestão de folhas pulverizadas com o fungo, sendo interrompido já a partir do 3º dia devido, provavelmente, à presença de partículas infectivas no interior do inseto.

Embora a exposição ao meio ambiente tenha ocasionado queda de virulência dos conídios a partir do 2º dia, a viabilidade de seu uso foi comprovada pelas taxas elevadas de infecção aqui obtidas. A análise desses resultados revelou a susceptibilidade de *S. robusta* ao entomopatógeno *M. flavoviride*, quer seja pelo conjunto de dados como um todo, quer seja quando vistos individualmente, aumentando assim a lista de espécies de insetos controladas pelo fungo.

A manutenção ou o aumento dos índices de controle aqui obtidos ainda depende do estudo de muitos outros fatores como a busca, seleção e testes de patogenicidade e virulência de novos isolados na região nordeste; testes com formulações, tempo e concentração letais; uso de protetores e

filtros solares que evitem a ação prejudicial dos raios ultravioletas sobre os conídios; o manejo ou introdução de inimigos naturais da praga para regular sua população; estudo da viabilidade de conídios presentes nos cadáveres dos insetos, determinando-se o tempo máximo de preservação de sua patogenicidade quando expostos ao meio ambiente, entre muitos outros.

## VI – Conclusões gerais

O gafanhoto *Stiphra robusta* está difundido por toda a região nordeste do Brasil e, atualmente, também no norte do Estado de Minas Gerais. Essa difusão se deve principalmente ao seu comportamento nômade decorrente da busca por alimentos, quando estes se tornam escassos frente ao caráter oscilatório do clima da região. Ainda, essa busca é facilitada, uma vez que a espécie é polífaga. A conquista de novas áreas resulta em novos sítios de oviposição, onde muitas vezes, quando em condições climáticas mais secas, os ovos permanecerão em dormência. Com a ocorrência de chuvas de boa distribuição e intensidade, os ovos acumulados durante os períodos mais secos originariam grandes quantidades de ninfas, as quais encontrariam condições boas de alimentação devido à rebrota das plantas, resultando na ocorrência de surtos.

Assim, conforme foi observado, a umidade exerce uma forte influência sobre o desenvolvimento do processo de eclosão das ninfas. Com isso, conhecendo-se o caráter nômade da espécie através do seu monitoramento e, somando-se a uma análise climática da região durante uma determinada estação, seria possível prever a probabilidade da

ocorrência de surtos nas localidades atingidas por maiores índices pluviométricos. Dessa forma, medidas de controle poderiam ser tomadas antes de ocorrerem grandes prejuízos às lavouras. Esse controle pode ser obtido com o uso do entomopatógeno *Metarhizium flavoviride*, resultando em grandes porcentagens de infecção dos insetos.

Uma das principais vantagens aqui observadas foi a queda da alimentação dos insetos após a infecção (fator ideal para manutenção da produção de frutos pelas plantas), colocando assim o fungo como potencialmente capaz de ser utilizado em programas de controle biológico dessa espécie. Também o comportamento assumido pelos insetos durante a aplicação da suspensão fúngica (mantendo-se calmos e com contínua alimentação de folhas contendo fungo), reforça a possibilidade do uso desse método.

Do mesmo modo, apesar da espécie não ter hábito gregário (fator que poderia aumentar as porcentagens de infecção devido ao maior número de indivíduos nos locais de aplicação), a aplicação foliar mostrou-se viável (como apresentado pelas altas taxas de infecção obtidas), atingindo pleno êxito.

Outro fator importante que corrobora o êxito da aplicação de *M. flavoviride* sobre *S. robusta* advém do fato que, mesmo com a exposição dos propágulos infectivos ao meio ambiente, a viabilidade destes se manteve por até 4 dias. Porém, esse prazo talvez possa ser maximizado a partir de novos testes, como o preconizado no item (h), abaixo.

Assim, uma vez que o entomopatógeno foi eficaz em causar elevadas porcentagens de controle e que a criação dos insetos em cativeiro é viável,

podendo ser mantida para reprodução por longos períodos, novos ensaios devem ser realizados, como por exemplo:

- a) busca de outros possíveis inimigos naturais;
- b) influência da aplicação fúngica sobre inimigos naturais;
- c) busca, seleção e teste de novos isolados;
- d) monitoramento da migração de acordo com a ocorrência de chuvas;
- e) busca de novos métodos de quebra de dormência;
- f) busca de novos métodos de armazenagem de posturas no laboratório;
- g) testes com formulações e concentração letal, entre outros;
- h) uso de protetores e filtros solares na formulação.

## VII - Bibliografia Citada

- Abot, A.R., Moscardi, F., Fuxa, J.R. Sosa-Gómez, A.R. & Richter, A.R. 1995. Susceptibility of populations of *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus. *Journal of Entomology Science* **30**: 62-69.
- Abot, A.R., Moscardi, F., Fuxa, J.R. Sosa-Gómez, A.R. & Richter, A.R. 1996. Development of resistance by *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and the United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure. *Biological Control* **7**: 126-130.
- Aguillera, M.M. & Smart, G.C. 1993. Development, reproduction and pathogenicity of *Steinernema scapterisci* in monoxenic culture with different species of bacteria. *Journal of Invertebrate Pathology* **62**: 289-294.
- Almeida, R.P., Almeida, V.M.R., Oliveira, S.J., Andrade, N.C. & Sousa, N.F.A. 1995a. Aspectos etológicos e características morfológicas de posturas de *Stiphra robusta* Mello-Leitão, 1939 (Orthoptera: Proscopiidae). Anais do 15º Congresso de Entomologia – 12 a 17 de março, Caxambú – MG. Resumos. p. 171.
- Almeida, V.M.R., Almeida R.P. & Andrade, N.C. 1995b. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., sobre *Stiphra robusta* Mello-Leitão, 1939 (Orthoptera: Proscopiidae). Anais do 15º Congresso de Entomologia – 12 a 17 de março, Caxambú – MG. Resumos. p. 291.
- Alves, S.B. 1998. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: Alves, S.B. (ed.). Controle microbiano de insetos. Fundação de estudos agrários Luiz de Queiroz – FEALQ. Piracicaba – SP, p. 21-37.
- Alves, S.B., Moino Jr., A. & Vieira, S.A. 1993. Ação tóxica de alguns defensivos agrícolas sobre fungos entomopatogênicos. *Ecossistema* **18**: 161-170.

- Alves, S.B., Almeida, J.E.M., Moino Jr., A., Stimac, J.L. & Pereira, R.M. 1995. Uso de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar 1832) em pastagens. *Ecossistema* **20**: 50-57.
- Alves, S.B. & Pereira, R.M. 1998. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. In: Alves, S.B. (ed.). Controle microbiano de insetos. Fundação de estudos agrários Luíz de Queiroz - FEALQ. Piracicaba - SP, p. 39-54.
- Aquino, M.L.N. 1974. O fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, no Estado de Pernambuco. *Boletim Técnico do Instituto de Pesquisa Agrônômica* **72**: 1-26.
- Azevedo, J.L. 1998. Controle microbiano de insetos-pragas e seu melhoramento genético. In: Melo, I.S. & Azevedo, J.L. (eds). Controle Biológico. Jaguariúna, SP: Embrapa, p. 69-96.
- Baker, R.T. 1987. Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* **25**: 67-85.
- Baker, G.L. & Capinera, J.L. 1997. Nematodes and nematomorphs as control agents of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **171**: 157-211.
- Barnes, R.D. 1984. Zoologia dos Invertebrados. Livraria Roca Ltda, São Paulo, Brasil. 1179 pp.
- Bastos, J.A.M. 1975a. Ensaio de controle de Mané-magro, *Stiphra robusta* M-T, com inseticidas orgânicos sintéticos, em campo. *Fitossanidade* **1(2)**: 54-55.
- Bastos, J.A.M. 1975b. Estudo preliminar de preferência do "Mané-magro" *Stiphra robusta* M-T, por algumas plantas cultivadas. *Fitossanidade* **1(3)**: 90-91.

- Bastos, J.A.M. & Alves, V.P.O. 1979. Ensaio de controle do Mané-magro, *Stiphra robusta* M-T, com inseticidas orgânicos sintéticos em laboratórios. *Fitossanidade* **3(1-2)**: 20-21.
- Bateman, R.P. 1992. Controlled droplet application of mycopesticides to locusts. In: Lomer, C.J. & Prior, C. (eds). *Biological control of locusts and grasshoppers*. CAB International, Wallingford, U.K. 249-254 pp.
- Bateman, R.P., Carey, M., Moore, D. & Prior, C. 1993. The enhanced activity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. *Annals of Applied Biology* **122**: 145-152.
- Beingolea, G.O. 1995. *Las langostas y su control*. Ed. RAAAA/SENASA, Lima. 143 pp.
- Bidochka, M.J., McDonald, M.A., St. Leger, R.J. & Roberts, D.W. 1994. Differentiation of species and strains of entomopathogenic fungi by random amplification of polymorphic DNA (RAPD). *Current Genetics* **21**: 107-113.
- Bosch, R. 1971. Biological control of Insects. *Annual Review of Ecology Systems* **2**: 45-66.
- Calow, P.C. 1983. Energetics of reproduction and its evolutionary implication. *Biology Journal of Linnccan Society* **20**: 153-165.
- Campbell, M.A., Medd, R.W. & Brown, J.F. 1996. Growth and sporulation of *Pyrenophora seminiperda* *in vitro*: effects of culture media, temperature and pH. *Mycological Research* **100**: 311-317.
- Cardoso, A.M., Ferreira, A., do Nascimento, A.F. & Calafiori, M.H. 1995. Efeito de diferentes adubações na eficiência do *Baculovirus spodoptera* para controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) na cultura do milho (*Zea mays*). *Ecossistema* **20**: 124-130.

- Carruthers, R.I. & Ramos, M.E. 1991. Biological control of grasshoppers using fungal pathogens from the *Entomophaga grylli* species complex. In: *Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology*, XXIV, Flagstaff, Arizona, USA. 108 p.
- Carruthers, R.I., Ramos, M.E., Larkin, T.S., Hostetter, D.L. & Sopper, R.S. 1997. The *Entomophaga grylli* (Fresenius) Batko species complex: its biology, ecology, and use for biological control of pest grasshoppers. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 171: 329-353.
- Casida, J.E. & Quistad, G.B. 1998. Golden age of insecticide Research: Past, Present, or Future? *Annual Review of Entomology* 43: 1-16.
- Cavalcante, R.D., Cavalcante, M.L. & Santos, O.M. 1975. *Stiphra robusta* Mello-Leitão 1939, atacando cajueiro no Ceará. *Fitossanidade* 1(3): 94 pp.
- Chapman, R.F. & Joern, A. 1990. Biology of grasshoppers. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 563 pp.
- Cock, M.J.W & Holloway, J.D. 1982. The history of, and prospects for, the biological control of *Chromalaena odorata* (Compositae) by *Pareuchaetes pseudoinsulata* Rego Barros and allies (Lepidoptera: Arctiidae). *Bulletin of Entomological Research* 72: 193-205.
- Colgan, D.J. 1986. Studies of the mortality of *Locusta migratoria* (L.) treated with a polyhedrosis virus from the grasshopper *Caledia captiva* (F.) (Orthoptera: Acrididae). *Bulletin of Entomological Research* 76: 539-544.
- Colvin, J. 1996. Diapause duration, survival in relation to desiccation and egg-pod morphology of the Senegalese grasshopper, *Oedaleus senegalensis*. *Physiological Entomology* 21: 173-178.
- Cook, R.J. & Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *The American Phytopathological Society*. St. Paul, Minnesota. 539 pp.

- Cosenza, G.W. 1977. Uso da aplicação aérea e terrestre de inseticidas para controle do gafanhoto em Minas Gerais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **6(2)**: 295-300.
- Cosenza, G.W., Curti, J.B. & Paro, H. 1990. Comportamento e controle do gafanhoto *Rhammatocerus schistocercoides* (Rehn, 1906) no Mato Grosso. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **25(2)**: 173-180.
- Cosenza, G.W., Ribeiro, J.G.B. & Carvalho, J.S. 1994. Programa Nacional de Controle ao Gafanhoto. *Manual Técnico*. EMBRAPA-SPI, **33 p**.
- Davidson, E.W. 1992. Development of insect resistance to biopesticides. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **27( S/N)**: 47-57.
- Delinger, D.L. 1986. Dormancy in tropical insects. *Annual Review of Entomology* **31**: 239-264.
- Doberski, J.W. 1981. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: Effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology* **37**: 195-200.
- Doucet, M.M.A. & Doucet, M.E. 1990. *Steinernema ritteri* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae) with a key to the species of the genus. *Nematologica* **36**: 257-265.
- Driver, F., Milner, R. & Trueman, J. 1999. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of ribosomal DNA sequence. *Mycological research*. In press.
- Duranton, J.F., Launois, M., Launois-Luong, M.H. & Lecoq, M. 1987. Guia prático de luta contra os gafanhotos devastadores no Brasil. *FAO, Rome-CIRAD/PRIFAS*, Montpellier, 161p.

- Erlandsen, S. L., Gould, R. P., Frethem, C., Wells, C. L., Pawley, J. & Hamilton, D.W. 1989. Membrane fixation for high-resolution low-voltage SEM: Studies on *Giardia* rat spermatozoa, and mouse macrophages. *Scanner* **11**: 169-175.
- Fargues, J., Maniania, N.K., Delmas, J.C. & Smits, N. 1992. Influence de la temperature sur la croissance *in vitro* d'hyphomycetes entomopathogenes. *Agronomica* **12**: 557-564.
- Fargues, J., Delmas, J.C. & Lebrun, R.A. 1994. Leaf consumption by larvae of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. *Journal of Economic Entomology* **87**: 67-71.
- Faria, M.R. & Magalhães, B.P. 1993. Bioassay of *Metarhizium flavoviride* against the grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides*. In: Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, XXVI, Asheville, NC, USA. Abstracts. *Society for Invertebrate Pathology* p. 37.
- Faria, M.R. de, Oliveira, D. de O. & Magalhães, B.P. 1999. Food consumption of *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn (Orthoptera: Acrididae) infected by the fungus *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **28(1)**: 91-99.
- Fontes, E.M.G. 1992. Controle Biológico: Um desafio para o País. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **27(S/N)**: 1-4.
- Fornari, C. 1986. Gafanhoto: a praga bíblica no Brasil. *Revista Brasileira de Extensão Rural*, Brasília, **7(2)**:17-18.
- Fowler, H.G. & Di Romagnano, L.F.T. 1992. Ecological bases for Biological Control. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **27(S/N)**: 5-13.
- Frutos, R., Federici, B.A., Revet, B. & Bergoin, M. 1994. Taxonomic studies of *Rickettsiella*, *Rickettsia*, and *Chlamydia* using genomic DNA. *Journal of Invertebrate Pathology* **63**: 293-300.

- Fuxa, J.R. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. *Annual Review of Entomology* **32**: 225-251.
- Gill, S.S., Cowles, E.A. & Pietranonio, P.A. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annual Review of Entomology* **37**: 615-636.
- Goeden, R.D. 1976. Part II. Biological control of weeds. In: Clausen, C.P. (ed.). Introduced parasites, predators and pathogens of harmful insects and weeds: A Review. United State Department of Agriculture Handbook. N° 480, 462 pp.
- Goettel, M.S., Johnson, D.L. & Inglis, G.D. 1995a. The role of fungi in the control of grasshoppers. *Canadian Journal of Botany* **73**: s71- s75 (suppl. 1).
- Goettel, M.S., Magalhães, B.P. & Gama, G. 1995b. Palatability and efficacy of a bait formulation of *Metarhizium flavoviride* against the grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides*. In: Annual meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Ithaca, N.Y. Proceedings. *Society of Invertebrate Pathology* **28**: 23-24.
- Gravena, S. 1992. Controle biológico no manejo integrado de pragas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, **27**: 281-299.
- Greathead, D.J. 1992. Natural enemies of tropical locusts and grasshoppers: Their impact and potential as biological control agents. In: Lomer, C.J. & Prior, C. (eds), Biological control of locusts and grasshoppers. IITA/CAB International, Wallingford, U.K. 394 pp.
- GrØnvold, J., Henriksen, S.A., Larsen, M., Nansen, P., Wolstrup, J. 1996. Biological Control: Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. *Veterinary Parasitology* **64**: 47-64.

- Hajek, A.E. 1989. Food consumption by *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae infected with *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthorales). *Environmental Entomology* **18**: 723-727.
- Hajek, A.E. & St. Leger, R.J. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology* **39**: 293-322.
- Haji, F.N.P., Souza, S.M. & Toscano, J.C. 1985. Ação de diversos inseticidas sobre *Stiphra robusta* Mello-Leitão, 1939 (Orthoptera: Proscopiidae) em *Eucalyptus citriodora*. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **14(1)**: 23-27.
- Hänel, H. 1982. The life cycle of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in the termite *Nasutitermes exitiosus*. *Mycopathology* **80**: 137-145.
- Harwood, R.F. 1985. Insect structure and function. In: Fundamentals of applied entomology. Pfadt, R.E. (ed.). Macmillan Publishing Company, New York (Fourth edition), 742 pp.
- Henry, J.E., Fowler, J.L., Wilson, M.C. & Onsager, J.A. 1985. Infection of West African grasshoppers with *Nosema locustae* Canning (Protozoa: Microsporida: Nosematidae). *Tropical Pest Management* **31**: 144-147.
- Hilbert, D.W., Logan, J.A. & Swift, D.M. 1985. A unifying hypothesis of temperature effects on egg development and diapause of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Theoretical Biology* **112**: 927-838.
- IBGE 1997. Anuário estatístico do Brasil. 673 pp.
- Inglis, G.D., Goettel, M.S. & Johnson, D.L. 1995. Influence of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Biological Control* **3**: 258-270.

- Inglis, G.D., Johnson, D.L. & Goettel, M.S. 1997a. Field and laboratory evaluation of two conidial batches of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against grasshoppers. *Canadian Entomologist* **129**: 171-186.
- Inglis, G.D., Johnson, D.L. & Goettel, M.S. 1997b. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Symptodulosporae) of grasshoppers under field conditions. *Biological Control* **26(2)**: 400-409.
- Jacome, L.H. & Schuh, W. 1991. Effect of temperature on growth and conidial production *in vitro*, and comparison of infection and aggressiveness *in vitro* among isolates of *Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*. *Tropical Agriculture* (Trinidad). **70**: 51-59.
- Johnson, D.L. 1997. Nosematidae and other Protozoa as agent for control of grasshoppers and locusts: current status and prospects. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **171**: 375-389.
- Johnson, D.L. & Pavlikova, E. 1986. Reduction of consumption by grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) infected with *Nosema locustae* Canning (Microsporida: Nosematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* **48**: 232-238.
- Johnson, D.L., Goettel, M.S. & Bradley, C. 1991. Field trials with *Beauveria bassiana* against grasshoppers in Mali, West Africa. In: Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, XXIV, Flagstaff, Arizona, USA. p. 109.
- Kemp, W.P. 1986. Thermoregulation in tree rangeland grasshopper species. *Canadian Entomologist* **118**: 335-343.
- Kemp, W.P. & Dennis, B. 1989. Development of two rangeland grasshoppers at constant temperatures: Development thresholds revisited. *Canadian Entomologist* **121**: 363-371.

- Kemp, W.P. & Onsager, J.A. 1986. Rangeland grasshoppers (Orthoptera: Acrididae): Modeling phenology of natural populations of six species. *Environment Entomology* **15**: 924-930.
- Kemp, W.P. & Sanches, N.E. 1987. Differences in post-diapause thermal requirements for eggs of two rangeland grasshoppers. *Canadian Entomologist* **119**: 653-661.
- Kuberappa, G.C. & Jayaramaiah, M., 1987. Influence of temperature and humidity on the growth and development of the fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a strain on the silkworm, *Bombyx mori* L. Mysore. *Journal of Agricultural Science* **21**: 184-188.
- Kvét, J. & Marshall, J.K. 1971. Assessment of leaf area and other assimilating-plant surfaces. In: *Plant Photosynthetic Production. Manual of Methods* (Sestak, Z., Catsky, J. & Jarvis, P. G. (ed.). Junk, N.V. Publishers The Hague.
- Launois, M. 1984. *Stiphra robusta* Mello-Leitão, 1939 (Orthoptera: Acridoidea, Proscopiidae), un criquet du Nordeste du Brésil d'importance économique récente. *Cirad-Prifas*, Montpellier. 53 p.
- Launois, M. 1996. Les adaptations d'un criquet aptère à la sécheresse du Nordeste du Brésil. *Sécheresse* **2(7)**: 99-103.
- Lecoq, M. 1986. Les acridiens du Nordeste du Brésil. Bilan des études effectuées em 1985-86 pour la réalisation d'une colletion de référence et considérations sur les chercheurs en acridologie opérationnelle au Brésil. *Cirad-Prifas*, Montpellier. 119 p.
- MacCoy, C.W., Storey, G. & Tigano-Milani, M.S. 1992. Environmental factors affecting entomopathogenic fungi in the soil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **27**: 107-111.
- Magalhães, B.P. 1994. Controle biológico de gafanhotos. In: Simpósio de Controle Biológico, 4, Gramado, RS. Anais: Conferências e Resumos. Embrapa/CPACT. 1994. 23-27.

- Magalhães, B.P. & Gama, G.B. 1995. Interação entre fungos entomopatogênicos e o gafanhoto *Rhammatocerus schistocercoides*. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 15., Caxambu, MG. Resumos. Lavras, ESAL. *Sociedade Entomológica do Brasil*. p. 389.
- Magalhães, B.P., Faria, M., Tigano, M.S. & Sobral, B. 1997. Characterization and virulence of a Brazilian isolate of *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal (Hyphomycetes). *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **171**: 313-321.
- Mason, P.G. & Erlandson, M.A. 1994. The potential of biological control for management of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) in Canada. Invitation paper (C.P. Alexander Fund): *Canadian Entomologist* **126**: 1459-1491.
- Matsumara, O. 1985. *Toxicology of insecticides*. 2<sup>o</sup> edition. Plenum Press. New York and London. 598 pp.
- Mello-Leitão, C. 1939. Estudio monográfico de los proscópidos. *Revista del Museo de la Plata* **8(1)**: 279-449.
- Milner, R.J. 1997. *Metarhizium flavoviride* (F1985) as a promising mycoinsecticide for Australian acridids. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **171**: 287-300.
- Milner, R.J. & Prior, C. 1994. Susceptibility of the Australian plague locust, *Chortoicetes terminifera*, and the wingless grasshopper, *Phaulacridium vittatum*, to the fungi *Metarhizium* spp. *Biological Control* **4**: 132-137.
- Miranda, E.E., Lecoq, M., Pierozzi Jr., Duranton, F.F. & Batistella, M. 1996. O gafanhoto do Mato Grosso: balanço e perspectivas de 4 anos de pesquisas. 1992-1996. *Campinas/Montpellier: Embrapa-NMA/Cirad-Gerdar-Prifas*. 146 p.
- Mohamed, A.K.A. 1982. Pathogenicity of *Nomuraea rileyi* and its effect on food consumption and utilization by *Heliothis virescens* larvae. *Journal of Georgia Entomological Society* **17**: 377-382.

- Mohamed, A.K.A., Brewer, F.W., Bell, J.V. & Hamalle, R.J. 1982. Effect of *Nomuraea rileyi* on consumption and utilization of food by *Heliothis zea* larvae. *Journal of Georgia. Entomological Society* **17**: 356-363.
- Moino Jr., A. & Alves, S.B. 1993. Ação tóxica de alguns defensivos agrícolas sobre fungos entomopatogênicos. *Ecossistema* **18**: 161-170.
- Monk, K.A. 1985. Effect of habitat on the life history strategies of some British grasshoppers. *Journal of Animal Ecology* **54**: 163-177.
- Moore, D., Reed, M., Le Patourel, G., Abraham, Y.J. & Prior, C. 1992. Reduction of feeding by the desert locust, *Schistocerca gregaria*, after infection with *Metarhizium flavoviride*. *Journal of Invertebrate Pathology* **60**: 304-307.
- Moorehouse, E.R., Gillespie, A.T. & Charnley, K. 1994. The influence of temperature on the susceptibility of the vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae), larvae to *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Annals of Applied Biology* **124**: 185-193.
- Moraes, G.J. 1982. Sinonímia do gênero *Stiphra* (Orthoptera: Proscopiidae). *Revista Brasileira de Biologia* **42**(1): 299-232.
- Moraes, G.J., Pires, I.E., Souza, S.M. Ribaski, J. & Oliveira, C.A.V. 1980a. Resistência de espécies de eucalipto ao ataque de *Stiphra* (Orthoptera: Proscopiidae). *Silvicultura* **2**(16): 62 pp.
- Moraes, G.J., Lima, P.C.F., Souza, S.M. & Silva, C.M.M.S. 1980b. Surto de *Stiphra bitaeniata* Mello-Leitão (Orthoptera: Proscopiidae) no trópico semi-árido. *Ecossistema* **5**(1): 96-99.
- Moreira, M.A.B., Magalhães, B.P., Valadares, M.C.C. & Chagas, M.C.M. 1996. Occurrence of *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal (Hyphomycetes) on *Schistocerca pallens* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae) in Rio Grande do Norte, Brazil. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **25**(2): 359-361.

- Morley-Davies, J., Moore, D. & Prior, C. 1995. Screening of *Metarhizium* and *Beauveria* spp. conidia with exposure to simulated sunlight and a range of temperatures. *Mycological Research* **100** (1): 31-38.
- Müller Kogler, E.A. 1967. Nebenwirkungen insekten – pathogener Pilze auf Mensch und wilbeltier: actuelle Fragen. *Entomophaga* **12**: 429-441.
- Olfert, O. & Erlandson, M.A. 1991. Wheat foliage consumption by grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) infected with *Melanoplus sanguinipes* entomopoxvirus. *Environment Entomology* **20**: 1720-1724.
- Orduz, S., Rojas, W., Correa, M.M., Montoya, A.E. & Barjac, H. 1992. A new serotype of *Bacillus thuringiensis* from Colombia toxic to mosquito larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* **59**: 99-103.
- Pfadt, R.E. & Smith, D.S. 1972. Net reproductive rate and the capacity for increase in the migratory grasshoppers, *Melanoplus sanguinipes* (F). *Acrida* **1**: 149-165.
- Prior, C. 1992. Discovery and characterization of fungal pathogen for locusts and grasshopper control, pp. 159-180. In: Lomer, C.J. & Prior, C. (eds.). Biological control of locusts and grasshoppers. Redwood, Melkshan. U.K.
- Prior, C. & Greathead, D.J. 1989. Biological control of locusts: the potential for the exploitation of pathogens. *FAO Plant Protection Bulletin* **37**(1): 37-48.
- Prior, C., Moore D., Bateman, R. & Abraham, Y.J. 1990. Mycopedicides for locust and grasshopper control. In: VTH International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control. Adelaide, Australia. Proceedings and Abstracts. 54 p.
- Prior, C., Carey, M., Abraham, Y.J., Moore, D. & Bateman, R.P. 1995. Development of a bioassay method for the selection of entomopathogenic fungi virulent to the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Journal of Applied Entomology* **119**: 567-573.

- Prior, C. & Streett, D.A. 1997. Strategies for the use of entomopathogens in the control of the desert locust and other acridoid pests. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **171**: 5-25.
- Rahmet-Alla, M. & Rowley, A.F. 1989. Studies on the pathogenicity of different strains of *Bacillus cereus* for the cock-roach, *Leucophaea maderae*. *Journal of Invertebrate Pathology* **53**: 190-196.
- Reznick, D. 1985. Cost of reproduction. An evaluation of the empirical evidence. *Oikos* **44**: 257-267.
- Robbs, C.F. & Bittencourt, A.M. 1998. O controle biológico de insetos nocivos à agricultura com o emprego de fungos imperfeitos ou hifomicetos. *Biotechnology* **6**: 10-12.
- Rombach, M.C., Humber, R.A & Evans, H.C. 1987. *Metarhizium album*, a fungal pathogen of leaf and planthopper. *Transactions of the British Mycological Society* **88**: 451-459.
- Roush, R.T. & Mckenzie, J.A. 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annual Review of Entomology* **32**: 361-380.
- Schenkel, R.O.M., Nicolas, R., Frachon, E. & Hamon, S. 1992. Characterization and toxicity to mosquito larvae of four *Bacillus sphaericus* strains isolated from Brazilian soils. *Journal of Invertebrate Pathology* **60**: 10-14.
- Seyoum, E., Moore, E. & Charnley, A.K. 1994. Reduction in flight activity and food consumption by the desert locust, *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera: Cyrtacanthacrinae), after infection with *Metarhizium flavoviride*. *Journal of Applied Entomology* **118**: 310-315.
- Sheail, J. 1985. Pesticides and Nature Conservation. The British Experience 1950-1975. Clarendon Press. Oxford (ed). 276 p.
- Showler, A.T. 1995. Locust (Orthoptera: Acrididae) outbreak in Africa and Asia, 1992-1994: an overview. *American Entomologist*. p. 179-185.

- Sieglaff, D.H., Pereira, R.M. & Capinera, J.L. 1997. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride* (Deuteromycotina) to *Schistocerca americana* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Economic Entomology* **90** (6): 1539-1545.
- Silva, J.B.T., Teixeira, A.B., Vicentini, S. & Santana, E. 1994. Infecção de *Rhammatocerus schistocercoides* e de *Stiphra robusta* pelo protozoário *Nosema locustae*. In: Simpósio de Controle Biológico, 4, Gramado, R.S. Resumos. Embrapa/CPACT. p 86.
- Silveira, M. 1989. Preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. Manual sobre técnicas básicas em Microscopia Eletrônica. Volume I - Técnicas Básicas. *Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica* 71-79.
- Simpson, S.J. 1982. Patterns in feeding: A behavioural analysis using *Locusta migratoria* nymphs. *Physiological Entomology* **7**: 325-336.
- Simpson, S.J. & Ludlow, A.R. 1986. Why locusts start to feed: A comparison of causal factors. *Animal Behavior* **34**: 480-496.
- Souza, S.M., Moraes, G.J. & Mello, C.A.O. 1983. Ovoposição e eclosão de *Stiphra robusta* Mello-Leitão 1939 (Orthoptera: Proscopiidae) no Trópico semi-árido do Brasil. *Silvicultura* **28**(8): 511-512.
- St. Leger, R.J. 1993. Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by deuteromycete fungal pathogens. In: Parasites and Pathogens of insects; Volume 2 Pathogens (anon.), p. 211-229. *Academic Press*: London, U.K.
- Streett, D.A. & MaGuire, M.R. 1990. Pathogenic diseases of grasshoppers. In: Chapman, R.F. & Joern, A. (eds). *Biology of grasshoppers*. New York: John Wiley & Sons, p. 481-516.
- Tabashnik, B.E. 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology* **39**: 47-79.

- Tanada, Y. & Kaya, H.K. 1993. Insect pathology. San Diego: Academic Press, 666 p.
- Thomas, M.B. & Jenkins, N.E. 1997. Effects of temperature on growth of *Metarhizium flavoviride* and virulence to the variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus*. *Mycological Research* **101** (12):1469-1474.
- Thorvilson, H.G., Pedigo, L.P. & Lewis, L.C. 1985. Soybean leaf consumption by *Nomuraea rileyi* (Fungi: Deuteromycotina), infected by *Plathypena scabra* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* **46**:265-271.
- Tigano-Milani, M.S., Gomes, A.C.M.M. & Sobral, B.W.S. 1994. Genetic variability among Brazilian isolates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* **2**: 112-115.
- Vicentini, S. & Magalhães, B.P. 1995. Investigação do processo de infecção de *Metarhizium flavoviride* sobre *Stiphra robusta*. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 15, Caxambú, MG. Resumos. *Sociedade Entomológica do Brasil*. p.77.
- Vicentini, S. & Magalhães, B.P. 1996. Infective process of *Metarhizium flavoviride* on *Rhammatocerus schistocercoides*. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* **25**(2): 309-314.
- Wagner, T.L., Wu, H., Sharpe, P.J.H., Schoolfield, R.M. & Coulson, R.N. 1984. Modeling insect development rates: A literature review and application of a biophysical model. *Annals of the Entomological Society of America* **77**: 208-225.
- Wall, R. & Begon, M. 1987. Individual variation and the effects of population density in the grasshopper *Chorthippus brunneus*. *Oikos* **49**: 15-27.
- Wedincamp Jr., J., French, F.E., Whitcomb, R.F. & Henegar, R.B. 1996. Spiroplasmas and entomoplasma (Procaryotae: Mollicutes) associated with tabanids (Diptera: Tabanidae) and fireflies (Coleoptera: Lampyridae). *Journal of Invertebrate Pathology* **68**: 183-186.

- Welling, M., Nachtigall, G. & Zimmermann, G. 1994. *Metarhizium* spp. Isolates from Madagascar: morphology and effect of high temperature on growth and infectivity to the migratory locust, *Locusta migratoria*. *Entomophaga* **39**: 351-361.
- Woods, S.A., Street, D.A. & Henry, J.E. 1992. Temporal patterns of mortality from an entomopoxvirus and strategies for control of the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes* F. *Journal of Invertebrate Pathology* **60**: 33-39.
- Zacharuk, R.Y. 1973. Electron-microscope studies of the histopathology of fungal infections by *Metarhizium anisopliae*. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America* **9**:112-119.
- Zelazny, B., Goettel, M.S. & Keller, B. 1997. The potential of bacteria for the microbial control of grasshoppers and locusts. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **171**: 147-156.
- Zimmermann, G., Zelazny, B., Kleespies, R. & Welling, M. 1994. Biological control of African locusts by entomopathogenic microorganisms. In: Krall, S. & Wilps, H. (eds). *New trends in locust control: ecotoxicology, botanicals, pathogens, attractants, pheromones, remote sensing*. Eschborn: GTZ, p. 127-138.