

**Comunicação Científica****Uso de Serologia na Identificação de Predadores de *Orphulella punctata* (De Geer) (Orthoptera: Acrididae)**

José E. Serrão<sup>1</sup>, Marta da Silva<sup>2</sup>, Carlos R. Sousa-Silva<sup>2</sup> e Josué M. Pacheco<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, MG.

<sup>2</sup>Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, Km 235, 13560.000, São Carlos, SP

---

An. Soc. Entomol. Brasil 26(2): 375-378 (1997)

Use of Serology to Identify Predators of *Orphulella punctata* (De Geer)  
(Orthoptera: Acrididae)

**ABSTRACT** - Serological techniques were used to study *Orphulella punctata* (De Geer) predators. For preparation of antiserum, rabbits were immunized by the limphonodule injection method with antigens obtained from *O. punctata* male. Serological tests were performed using double diffusion in agar gel. Specific serological reactions were obtained 13 days after the 1st inoculation. After the 2nd inoculation 5 precipitation lines were observed. In the reactions with female antigens there were 2-4 lines, while egg antigens showed 2 lines. These variations in the number of lines were attributed to different physiological states and to ontogeny. Positive reactions were observed for spiders and chrysopids captured in the field.

**KEY WORDS:** Insecta, antiserum, predation, serological technique.

---

O gênero *Orphulella* (Orthoptera: Acrididae) apresenta distribuição geográfica ampla, ocorrendo do Canadá a Argentina. *O. punctata* (De Geer), a espécie Neotropical mais comum, é encontrada em áreas de pastagens e margens de florestas desde o México Central até a Argentina (Otte 1978). No Brasil, Silva *et al.* (1968) observam que essa espécie é praga de *Nicotiana tabacum* e pastagens. Em São Carlos, SP, essa espécie é encontrada durante todo o ano sem causar prejuízos. Esta situação mostra um equilíbrio possivelmente relacionado a ação de predadores e parasitóides.

A técnica serológica, que se baseia na possibilidade de reações específicas entre um

antissoro, obtido para a fonte que se quer investigar e antígenos, obtidos dos consumidores dessa fonte, tem sido utilizada com sucesso por vários autores na determinação de predadores de várias ordens de insetos (Dempster 1960, Titova 1970, Lund & Turpin 1976, Gorayeb & Pinger 1978, Mciver 1981). Nesse trabalho, utilizou-se a serologia para se estudar os possíveis predadores de *O. punctata* em condições naturais.

Machos de *O. punctata*, coletados em pastagens, foram utilizados como antígeno para a obtenção de antissoro específico. Os insetos foram mantidos em jejum por 48h, macerados em solução salina 0,85% e centrifugados a 6000 g por 2 min. O

sobrenadante foi coletado e emulsionado com Adjuvante Freund incompleto (v/v), para uso na obtenção do antissoro específico. Um coelho, pesando 3 Kg, foi imunizado com duas injeções de 0,5 ml do AG, via linfonódulo das pernas traseiras, observando-se um intervalo de 15 dias entre a 1ª e a 2ª injeção (Oliveira 1975). Durante o período de imunização foram realizadas sangrias consecutivas, du-

recolhida uma amostra do sangue do coelho para a obtenção do soro normal, utilizado como controle nas reações serológicas. Os testes serológicos foram realizados utilizando-se a técnica de dupla difusão em ágar a 1% (Ouchterlony 1958) em tampão PBS 0,01M, pH 7,0 (Hofling 1975) sobre lâminas para microscopia (3,0 ml de solução de ágar por lâmina de 75X25 mm). Testes homólogos

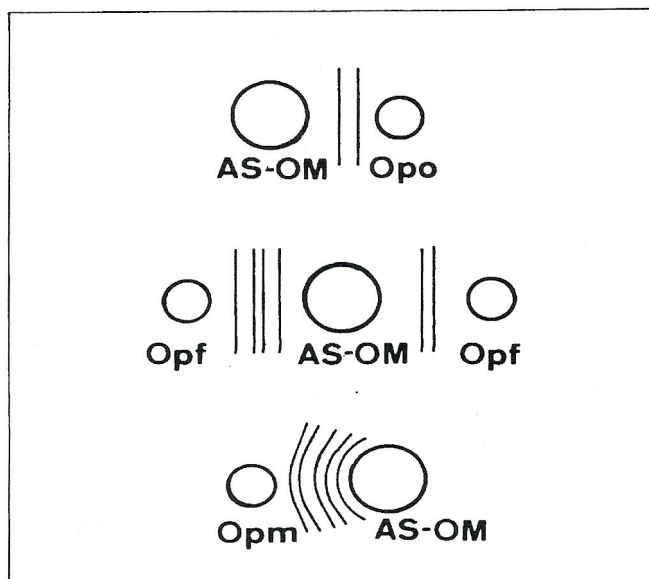


Figura 1. Linhas de precipitação observadas nas reações serológicas de dupla difusão em ágar entre o antissoro para macho de *Orphulella punctata* (AS-OM) e os antígenos para fêmea (Opf), ovos (Opo) e machos (Opm).

rante 29 dias, através de pequenas incisões longitudinais na veia marginal da orelha do coelho. O sangue obtido, em média 10 ml por sangria, permaneceu por 2-3h em temperatura ambiente. A seguir, o coágulo formado foi descolado das paredes do frasco e mantido em geladeira (10 °C) por 24h. O coágulo foi descartado e ao soro obtido adicionava-se mertiolato, para uma concentração final de 1:10.000, sendo a seguir armazenado a -2 °C. Antes da 1ª inoculação do antígeno, foi

foram realizados, utilizando-se como antígenos indivíduos machos (AG-Opm), fêmeas (AG-Opf) e ovos (AG-Opo) de *O. punctata*, macerados em solução salina 0,85%. Os ovos foram obtidos em laboratório de fêmeas coletadas a campo, deixadas em gaiolas teladas, contendo recipientes plásticos com terra umedecida para a oviposição. Testes com predadores foram realizados com artrópodes capturados, semanalmente, nas pastagens da Fazenda Canchim, São Carlos,

SP, com auxílio de rede de varredura.

Testes serológicos homólogos entre AS-OM e AG-Opm foram positivos mostrando uma linha de precipitação aos 13 dias após uma única injeção no linfonóculo do coelho. Após a 2ª dose foram observadas cinco linhas de precipitação (Fig. 1). A maior rapidez na resposta imunológica, utilizando-se o método de injeção no linfonóculo, foi observada por Oliveira (1975). Nas reações com AG-Opf o número de linhas variou de 2 a 4 e, nas reações com AG-Opo foram observadas apenas duas linhas de precipitação (Fig. 1).

As variações no número de linhas de precipitação observadas podem ser devidas à variabilidade genética que ocorre em *O. punctata*. Otte (1978), durante a revisão da tribo Orphulellini, cita a dificuldade para a identificação do gênero *Orphulella*, por suas espécies serem muito difundidas e apresentarem variações geográficas, bem como polimorfismo. Sousa-Silva *et al.* (1988) observaram algo semelhante em *Deois flavopicta* (Stal) e atribuiu o fato à variabilidade genética encontrada nessa espécie, que se mostra facilmente visível no polimorfismo do padrão de cores das asas. O menor número de linhas de precipitação observado nas reações com ovos, sugere que este antígeno não possui a maioria dos determinantes antigênicos presentes no macho e na fêmea. Sousa-Silva *et al.* (1988) sugerem que isto ocorre devido a transformações fisiológicas durante o desenvolvimento, que estariam suprimindo ou estimulando reações, com conseqüente perda ou ganho de linhas.

Os testes realizados com artrópodes predadores capturados no campo mostraram resultados positivos para aranhas e crisopídeos. Para se descartar a hipótese de reações cruzadas, testes adicionais com indivíduos das mesmas espécies de aranhas e crisopídeos tanto coletados no campo como mantidos em jejum por 48h mostraram a ausência de reações positivas para o antissor. Apesar de Lund & Turpin (1976), Gorayeb & Pinger (1978) e Mciver (1981) relatarem a eficiência do uso de antissor específico na

determinação de predadores, esses autores utilizaram outras técnicas. Portanto, os resultados positivos com predadores indicam que o método serológico aqui utilizado mostra-se eficiente na determinação de predadores de insetos.

### Agradecimentos

Ao CNPq, pelo financiamento da pesquisa. Ao Prof. Dr. Toledo Pizza (*In memoriam*) pela identificação da espécie utilizada no trabalho. Ao Centro de Pesquisa Pecuária do Sudeste-CPPSE/Embrapa, São Carlos, SP, pelas facilidades concedidas.

### Literatura Citada

- Dempster, J.P. 1960.** A quantitative study of the predators on the eggs and larvae of the broom beetle *Phytodecta olivaceae* Forster, using the precipitation test. *J. Anim. Ecol.* 29:149-167.
- Gorayeb, I.S. & R.R. Pinger. 1978.** Detecção de predadores naturais de larvas de *Simulium fulvinoctum* Cerq. e Mello, 1968 (Diptera: Nematocera). *Acta Amazônica* 8:629-637.
- Hofling, J.F. 1975.** Serologia aplicada ao estudo de algumas espécies do gênero *Coffea* e suas implicações na origem de *C. arabica* L. Campinas, UNICAMP, Inst. Biol., 88p.
- Lund, R.D. & F.T. Turpin. 1976.** Serological investigation of black cutworm larval consumption by ground beetles. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 70: 322-324.
- Mciver, D.J. 1981.** An examination of the utility of the precipitation test for evaluation of arthropod predator-prey relationship. *Can. Entomol.* 113:213-222.
- Oliveira, A.R. 1975.** Considerações sobre antissoros obtidos pela técnica de injeção

de antígeno no linfonódulo. Summa Phytopathol. 1:61-64.

**Otte, D. 1978.** Revision of the grasshoppers tribe Orphulellini (Acrididae: Gomphocerinae). Proc. Acad. Nat. Sci. Phil. 131:52-88.

**Ouchterlony, O. 1958.** Diffusion in gel methods for immunological analysis, p.1-78. In S. Karger (ed.), Progress in allergy. New York, Plenum Press, 312p.

**Silva, A.G.d'A., C.R. Gonçalves, D.M. Monteiro, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silur & L. Simoni. 1968.** Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Rio de Janeiro, Escola

Nacional de Agronomia, 622p.

**Sousa-Silva, C.R., A.R. Oliveira & J.M. Pacheco. 1988.** Diferenciação serológica dos estágios fisiológicos de *Deois flavopicta* (Stal, 1854) (Homoptera: Cercopidae). An. Soc. Entomol. Brasil 17: 61-65.

**Titova, E.V. 1970.** Use of the precipitin test in a study of interrelationship between *Eurygaster integriceps* Put (Homoptera-Scutelleridae) and predatory arthropods. Entomol. Rev. 49:155-162.

Recebido em 15/04/96. Aceito em 29/04/97.

---