

SCIENTIFIC NOTE

Fauna de Homoptera: Auchenorrhyncha em Pomares de Ameixeira em Santa Catarina

EDUARDO R. HICKEL¹, JEAN-PIERRE H.J. DUCROQUET¹, RUI P. LEITE JR.² E REGINA M.V.B.C. LEITE³¹EPAGRI - Estação Experimental de Videira, C. postal 21, 89560-000, Videira, SC, hickel@epagri.rct-sc.br²IAPAR, C. postal 481, 86001-970, Londrina, PR³Embrapa - Soja, C. postal 231, 86001-970, Londrina, PR

Neotropical Entomology 30(4): 725-729 (2001)

Homoptera: Auchenorrhyncha Fauna of Plum Orchards in Santa Catarina State

ABSTRACT – The Homoptera: Auchenorrhyncha fauna of plum orchards in an area of epidemic spread of plum leaf scald disease in mid-west Santa Catarina State, Brazil were surveyed in 1991 and 1992 to search for plum leaf scald vectors. The homopterans were sampled by sweeping net and yellow water pan traps and when possible submitted to ELISA assay to detect *Xylella fastidiosa* bacteria. A total of 112 species were caught, distributed in the families Aethalionidae (1 species), Cercopidae (7), Cicadellidae (64), Cixiidae (3), Delphacidae (5), Issidae (2), Membracidae (18), Tropiduchidae (1) and Psyllidae (11). *X. fastidiosa* was detected in cicadellids *Agallia* spp. (two species), *Balclutha hebe* (Kirk.), *Bucephalogonia xanthophis* (Berg), *Chlorotettix minimus* (Baker), *Exitianus obscurinervis* (Stal), *Haldorus* sp., and *Plesiommata corniculata* Young; and in cercopids *Deois schach* (F.) and *Deois flavopicta* (Stal). The arboreal cicadellids collected in water traps, like *Dilobopterus dispar* (Germar) and *Oncometopia* sp., could not be tested in ELISA assay because of their bad conditions of conservation.

KEYWORDS: Insecta, Cicadellidae, plum leaf scald, stonefruit, *Prunus salicina*.

RESUMO – A fauna de Homoptera:Auchenorrhyncha de pomares de ameixeira, situados numa área de disseminação da escaldadura-das-folhas no meio-oeste do estado de Santa Catarina, foi estudada durante 1991 e 1992 para se identificarem possíveis vetores da doença. Os homópteros foram coletados com rede de varredura e bandejas d'água amarelas e, quando possível, submetidos a teste ELISA para detecção da bactéria *Xylella fastidiosa*. Um total de 112 espécies foram capturadas, distribuídas nas famílias Aethalionidae (1 espécie), Cercopidae (7), Cicadellidae (64), Cixiidae (3), Delphacidae (5), Issidae (2), Membracidae (18), Tropiduchidae (1) e Psyllidae (11). A bactéria *X. fastidiosa* foi detectada nos cicadélídeos *Agallia* spp. (2 espécies), *Balclutha hebe* (Kirk.), *Bucephalogonia xanthophis* (Berg), *Chlorotettix minimus* (Baker), *Exitianus obscurinervis* (Stal), *Haldorus* sp. e *Plesiommata corniculata* Young; e nos cercopídeos *Deois schach* (F.) e *Deois flavopicta* (Stal). Os cicadélídeos arborícolas coletados em bandeja d'água, como *Dilobopterus dispar* (Germar) e *Oncometopia* sp., não puderam ser processados em teste ELISA em função do mal estado de conservação.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, Cicadellidae, escaldadura-das-folhas, frutas de caroço, *Prunus salicina*.

O cultivo da ameixeira na Região Sul do Brasil enfrenta graves problemas de mortandade de plantas devido à ocorrência da doença conhecida como escaldadura-das-folhas. A doença é causada pela bactéria *Xylella fastidiosa* Wells, Raju, Uang, Weisburg, Mandelco et Brenner, que infecta os vasos do xilema das plantas, impedindo o fluxo de seiva e provocando a queima das bordas das folhas, o secamento de ramos e a morte de plantas (Raju *et al.* 1982, Bleicher 1984). A bactéria *X. fastidiosa* também é o agente causal da clorose variegada dos citros (CVC), doença que

vem alarmando a citricultura paulista (Chang *et al.* 1993, Lee *et al.* 1993) e de outras doenças ainda não verificadas no território brasileiro, como o mal-de-pierce da videira (Hopkins 1977).

As cigarrinhas da família Cicadellidae são insetos capazes de transmitir *X. fastidiosa* de uma planta para outra e, assim, constituem vetores eficientes da bactéria (Hopkins 1977, Purcell 1989). Para CVC, no estado de São Paulo, já foram identificadas como vetoras as cigarrinhas *Dilobopterus costalimai* Young, *Oncometopia facialis* (Sign.), *Acrogonia*

sp. (prob. *gracilis*), *Bucephalogonia xanthophis* (Berg) e *Plesiommata corniculata* Young (Roberto et al. 1996, Lopes et al. 1996). A escaldadura-das-folhas da ameixeira também é transmitida por cigarrinhas vetoras, já tendo sido identificadas em outros países as seguintes espécies: *Homalodisca coagulata* (Say), *Oncometopia orbona* (F.) e *Paralaucizes irrorata* (F.) (Hopkins 1977, Younce & Shang 1987). Falta contudo identificar espécies de cigarrinhas transmissoras da escaldadura-das-folhas da ameixeira no Brasil. Isto permitirá redefinir a etiologia da doença e esclarecer a contaminação de plantas sadias em pomares infectados.

Apesar de os cicadélídeos serem os principais vetores das bactérias limitadas ao xilema, outros Homoptera: Auchenorrhyncha, que eventualmente se alimentam no xilema das plantas, são suspeitos de contribuir na disseminação destas bactérias (Purcell 1989). Cigarrinhas da família Cercopidae e alguns Psyllidae têm sido pesquisados quanto à possibilidade de transmitirem doenças provocadas por bactérias limitadas ao xilema (Purcell 1980, Purcell & Suslow 1984). Assim, o escopo deste estudo não se limitou apenas aos cicadélídeos, mas aos auquenorrincos de maneira geral.

Objetivando identificar a fauna de Auchenorrhyncha presente em pomares de ameixeira, na busca de possíveis vetores da escaldadura-das-folhas, procedeu-se ao levantamento de espécies com rede de varredura e bandejas d'água amarelas.

As coletas foram realizadas em dois pomares de ameixeira de 0,5 ha cada, da Estação Experimental de Videira, sendo um deles contaminado pela escaldadura-das-folhas e outro aparentemente livre da doença. As amostras com rede de varredura foram compostas por 50 passadas de rede na vegetação das entrelinhas de plantas em quatro pontos por pomar. As amostragens foram feitas a cada 30 dias, durante os anos de 1991 e 1992. Paralelamente, foram instaladas em cada pomar quatro bandejas d'água amarelas (35 x 23 cm). Cada bandeja foi colocada numa plataforma a 1,6 m de altura no interior da copa de uma ameixeira. As bandejas foram inspecionadas semanalmente, durante os mesmos dois anos, quando se coletavam os insetos e se completava o volume de água. As espécies foram diferenciadas pelo aspecto visual e agrupadas em famílias seguindo-se as chaves de CSIRO (1979) e Borror et al. (1989).

Os artrópodes coletados por rede de varredura foram anestesiados em laboratório com CO₂ e os Auchenorrhyncha foram separados e armazenados. Alguns exemplares foram montados em alfinete entomológico para envio a especialistas para identificação e outros foram congelados para processamento em teste de ELISA, para constatação da bactéria *X. fastidiosa*. Dado ao mau estado de conservação ou ao baixo número de espécimes coletados em bandejas d'água, estes foram apenas armazenados em álcool 70% e enviados a especialistas para identificação das espécies.

Os testes de ELISA foram realizados pelo método DAS (*double antibody sandwich*) (Clark et al. 1986), com anticorpo policlonal específico para *X. fastidiosa* obtido em coelho. As placas foram sensibilizadas com o anticorpo diluído à concentração aproximada de 1 µg/ml de

imunoglobulina, por 24h a 28°C. As placas foram lavadas por três vezes com PBS + 0,05% Tween 20 (PBS-tween) e em seguida, bloqueadas com solução de albumina de soro bovino (BSA) (Sigma) a 3% e incubadas por 2h a 28°C. Após três lavagens, os extratos foram colocados nos vasos e as placas foram incubadas a 4°C por 12h. As placas foram novamente lavadas com PBS-tween e o anticorpo conjugado com a enzima fosfatase alcalina (Tipo III, Sigma) foi mantido a 28°C por 4h. O substrato p-nitrofenil fosfato (Sigma) foi adicionado, com incubação no escuro à temperatura ambiente. A reação foi paralisada após 1h com NaOH 1,0N. A leitura dos resultados foi realizada determinando-se a absorbância a 410 nm em leitora de placas Dynatech modelo MR 600.

O índice do teste de ELISA foi obtido pela divisão da média dos valores de absorbância a 410 nm obtidos para cada amostra de cigarrinhas, pela média dos valores de absorbância a 410 nm obtidos para a suspensão da estirpe PLM-G38 (ATCC 35871) de *X. fastidiosa* na concentração de 10⁶ ufc/ml. As reações foram consideradas positivas ou suspeitas para a presença da bactéria, quando a média dos valores de absorbância a 410 nm foi pelo menos três vezes maior que os valores médios obtidos para o tampão de extração (Clark et al. 1986).

A relação de espécies identificadas de auquenorrincos coletados em pomares de ameixeira está apresentada na Tabela 1. Várias outras espécies foram coletadas, porém dado ao baixo número de indivíduos capturados, não puderam ser enviadas para identificação ou então ainda aguarda-se resposta de especialistas (Tabela 2). Embora algumas destas espécies tenham sido coletadas tanto em rede de varredura como em bandejas d'água, pode-se verificar que um grupo de cigarrinhas, de hábito arborícola, ocorreu apenas em bandejas d'água. Esse fato é comum na fauna de Auchenorrhyncha, sendo possível inclusive, estratificar verticalmente o espaço explorado por cada grupo de espécies (Novotny 1992).

Nas pesquisas de vetores de *X. fastidiosa* em plantas frutíferas, normalmente o esforço é concentrado nas cigarrinhas arborícolas, visto serem estas espécies as mais prováveis transmissoras da bactéria entre hospedeiros arbóreos (Taboada et al. 1975, Purcell & Suslow 1984, Dal Ri & Delaiti 1990). As cigarrinhas *D. costalimai*, *O. facialis* e *Acrogonia* sp., identificadas como vetoras da CVC em citros, são de hábito arborícola (Lopes et al. 1996, Roberto et al. 1996).

Entre as cigarrinhas arborícolas coletadas em pomares de ameixeira estão algumas espécies similares em gênero com espécies vetores da *X. fastidiosa*, destacando-se: *Dilobopterus dispar* (Germar), *B. xanthophis* e *Oncometopia* sp. Contudo, dado ao método de coleta empregado para estas espécies, não foi possível acumular espécimes para processar em teste de ELISA.

No teste de ELISA para as cigarrinhas da vegetação rasteira (Tabela 3), obteve-se reação positiva para várias espécies, o que indica a presença de indivíduos portadores de *X. fastidiosa*. Isso contudo não permite concluir que essas cigarrinhas sejam vetores da doença. A bactéria pode estar alojada no trato intestinal do inseto pós-cibarium e desta forma, não mais retornar à cavidade bucal para ser injetada

Tabela 1. Relação de espécies de Homoptera:Auchenorrhyncha coletadas em pomares de ameixeira, de acordo com o método de coleta. Videira, SC.

Família	Subfamília	Espécie	Coleta	
Aethalionidae		<i>Aethalion reticulatum</i> (L.)	bandeja	
Cercopidae		<i>Deois schach</i> (F.)	rede	
		<i>Deois flavopicta</i> (Stal)	rede	
Cicadellidae	Agalliinae	<i>Agallia</i> sp. (1)	rede/bandeja	
		<i>Agallia</i> sp. (2)	rede	
		<i>Agallia albidula</i> Uhler	rede	
		<i>Agalliana</i> sp.	rede/bandeja	
		<i>Agalliana ensigera</i> Oman	rede	
		<i>Bucephalagonia xanthophis</i> (Berg)	rede/bandeja	
	Cicadellinae	<i>Dilobopterus dispar</i> (Germar)	bandeja	
		<i>Ferrariana trivittata</i> (Sign.)	rede	
		<i>Hortensia similis</i> (Walker)	rede	
		<i>Oncometopia</i> sp.	bandeja	
		<i>Plesiommata corniculata</i> Young	rede	
		<i>Syncharina punctatissima</i> (Sign.)	rede	
		Deltocephalinae	<i>Amplicephalus marginellanus faminoides</i> Linn.	rede
			<i>Atanus</i> sp. (1)	rede/bandeja
			<i>Atanus</i> sp. (2)	rede/bandeja
			<i>Bahita</i> sp.	bandeja
			<i>Balclutha hebe</i> (Kirk.)	rede/bandeja
	<i>Chlorotettix minimus</i> Baker		rede	
	<i>Copididonus vittulatus</i> (Berg)		rede	
	<i>Exitianus obscurinervis</i> (Stal)		rede	
	<i>Graminella striatella</i> Linn.		rede	
	<i>Haldorus</i> sp.		rede/bandeja	
	<i>Menosoma cincta</i> (Osborne et Ball)		rede	
	<i>Osbornellus lamellaris</i> Linn.		bandeja	
	<i>Planicephalus flavicosta</i> (Stal)		rede/bandeja	
	<i>Planicephalus flavitta</i> (Berg)		rede	
	<i>Spangbergiella uruguayensis</i> (Berg)		rede	
<i>Stirellus picinus elegantulus</i> Linn.	rede			
<i>Unerus colonus</i> (Uhler)	rede			
Gyponinae	<i>Gypona (Marganalana)</i> sp.	rede/bandeja		
	Typhlocybinae	<i>Empoasca</i> sp.	rede/bandeja	
		<i>Protalebrella brasiliensis</i> (Baker)	rede/bandeja	
Membracidae		<i>Ceresa ustulata</i> Fairm	bandeja	
		<i>Ceresa brunnicornis</i> (Germar)	bandeja	

junto com a saliva no tecido vegetal (Purcell 1989). Por outro lado, se a bactéria estiver alojada na cavidade bucal da cigarrinha de reação positiva, a probabilidade de esta espécie ser vetora da doença é alta. Assim, as cigarrinhas listadas na Tabela 3 são fortes candidatas a comporem testes de transmissão da escaldadura-das-folhas entre ameixeiras.

Tebar *et al.* (1994) encontraram resultados similares em pomares de citros afetados pela CVC, inclusive coincidindo

com algumas espécies listadas no presente estudo, como *Planicephalus flavicosta* (Stal) e *Plesiommata corniculata* Young.

O fato de cigarrinhas coletadas com rede de varredura apresentarem resultados positivos no teste de ELISA remete a duas possibilidades para aquisição da bactéria: essas cigarrinhas também se alimentam na ameixeira, adquirindo a bactéria de plantas doentes; ou a bactéria é adquirida em

Tabela 2. Número de espécies de Homoptera:Auchenorrhyncha coletadas em pomares de ameixeira, de acordo com o método de coleta. Videira, SC.

Família	Número de espécies coletadas				Total de espécies ¹
	Rede de varredura		Bandeja d'água		
	Identificadas	Não identificadas	Identificadas	Não identificadas	
Aethalionidae	-	-	1	-	1
Cercopidae	2	2	-	3	7
Cicadellidae	28	21	15	14	64
Cixiidae	-	1	-	2	3
Delphacidae	-	5	-	-	5
Issidae	-	-	-	2	2
Membracidae	1	1	2	15	18
Psyllidae	-	1	-	11	11
Tropiduchidae	-	1	-	-	1

^{1/} Sem repetição.

outros hospedeiros de *X. fastidiosa*, presentes na vegetação rasteira dos pomares (Harakava et al. 1994, Leite et al. 1997).

Fica então evidenciado por este estudo, que a fauna de Auchenorrhyncha em pomares de ameixeira é muito diversificada e entre as espécies componentes, várias são portadoras da bactéria *X. fastidiosa*.

Agradecimentos

Os autores agradecem D.S. Napp, K. Zanol, R.R. Cavichioli e A. Sakakibara (UFPR - CIIF) e M. Lacey-Theisen e C.H. Dietrich (USDA - SEL), pelo auxílio na identificação das espécies de cigarrinhas; e a W.B. Fett

Tabela 3. Número de amostras de espécies de Cicadellidae e Cercopidae com reação positiva, suspeita e negativa no teste ELISA, para detecção de *X. fastidiosa*.

Espécie	Reação no teste ELISA		
	Positiva	Suspeita	Negativa
<i>Agallia</i> sp. (1)	1	2	7
<i>Agallia</i> sp. (2)	2	1	4
<i>A. marginellanus faminoides</i>	-	-	5
<i>B. hebe</i>	2	1	14
<i>C. minimus</i>	1	1	4
<i>C. vittulatus</i>	-	2	8
<i>D. schach</i> ¹	1	-	-
<i>D. flavopicta</i> ¹	-	2	3
<i>E. obscurinervis</i>	3	1	20
<i>F. trivittata</i>	-	2	4
<i>G. striatella</i>	-	1	9
<i>Haldorus</i> sp.	3	2	12
<i>H. similis</i>	4	5	3
<i>M. cincta</i>	-	-	4
<i>P. flavicosta</i>	-	2	12
<i>P. corniculata</i>	5	2	9
<i>S. picinus elegantulus</i>	-	1	2
<i>S. punctatissima</i>	-	1	6
<i>U. colonus</i>	-	3	11

^{1/} Cercopidae

(USDA - Eastern Regional Research Center) pelo fornecimento do anticorpo específico para *X. fastidiosa*.

Literatura Citada

- Bleicher, J. 1984.** A escaldadura das folhas da ameixeira no Estado de Santa Catarina. Florianópolis, EMPASC, 9p.
- Borrer, D.J., C.A. Triplehorn & N.F. Johnson. 1989.** An introduction to the study of insects. 6th ed., New York, Saunders/HBJ, 875p.
- Chang, C.J., M. Garnier, L. Zreik, V. Rossetti & J.M. Bové. 1993.** Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. *Curr. Microbiol.* 27: 137-142.
- Clark, M.F., R.M. Lister & M. Bar-Joseph. 1986.** ELISA techniques, p.742-766. In H. Weissbach & A. Weissbach (eds.), *Methods in enzymology*, v.118. New York, Academic Press, 820p.
- CSIRO. 1979.** The insects of Australia. Canberra, Melbourne University Press, 1029p.
- Dal Ri, M. & L. Delaiti. 1990.** Le cicaline in Trentino. *Boll. Isma* 4: 4-7.
- Harakava, R., L.R. Tebar, L. Beretta, C.B. De Jesus, A.P.C. Alba & M.J.G. Beretta. 1994.** Detection of *Xylella fastidiosa* antigens in weeds collected from citrus orchards affected by citrus variegated chlorosis (CVC). *Fitopatol. Bras.* 19 (supl.): 319.
- Hopkins, L.D. 1977.** Diseases caused by leafhopper-borne rickettsia-like bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 17: 277-294.
- Lee, R.F., M.J.G. Beretta, J.H. Hartung, M.E. Hooker & K.S. Derrick. 1993.** *Xylella fastidiosa*: agente causal de clorose variegada dos citros. *Laranja* 14: 157-166.
- Leite, R.M.V.B.C., R.P. Leite Jr. & P.C. Ceresini. 1997.** Hospedeiros alternativos de *Xylella fastidiosa* entre plantas invasoras de pomares de ameixeira com escaldadura da folha. *Fitopatol. Bras.* 22: 54-57.
- Lopes, J.R.S., M.J.G. Beretta, R. Harakava, R.P.P. Almeida, R. Krügnner & J.R. Garcia. 1996.** Confirmação da transmissão por cigarrinhas do agente causal da clorose variegada dos citros, *Xylella fastidiosa*. *Fitopatol. Bras.* 21: 343.
- Novotny, V. 1992.** Vertical distribution of leafhoppers (Hemiptera, Auchenorrhyncha) within a meadow community. *Acta Entomol. Bohemoslov.* 89: 13-20.
- Purcell, A.H. 1980.** Almond leaf scorch: leafhopper and spittlebug vectors. *J. Econ. Entomol.* 73: 834-838.
- Purcell, A.H. 1989.** Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria. *Adv. Dis. Vector Res.* 6: 243-266.
- Purcell, A.H. & K.G. Suslow. 1984.** Surveys of leafhoppers (Homoptera:Cicadellidae) and pear psylla (Homoptera:Psyllidae) in pear and peach orchards and the spread of peach yellow leaf roll disease. *J. Econ. Entomol.* 77: 1489-1494.
- Raju, B.C., J.M. Wells, G. Nyland, R.H. Brlansky & S.K. Lowe. 1982.** Plum leaf scald: isolation, culture, and pathogenicity of the causal agent. *Phytopathol.* 72: 1460-1466.
- Roberto, S.R., A. Coutinho, J.E.O. de Lima, V.S. Miranda & E.F. Carlos. 1996.** Transmissão de *Xylella fastidiosa* pelas cigarrinhas *Dilobopterus costalimai*, *Acrogonia terminalis* e *Oncometopia facialis* em citros. *Fitopatol. Bras.* 21: 517-518.
- Taboada, O., D.A. Rosenberger & A.L. Jones. 1975.** Leafhopper fauna of X-disease peach and cherry orchards in southwest Michigan. *J. Econ. Entomol.* 68: 255-257.
- Tebar, L.R., R. Harakava, S. Gravena, P.T. Yamamoto, P.E.B. Paiva, Alba, A.P.C., M.J.G. Beretta, R.F. Lee & K.S. Derrick. 1994.** Detection of *Xylella fastidiosa* antigens in sharpshooter leafhoppers collected from citrus orchards affected by citrus variegated chlorosis (CVC). *Fitopatol. Bras.* 19: 319.
- Younce, C.E. & C.J. Shang. 1987.** Detection of xylem-limited bacteria from sharpshooter leafhoppers and their feeding hosts in peach environs monitored by culture isolations and ELISA techniques. *Environ. Entomol.* 16: 68-71.

Received 02/03/01. Accepted 18/08/01.