



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**AVALIAÇÃO DE FUNGOS E NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS E SUA
COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS
FITOSSANITÁRIOS VISANDO O CONTROLE
DA COCHONILHA-DA-RAIZ-DO-CAFEIRO,
Dysmicoccus texensis TINSLEY (HEMIPTERA:
PSEUDOCOCCIDAE)**

VANESSA ANDALÓ MENDES DE CARVALHO

2003



55590

MFND49397

VANESSA ANDALÓ MENDES DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DE FUNGOS E NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
E SUA COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS
VISANDO O CONTROLE DA COCHONILHA-DA-RAIZ-DO-
CAFEIRO, *Dysmicoccus texensis* TINSLEY (HEMIPTERA:
PSEUDOCOCCIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Alcides Moino Junior

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Carvalho, Vanessa Andaló Mendes de

Avaliação de fungos e nematóides entomopatogênicos e sua compatibilidade com produtos fitossanitários visando o controle da cochonilha-da-raiz-de-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) / Vanessa Andaló Mendes de Carvalho. -- Lavras : UFLA, 2003.

82 p. : il.

Orientador: Alcides Moino Junior.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Controle biológico. 2. Controle microbiano. 3. *Coffea* spp.. 4. Insecta.
5. Praga subterrânea. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7396

-633.7394

VANESSA ANDALÓ MENDES DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DE FUNGOS E NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
E SUA COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS
VISANDO O CONTROLE DA COCHONILHA-DA-RAIZ-DO-
CAFEIEIRO, *Dysmicoccus texensis* TINSLEY (HEMIPTERA:
PSEUDOCOCCIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de “Mestre”.

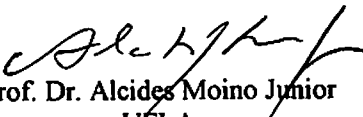
APROVADA em 14 de Fevereiro de 2003

Profa. Dra. Antônia do Carmo Barcelos Correia

UNESP/FCAV

Dr. Júlio César de Souza

EPAMIG/CTSM


Prof. Dr. Alcides Moino Junior
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

**Aos meus pais, José Carlos e Márcia; ao
meu irmão Lívio, aos meus avós Almiro
e Prazeres e ao Carlos.**

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Alcides Moino Junior pela amizade, orientação e dedicação durante todo o curso.

Aos professores do Departamento de Entomologia (DEN/UFLA) pelos ensinamentos transmitidos, estímulo e profissionalismo em relação à pesquisa e educação.

Ao pesquisador Dr. Júlio César de Souza e à professora Dra. Antônia do Carmo Barcelos Correia pela valiosa contribuição para este trabalho.

Ao professor Geraldo Andrade de Carvalho pelo incentivo e apoio.

À Dra. Myrian Silvana Tigano (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) pela amizade e conhecimentos transmitidos.

À pesquisadora da EPAMIG/CTSM, Lenira V.C. Santa-Cecília, pela amizade, apoio e ensinamentos.

Ao pesquisador Dr. Elifas Nunes de Alcântara (EPAMIG/CTSM) e ao professor Itamar Ferreira de Souza (DAG/UFLA) pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Patologia de Insetos, André, Giselle, Juan Pablo, Ricardo e Sandro.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Entomologia (UFLA).

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, em especial a Elaine, Fábio e Nazaré, pela amizade e pelo auxílio prestado durante o curso.

Aos amigos Jussara, Ana Beatriz, Luis Carlos, Tatiana, Guilherme, Mila, Flávia, Priscila e Renata pela amizade e carinho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Sinceramente agradeço.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral.....	1
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 Descrição e ciclo biológico de <i>Dysmicoccus texensis</i>	4
2.2 Importância das cochonilhas na cultura do cafeeiro.....	7
2.3 Métodos de controle de cochonilhas.....	9
2.3.1 Químico.....	9
2.3.2 Controle biológico.....	10
2.3.2.1 Predadores.....	10
2.3.2.2 Parasitóides.....	11
2.3.2.3 Entomopatógenos.....	12
2.4 Seleção de isolados.....	15
2.5 Compatibilidade de fungos e nematóides com produtos fitossanitários..	16
2.5.1 Fungos.....	17
2.5.2 Nematóides.....	18
3 Referências Bibliográficas.....	21
CAPÍTULO 2: Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, <i>Dysmicoccus texensis</i> (Tinsley).....	27
1 Resumo.....	27
2 Abstract.....	28
3 Introdução.....	29
4 Material e Métodos.....	31
4.1 Criação de <i>Dysmicoccus texensis</i>	31
4.2 Obtenção dos nematóides e isolados de fungos.....	32
4.3 Bioensaios para seleção de fungos e nematóides.....	37
4.3.1 Fungos.....	37
4.3.2 Nematóides.....	39
5 Resultados e Discussão.....	40
5.1 Seleção de fungos entomopatogênicos.....	40
5.2 Determinação dos TL ₅₀ para fungos.....	44
5.3 Bioensaios com nematóides entomopatogênicos.....	47
6 Conclusões.....	53
7 Referências Bibliográficas.....	54

CAPÍTULO 3: Compatibilidade de fungos e nematóides entomopatogênicos com produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro.....	56
1 Resumo.....	56
2 Abstract.....	57
3 Introdução.....	58
4 Material e Métodos.....	60
4.1 Testes de compatibilidade.....	60
4.1.1 Metodologia para avaliação do efeito de produtos fitossanitários sobre o fungo entomopatogênico <i>Beauveria bassiana</i>	61
4.1.2 Metodologia para avaliação do efeito de produtos fitossanitários sobre o nematóide entomopatogênico <i>Steinernema carpocapsae</i>	63
5 Resultados e Discussão.....	66
5.1 Avaliação da germinação dos conídios.....	66
5.2 Avaliação do crescimento vegetativo e da esporulação.....	67
5.3 Avaliação do efeito dos produtos fitossanitários sobre a viabilidade de <i>Steinernema carpocapsae</i>	72
5.4 Avaliação do efeito dos produtos fitossanitários sobre a infectividade de <i>Steinernema carpocapsae</i> em larvas de <i>Galleria mellonella</i>	74
6 Conclusões.....	78
7 Referências Bibliográficas.....	79
Considerações Finais.....	82

RESUMO

CARVALHO, Vanessa Andaló Mendes de. Avaliação de fungos e nematóides entomopatogênicos e sua compatibilidade com produtos fitossanitários visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Lavras: UFLA, 2003. 82 p. (Dissertação – Mestrado em Entomologia).*

Várias substâncias químicas são usadas no controle de pragas e doenças atualmente, porém muitos desses produtos são tóxicos ao homem e aos animais, reduzindo o potencial de controle de predadores, parasitóides e patógenos. A estratégia do controle integrado pode ser utilizada, na qual produtos fitossanitários seletivos são usados juntamente com fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico; assim, estudos criteriosos devem ser feitos com estes produtos, a fim de se obter sucesso na estratégia adotada. Os objetivos deste trabalho foram selecionar isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos visando o controle da cochonilha *Dysmicoccus texensis* e avaliar a compatibilidade de produtos químicos utilizados na cultura do cafeeiro sobre esses organismos. No primeiro estudo, os fungos foram pulverizados sobre a cochonilha na concentração de 1×10^8 conídios/mL, sendo a avaliação de mortalidade feita aos sete dias. Neste bioensaio foram selecionados 10 fungos que causaram maior mortalidade e feito um novo bioensaio para determinar os TL₅₀. Para os nematóides foi realizado um bioensaio utilizando as concentrações de 25, 50 e 100 nematóides/cochonilha. As avaliações foram feitas diariamente até os 10 dias para fungos e oito dias para nematóides. No segundo estudo, o fungo foi repicado em meio BDA contendo os produtos, e foram avaliados germinação, crescimento vegetativo e esporulação. Para os nematóides foram avaliados os parâmetros viabilidade e infectividade em larvas de *Galleria mellonella*. O fungo selecionado foi o isolado UEL 114 de *Beauveria bassiana* e o nematóide, *Steinernema carpocapsae*. Os herbicidas azafenidina, quintozeno, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen reduziram a germinação do fungo *B. bassiana* e estes herbicidas, mais glifosato e dimetiluréia prejudicaram o crescimento vegetativo e esporulação do fungo. Quanto ao nematóide *S. carpocapsae*, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen diminuíram a sua viabilidade e estes herbicidas, mais simazina + ametrina e azafenidina reduziram a infectividade de *S. carpocapsae* a larvas de *G. mellonella*.

* Orientador: Alcides Moino Junior – UFLA

ABSTRACT

CARVALHO, Vanessa Andaló Mendes de. **Evaluation of entomopathogenic fungi and nematodes and their compatibility to pesticides for the control of the coffee root mealybug, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley).** Lavras: UFLA, 2003. 82 p. (Dissertation – Master in Entomology).*

Several chemical substances are used in the control of pests and diseases, however many of these products are toxic to the man and other animals, reducing the potential of control of predators, parasitoids and pathogens. An integrated control strategy can be used, in which selective pesticides are used together with entomopathogenic fungi or other biological control agents. So, studies should be made on these products, in order to obtain success in the adopted strategy. The objectives of this work were to select strains of entomopathogenic fungi and nematodes for the control of the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* and to evaluate the compatibility of chemical pesticides used in the coffee crop with these organisms. In a first study, fungi were inoculated on the insects at the concentration of 1×10^8 conidia/mL, being the mortality evaluation done at the seven days after inoculation. Ten fungi strains that caused higher mortality levels were selected and submitted to a new bioassay to determine the TL_{50} . A bioassay were also accomplished with four nematode species, using the concentrations of 25, 50 and 100 infective juveniles/mealybug. The evaluations were made daily until 10 days after inoculation for the fungi and 8 days for the nematodes. In the second study, the selected fungus (*Beauveria bassiana* - UEL 114) was inoculated in PDA medium containing pesticides, being evaluated the germination, vegetative growth and sporulation. The viability and infectivity on *Galleria mellonella* larvae of the selected nematode species (*Steinernema carpocapsae*) were also evaluated in the presence of the chemical pesticides. The herbicides azafenidyn, quintozene, simazyn + ametryn, 2,4-D, acetochlor and oxyfluorfen reduced fungi germination. Vegetative growth and sporulation were reduced by these chemicals plus glifosate and dimetilurea. The viability of *S. carpocapsae* was reduced by 2,4-D, acetochlor and oxyfluorfen. The nematode infectivity on *G. mellonella* larvae were reduce by these products plus simazyn + ametryn and azafenidyn.

* Adviser: Alcides Moino Junior – UFLA

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do cafeeiro tem grande importância econômica no Brasil, com estimativas, para a safra de 2002/2003, de 37,6 a 39,6 milhões de sacas de 60,5 kg de café beneficiados, sendo as regiões sul e oeste de Minas Gerais responsáveis pela maior produção, com 10,8 milhões de sacas. A área plantada no Brasil é de 2,3 milhões de hectares, com 4,8 milhões de covas, estando o sul e oeste de Minas com a maior área plantada, de 545 mil hectares e 1 milhão e 174 mil covas (Companhia Nacional de Abastecimento, 2002).

Entre as pragas dessa cultura são encontradas as cochonilhas que atacam tanto a parte aérea da planta, *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus lilacinus* (Cockerell), *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) e *Coccus viridis* (Green) (Hemiptera: Coccidae) (Reddy et al., 1990), como também a que se alimenta do seu sistema radicular, *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). De acordo com Santa-Cecília et al. (2002), o primeiro reconhecimento e identificação de cochonilhas na raiz do cafeeiro no Brasil foi realizado por Hempel (1918), sendo esta a espécie *Pseudococcus cryptus* Hempel. Esta espécie foi novamente descrita por Williams (1970), que a colocou no gênero *Dysmicoccus*, sendo a correta identificação *D. texensis* (Tinsley) (= *bispinosus* Beardsley) (Williams & Granara de Willink, 1992; Miller & Polavarapu, 1997).

Devido à sua longa permanência no campo, passando por diferentes condições ambientais, o cafeeiro se torna suscetível à ocorrência de grande número de artrópodes, com efeitos sobre o desenvolvimento, produção e

qualidade do fruto. A possibilidade do uso do controle microbiano de insetos para esta cultura tem se fortalecido pela maior procura do café orgânico, livre do uso de produtos fitossanitários (Martinez & Suris, 2000).

De acordo com Alves (1998), os fungos são responsáveis por cerca de 80% das doenças causadas em insetos, sendo os primeiros agentes a serem utilizados no controle microbiano. Apresentam grande variabilidade genética, o que representa grande vantagem, já que torna possível selecionar isolados de fungos com alta virulência, podendo ser específicos ou não, com boas características para utilização como inseticida microbiano, objetivando o controle de várias pragas. Assim, é possível selecionar adequadamente os melhores fungos para um programa de controle. Outra vantagem é a que podem ser introduzidos inicialmente em altas concentrações (introdução inundativa), porém, posteriormente alguns fungos têm condições de se estabelecer na área, tornando necessárias apenas aplicações inoculativas ou incrementos. Desta forma, é possível adequar o uso de um fungo às condições existentes, tornando-o viável em um programa de controle microbiano.

Com relação aos nematóides entomopatogênicos, Ferraz (1998) destaca várias vantagens, mostrando que esses têm sido cada vez mais estudados para o controle de pragas. Entre as vantagens está a resistência a muitos produtos fitossanitários, possibilitando o seu uso em programas de manejo integrado. Podem apresentar sinergismo com outros agentes entomopatogênicos, aumentando a eficiência e a economia do método utilizado. Possuem boa capacidade de adaptação a novos ambientes, desde que não ocorram condições adversas extremas. Algumas espécies têm a capacidade de se difundir no ambiente, podendo buscar um hospedeiro quando preciso. São específicos a insetos, não causando danos às plantas cultivadas. Pode ocorrer reprodução por partenogênese. A aplicação dos nematóides pode ser feita em pastagens, pois são

inócuos aos animais de criação. Os índices de mortalidade de pragas podem ser maiores que aqueles causados por outros patógenos, dependendo do caso.

Um ponto ressaltado é a associação mutualística entre alguns nematóides e bactérias, resultando em uma morte rápida dos insetos parasitados. Esta associação ocorre nas famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, sendo as bactérias associadas dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente. A morte do inseto ocorre pela ação da bactéria, acelerando este processo. Devido às várias vantagens apresentadas pelo uso de fungos e nematóides entomopatogênicos, estes devem ser estudados a fim de tornar viável a sua aplicação.

Desta forma, este trabalho teve por objetivos selecionar isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos, visando sua utilização no controle microbiano da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, e testar a compatibilidade dos agentes selecionados com produtos fitossanitários usados na cultura do cafeeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição e ciclo biológico de *Dysmicoccus texensis*

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro apresenta coloração rosada, com uma camada cerosa de cor branca sobre o seu corpo, por isso é denominada cochonilha farinhenta. As fêmeas são ápteras, de corpo mole, com formato oval, possuindo a cabeça e o tórax fundidos. As fêmeas adultas medem cerca de 3 mm de comprimento (Gallo et al., 2002).

Características importantes desta espécie incluem a presença de 18 apêndices laterais, cada qual com duas setas cônicas dilatadas, exceto por alguns na cabeça com três ou quatro setas. Ocasionalmente um apêndice abdominal pode ter três setas cônicas. As setas dorsais são todas curtas. Pequenos poros discoidais são espalhados sobre o dorso; poucos estão presentes na área média do segmento posterior abdominal e perto de cada olho. Na parte ventral, poros discoidais multiloculares estão usualmente presentes através do segmento abdominal posterior. Os dutos tubulares podem ser de dois tamanhos: um tipo pequeno presente no segmento abdominal e escassamente no segmento abdominal anterior; um tipo maior, presente no segmento abdominal posterior, entre as antenas e ocasionalmente na área média do tórax. Outras importantes características são os círculos, geralmente mais largos do que longos, presentes no oitavo segmento da antena e nas pernas posteriores, tendo poros translúcidos no fêmur e na tíbia (Willians et al., 1992).

Nakano (1972) faz a descrição de seus estágios de desenvolvimento desde a fase de ovo até a fase adulta. Assim, seus ovos apresentam forma elíptica, com uma extremidade um pouco menor, que corresponde à parte posterior do inseto. Possui em média 0,40 mm de comprimento, 0,23 mm de largura e 0,15 mm de altura. O cório é liso, com coloração rósea. Esta fase tem

curta duração, a eclosão das ninfas ocorre entre 30 e 45 minutos. As ninfas de 1º instar possuem forma elíptica, medindo em média 0,42 mm de comprimento por 0,25 mm de largura. As antenas têm 6 artículos, ausência de apêndices filamentosos cerosos em volta do corpo, a não ser os dois situados na parte posterior do abdome. Apresentam cor rósea, revestida por substâncias cerosas brancas, que vão aumentando conforme se aproxime o próximo estágio ninfal. Suas pernas são bem desenvolvidas em relação ao tamanho do corpo.

No 2º instar, as ninfas têm em média 0,55 mm de comprimento e 0,29 mm de largura. As antenas têm 6 artículos e ocorre a formação de apêndices filamentosos ao redor do corpo. As ninfas de 3º instar possuem em média 0,63 mm de comprimento por 0,38 mm de largura. As antenas sofrem uma divisão no 3º segmento antenal, apresentando 7 artículos.

Após esta fase o inseto é considerado adulto, estando na fase de pré-oviposição. Apresenta em média 1,45 mm de comprimento por 0,80 mm de largura. Apresenta a vulva, que era ausente nas fases anteriores. Ocorre a formação de finos fios cerosos, produzidos por poros localizados na região póstero-ventral, chamado ovissaco, com a finalidade de abrigar os ovos. Posteriormente o inseto atinge a fase de oviposição, na qual suas dimensões aumentam muito, de acordo com a capacidade de produção de ovos. O tamanho médio é de 2,65 mm de comprimento por 1,58 mm de largura. As pernas ficam proporcionalmente menores em relação ao tamanho do corpo. Na fase de pós-oviposição, o inseto apresenta um enrugamento, adquirindo coloração arroxeada, com pouca ou nenhuma secreção cerosa.

TABELA 1. Ciclo biológico de *Dysmicoccus texensis* (Nakano, 1972).

Fase de desenvolvimento	Médias do tempo de duração (dias)
1° ínstar	9,85 a 15, 84
2° ínstar	10,30 a 14,12
3° ínstar	10,90 a 19,37
Pré-oviposição	15, 95 a 54,45
Total fase de crescimento	50,82 a 103,72
Oviposição	12,63 a 25,75
Pós-oviposição	2,82 a 5,65
Total fase adulta	15,45 a 31,40

O tempo de duração das fases de desenvolvimento é muito variável, principalmente em função de fatores climáticos, como temperatura e umidade. As temperaturas baixas retardam o desenvolvimento do inseto e a umidade relativa elevada favorece o seu desenvolvimento. Mesmo assim, pode-se dizer que apresenta aproximadamente cinco gerações anuais. A temperatura também pode influenciar na postura de ovos férteis e inférteis, ou seja, temperaturas abaixo de 20°C aumentam a porcentagem de ovos inférteis (Nakano, 1972).

Apresentam reprodução partenogenética, isto é, as fêmeas adultas colocam os ovos férteis sem copularem. Depois de até 60 minutos eclodem as formas jovens, denominadas ninfas, que são menores que as fêmeas adultas. Estas vão aumentando de tamanho conforme se alimentam, sugando a seiva da raiz do cafeeiro. Após um período de 40 dias da fase ninfal tornam-se adultas, aptas para a reprodução. Nesta fase vivem cerca de 60 dias. Desta forma, apresentam ciclo completo de aproximadamente 100 dias, ocorrendo gerações sobrepostas, ou seja, na mesma colônia são observadas ninfas e adultos (Souza et al., 2001).

Sugam continuamente a seiva e seu excesso, o “honeydew”, é eliminado pelo ânus em gotículas. Este líquido atrai formigas doces que vivem em simbiose com as cochonilhas, dando proteção e auxiliando na sua dispersão para outros cafeeiros. Essas formigas se alimentam do “honeydew”, no entanto, quando existe uma alta população de cochonilhas, o excesso deste líquido escorre pelas raízes, propiciando o desenvolvimento do fungo do gênero *Bornetina*, que envolve as raízes com micélio, formando um envoltório amarelado e depois pardo escuro. Este envoltório forma as chamadas criptas, pipocas ou nodosidades (Souza et al., 2001).

2.2 Importância das cochonilhas na cultura do cafeeiro

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, que também é conhecida como cochonilha farinhenta, tem sido encontrada com frequência em lavouras de café causando danos severos, podendo causar até mesmo a morte da planta com até cinco anos, já que aquelas mais velhas, mesmo apresentando grande infestação, toleram o ataque da praga (Santa-Cecilia et al., 2000).

Como sintoma da infestação desta cochonilha ocorre o aparecimento de nódulos, criptas ou pipocas nas raízes, onde sua colônia se instala. Desta forma, o sistema radicular da planta, tomado pelo fungo *Bornetina*, fica comprometido, não mais havendo absorção de água e de nutrientes (Santa-Cecilia et al., 2000).

Primeiramente a infestação é notada na raiz principal, com uma pequena colônia abaixo do colo da planta. Nesta fase os prejuízos causados não são irreversíveis para a planta, ainda sem sintomas e danos na parte aérea. Pode-se observar, na colônia, insetos de coloração rosada revestidos de uma camada de secreção cerosa branca. Posteriormente o inseto infesta as demais raízes, diminuindo a absorção da planta e causando o amarelecimento das folhas e sua

morte. A ocorrência da cochonilha se dá em reboleiras, ficando a cultura com aspecto irregular (Souza et al., 2001).

No início da infestação não aparecem sinais visíveis; estes se evidenciam em uma fase avançada, quando a planta apresenta um definhamento lento, inicialmente. As folhas vão perdendo a coloração normal, passando a amarelo-citrina, amarelo carregado, sobrevivendo depois a sua queda. Esse acontecimento tem início nos ramos inferiores e à medida que a população da praga evolui, o desfolhamento de baixo para cima se intensifica, até que finalmente a planta morre por inanição. As colônias ficam localizadas entre 15 e 20 cm de profundidade, com profundidade máxima observada de 50 cm (Nakano, 1972).

A infestação em cafeeiros adultos limita-se à região do colo da planta, mas esta pode ser facilmente dispersada para lavouras novas, próximas à mais antiga, tanto em plantio convencional como em plantio com “dobra” (nova linha plantada entre duas linhas antigas). No plantio com “dobra” a infestação é ainda mais fácil de ocorrer, devido à dispersão pelas formigas (Souza et al., 2001).

A infestação pode se dar através do plantio de material infestado, ou pelo deslocamento do inseto das raízes de gramíneas e de outras plantas hospedeiras que cresçam ao redor da cultura, como tiririca, amendoim, arroz, que são hospedeiros alternativos para o seu desenvolvimento, já que são focos de infestação e dispersão da praga (Santa-Cecilia & Chalfoun, 1998).

Santa-Cecilia & Ciociola (1991), através de estudos com a cochonilha do abacaxi, *Dysmicoccus brevipēs* (Hemiptera: Pseudococcidae), verificaram que a duração do ciclo biológico desta cochonilha, além de ser governada por fatores inerentes à planta, como seu teor de açúcar, também sofre grande influência dos fatores climáticos, sendo que no período chuvoso há um declínio da infestação deste inseto.

Temperaturas médias elevadas também limitam o seu desenvolvimento, sendo temperaturas entre 30,5 e 31,5°C e umidade relativa entre 61,5 e 64,5% as mais favoráveis ao desenvolvimento do inseto (Santa-Cecília et al., 1992). No entanto, Colen et al. (2000) encontraram maior longevidade em temperaturas de 20°C para as fêmeas, mas tendo maior potencial reprodutivo em temperatura de 30°C. A ocorrência destas condições na região do sul de Minas Gerais e as grandes áreas plantadas com café oferecem condições ideais para o desenvolvimento de *D. texensis*.

Em estudos desenvolvidos por Nakano (1972), o potencial de reprodução deste inseto foi de 8.221.500.000 de indivíduos a partir de uma fêmea. Assim, com poucos exemplares e em pouco tempo a cultura pode estar totalmente infestada, com perdas estimadas ao equivalente de 0,84 kg de café beneficiado por planta.

2.3 Métodos de controle de cochonilhas

2.3.1 Químico

O tratamento das mudas no plantio é uma prática importante para o controle de cochonilhas. As mudas devem ser imersas durante três a cinco minutos em emulsão de inseticida, e após este processo devem ser espalhadas para a secagem. Deve ser feita uma alternância no uso dos produtos químicos, evitando o uso do mesmo inseticida durante vários anos (Santa-Cecília & Silva, 1991). Outros métodos também usados para controle de cochonilhas são o óleo mineral ou os óleos emulsionáveis adicionados a inseticidas fosforados. No caso de cochonilhas com carapaça, o que as tornam mais resistentes, dificultando o seu controle, deve-se aumentar a concentração de inseticidas (Gallo et al., 2002).

O controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro é considerado difícil, já que esta se situa a cerca de 15 a 20 cm de profundidade. Estudos realizados por Nakano (1972) indicavam o uso de pastilhas de fosfina, temezide e brometo de metila.

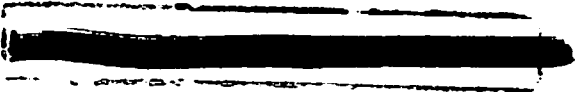
Atualmente, o método mais usado para o controle químico de *D. texensis* é a aplicação de inseticidas sistêmicos granulados no solo, ou os inseticidas carbofuran 350 SC (carbamato) e vamidotiom 300 CE (fosforado), porém todos eles controlam apenas parcialmente a cochonilha (Souza et al., 2001).

Com base neste problema, foram testados os inseticidas neonicotinóides imidaclopride 700 GrDA (Imidaclopride) e tiametoxam 250 WG (Tiametoxam), que apresentam ação sistêmica, com classe toxicológica IV e III, respectivamente, formulação grânulos dispersíveis em água, aplicados em jato dirigido para o colo da planta. Estes inseticidas apresentaram controle total da cochonilha, tanto ninfas como adultos. Desta forma, é recomendado, para o controle químico da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, o uso de inseticidas neonicotinóides, de ação sistêmica, ao invés de granulados de solo, carbamatos e fosforados, que são normalmente os mais usados (Souza et al., 2001).

2.3.2 Controle biológico

2.3.2.1 Predadores

O uso de predadores para o controle de *D. texensis* ainda é desconhecido. Existem estudos com uso de predadores para controle de outras cochonilhas, como o predador *Telsimia* sp. (Coleoptera: Coccinellidae) e *Menochilus sexmaculatus* (Coleoptera: Coccinellidae) para controle de *C. viridis*, também praga do cafeeiro (Reddy et al., 1990). Também *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) apresenta grande potencial como agente de



controle biológico para o controle de *D. brevipes*, cochonilha praga do abacaxi, devido ao elevado número de cochonilhas consumido por este predador (Gonçalves-Gervásio & Santa-Cecília, 2001).

2.3.2.2 Parasitóides

Entre os inimigos naturais das cochonilhas farinhasas, 90% são parasitóides, sendo que, destes, 75% pertencem à família Encyrtidae. Entre estes, um parasitóide muito conhecido é *Leptomastix dactylopii*, que é muito eficiente para o controle de *P. citri*. Os parasitóides *Coccidoxenoides peregrinus* e *Leptomastidea abnormis* apresentam uma gama maior de hospedeiros, parasitando *Planococcus*, *Planococcoides* e *Pseudococcus*. Também é encontrado um díptero, *Diadiplosis cocci*, que parasita *P. citri* em todos os seus instares (Martinez & Suris, 2000).

Para controle de *D. brevipes* são relatados os parasitóides *Hambletonia pseudococcina* e *Anagyrus ananatis* (Hymenoptera: Encyrtidae) (Santa-Cecília & Silva, 1991).

Reddy et al. (1990) citaram ainda os himenópteros *Apanteles* nr. *Sauros* e *Gonatocerus* sp. para controle de *P. lilacinus*; *Aprostocerus purpureus* para *P. citri* e *C. viridis* e *Anagyrus inopus* para *P. citri*.

De acordo com Gutierrez et al. (1993), os parasitóides *Epidinocarsis lopezi* e *Epidinocarsis diversicornis* são hospedeiros da cochonilha da mandioca *Phenacoccus manihoti*, porém também obtiveram sucesso quando usados para controle da cochonilha da manga *Rastrococcus invadens*.

Grandes quantidades de parasitóides são encontradas nas mais diversas espécies de cochonilhas; porém, como esta cochonilha se desenvolve na raiz, é possível inferir que dificilmente serão encontrados parasitóides para seu controle.

2.3.2.3 Entomopatógenos

Segundo Duso (1989), foi encontrado um fungo entomopatogênico da ordem *Entomophthorales* na cochonilha *P. citri*; no entanto, este não é capaz de controlar a ocorrência de altas populações do inseto, não evitando perdas.

O fungo *Hirsutella cryptosclerotium* sp. nov. foi encontrado na cochonilha *R. invadens*, praga de muitas frutíferas, no entanto o uso deste fungo para controle da cochonilha não é suficiente para manter baixa a população deste inseto, sendo mais indicado o uso de parasitóides (Fernandez-García & Evans, 1990).

De acordo com Arantes & Correia (1999), cinco espécies de fungos entomopatogênicos foram encontradas na cochonilha *Parlatoria ziziphus* (Hemiptera: Diaspididae), praga de plantas citrícolas, através de coletas mensais de folhas de dois pomares de laranja, sendo eles *Fusarium coccophilum*, *Nectria flammea* (fase sexual de *F. coccophilum*), *Tetracrium coccicolum*, *Podonectria coccicola* (fase sexual de *T. coccicolum*) e *Myriangiium duriaei*.

Também foi registrada a ocorrência do fungo *Neozygites fumosa* na cochonilha da mandioca *Phenacoccus herreni*, sendo observados altos níveis de infecção deste patógeno neste inseto (Delalibera Jr. et al., 1997).

O uso dos fungos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces farinosus* e *Paecilomyces lilacinus* deve ser estudado, já que alguns destes possuem ampla gama de hospedeiros, como *M. anisopliae* e *B. bassiana*. Além disto, *V. lecanii* é frequentemente encontrado sobre pulgões e cochonilhas nas regiões tropicais e subtropicais (Alves, 1998), existindo trabalhos de laboratório com *V. lecanii* que comprovam a sua eficiência para controle de cochonilhas (Martinez & Suris, 2000).

A busca por inimigos naturais da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro é necessária, já que os poucos que são conhecidos não têm mostrado capacidade

de regular as populações da praga. Desta forma, o nematóide *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae) tem se mostrado eficiente em estudos de laboratório para cochonilha (Martinez & Suris, 2000).

Tanto os nematóides da família Heterorhabditidae como os da família Steinernematidae podem ser criados “in vitro”, sendo considerados parasitas facultativos, o que estimula o estudo com espécies destas famílias, pois possibilita produção em larga escala (Ferraz, 1998).

Estes nematóides estão associados às bactérias do gênero *Xenorhabdus* para Steinernematidae e do gênero *Photorhabdus* para Heterorhabditidae. A virulência de cada espécie de nematóide está associada à espécie ou subespécie da bactéria simbiote e à capacidade de retenção destas pelos nematóides (Ferraz, 1998).

Existem diferenças no desenvolvimento do nematóide em função do inseto hospedeiro, devido às diferenças fisiológicas encontradas em cada ordem de inseto. Assim, um estudo realizado com alguns coleópteros, hemípteros, lepidópteros, himenópteros, ortópteros e dípteros mostrou que as duas primeiras ordens são as mais favoráveis como hospedeiros para certas espécies de nematóides (Doucet et al., 1999).

Vários são os casos do uso de nematóides para controle de insetos, como o do coleóptero *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae); em condições de laboratório, conseguiram-se 85% de mortalidade de larvas com o uso de *Steinernema carpocapsae*. Outro coleóptero, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), a broca do café, também tem altos índices de mortalidade, tanto de larva como de adulto, quando aplicado *Heterorhabditis* sp. (Grewal et al., 2001).

Em lagartas de *Agrotis ipsilon*, *Spodoptera frugiperda* e *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) também foram encontradas altas taxas de mortalidade através do uso de nematóides. *A. ipsilon* tem sido controlada em

gramados com o uso de *S. carpocapsae*. A lagarta *S. frugiperda* é altamente suscetível a nematóides entomopatogênicos e suas populações podem ser facilmente manejadas com o uso de nematóides. Outras pragas de grande importância são as mosca-das-frutas, pois seus adultos ovipositam dentro do fruto ou do vegetal, prejudicando o seu desenvolvimento. Assim, foram feitos estudos com suas larvas e observou-se a obtenção de até 87% de mortalidade com o uso de *S. carpocapsae* (Grewal et al., 2001).

Para o caso de cochonilhas tem-se o uso do nematóide *H. bacteriophora* causando, em *Planococcus* sp., 100% de mortalidade em condições de laboratório; em 48 horas os juvenis infectivos (JI) já haviam penetrado através da cutícula do inseto, ocasionando uma maior mobilidade e dispersão das cochonilhas, já que estas são praticamente imóveis. Com 72 horas foi observada a mortalidade dos insetos, que perderam a sua cobertura farinhosa e adquiriram coloração parda escura. Assim, mostrou-se a efetividade deste nematóide para controle de *Planococcus* sp. (Rodríguez et al., 1997).

Com a finalidade de comprovar a efetividade de *H. bacteriophora* sobre *Planococcus* sp., Rodríguez et al. (1998) realizaram ensaios em condições de campo. Os autores concluíram que este nematóide foi capaz de reduzir as populações de cochonilhas do cafeeiro, mas que outros estudos devem ser realizados, pois no campo os nematóides têm que romper numerosas barreiras ecológicas que limitam a sua infectividade e que não ocorrem em laboratório.

Stuart et al. (1997) realizaram um ensaio utilizando espécies de nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* sobre a cochonilha *Dysmicoccus vaccinii* e obtiveram, como resultados, que as espécies de *Heterorhabditis* foram mais efetivas, chegando a causar 100% de mortalidade quando usados 100 e 500 JI por cochonilha. Com isso, demonstrou-se que os nematóides entomopatogênicos têm grande potencial no controle biológico desses insetos.

2.4 Seleção de isolados

As diferenças de mortalidade observadas em vários bioensaios com fungos demonstram a importância da realização de uma fase de seleção de isolados, já que existe uma variabilidade considerável entre eles (Moino Junior et al., 1998). De acordo com Pacolla-Meirelles & Azevedo (1990), citado por Moino Junior et al. (1998), é preciso que sejam usadas linhagens apropriadas, que tenham qualidades satisfatórias e que possam ser encontradas naturalmente ou obtidas através de mutação com agentes químicos ou físicos para que um programa de controle biológico seja o mais eficiente possível. Os autores, em estudos sobre a extensão da variabilidade natural, verificaram que esta é muito ampla, podendo ser aproveitada sem a necessidade de indução de mutação.

A fase de seleção de isolados é uma etapa indispensável na escolha dos isolados mais eficientes, possibilitando o descarte de materiais menos patogênicos ou com menor capacidade de penetração (Moino Junior et al., 1998).

Com relação aos nematóides, a associação com a bactéria simbiote mata rapidamente o inseto hospedeiro, devido à alta adaptação da relação entre eles. A rápida mortalidade permite que eles possam explorar um espectro de hospedeiros bem maior do que qualquer outro agente de controle microbiano (Ferraz, 1998).

De acordo com Poinar (1975), testes feitos em laboratório com *S. carpocapsae* mostraram a sua capacidade de infectar mais de 250 espécies de insetos de 75 famílias e 11 ordens. Os nematóides atacam um grande número de hospedeiros quando em testes feitos em laboratório, onde o contato entre nematóide e inseto é assegurado, as condições ambientais são ótimas e não existem barreiras ecológicas e de comportamento. Como exemplo, têm-se lagartas de lepidópteros que são altamente suscetíveis quando infectadas em placas de Petri, mas no campo os nematóides tendem a ser inativados devido às

condições ambientais extremas, como temperatura, radiação, umidade, que são características às quais as folhas estão expostas.

Barreiras comportamentais também restringem a eficácia dos nematóides para selecionar hospedeiros ou grupos de hospedeiros. Alguns nematóides procuram por hospedeiros que ficam perto da superfície do solo (como *S. carpocapsae* e *Steinernema scapterisci*), são os chamados “cruiser”, os quais têm grande mobilidade, com grande espectro de hospedeiros. Outros são adaptados a procurar em profundidades maiores (como *H. bacteriophora* e *Steinernema glaseri*), chamados de “ambusher”, que fazem “tocaia”, ficam esperando enquanto o hospedeiro se movimenta na superfície do solo, num mecanismo conhecido como “nictating”. Essas diferenças mostram a necessidade de selecionar um nematóide que seja mais eficaz no controle da cochonilha da raiz, conciliando as características de comportamento de ambos (Grewal et al., 2001).

2.5 Compatibilidade de fungos e nematóides com produtos fitossanitários

Atualmente várias são as substâncias químicas usadas no controle de pragas e de doenças, principalmente inseticidas e fungicidas; no entanto, muitos desses produtos são tóxicos ao homem e aos animais, além de causar redução no potencial de controle de predadores, parasitoides e patógenos. Uma estratégia utilizada é o controle integrado, através do qual produtos fitossanitários seletivos são usados juntamente com fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico; porém, alguns destes produtos podem influenciar no crescimento vegetativo, viabilidade e conidiogênese de fungos entomopatogênicos, podendo até mesmo alterar sua composição genética, modificando a sua virulência (Alves et al., 1998). Já os nematóides, quando usados conjuntamente com produtos fitossanitários, podem ter a sua infectividade e sobrevivência reduzidas (Grewal et al., 2001).

2.5.1 Fungos

A grande parte dos testes realizados com produtos fitossanitários sobre entomopatógenos foi desenvolvida com fungos, principalmente *in vitro* (Cavalcanti, 2002). Os produtos químicos carbaril, endosulfan, endrin, fenitrothion e metidation foram testados por Cadatal & Gabriel (1970) sobre os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Entomophthora* sp. e causaram inibição do crescimento e esporulação destes patógenos. Já os produtos químicos clorfenvinfôs, diazinon, lindane e DDT causaram inibição parcial no crescimento e esporulação dos fungos.

Os efeitos de nove fungicidas e 14 inseticidas foram testados em *B. bassiana* e *V. lecanii* por Olmert & Kenneth (1974), em que a concentração recomendada de cada produto foi adicionada ao meio de cultura. A avaliação foi feita medindo-se o diâmetro da colônia de cada isolado e comparando-se com a testemunha correspondente; assim, apenas no tratamento com fluorsilicato de sódio o fungo *B. bassiana* apresentou inibição no seu crescimento.

Bajan et al. (1977) avaliaram patogenicidade e crescimento de *P. fumosoroseus* e *P. farinosus*, utilizando como inseto-teste larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). O produto químico clorfenvinfôs foi introduzido no meio de cultura, causando uma diminuição do crescimento dos fungos conforme a concentração do produto foi aumentada. No ensaio de patogenicidade, os fungos foram inoculados no solo dentro de vasos, sendo que os tratamentos que obtiveram maior controle de insetos foram os tratados com os fungos e inseticida.

O efeito do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre a viabilidade e esporulação do fungo *M. anisopliae* foi estudado por Aguda et al. (1986). Os resultados mostraram inibição completa da germinação e esporulação do patógeno conforme foi sendo aumentada a concentração do óleo de nim.

O uso de produtos conjuntamente pode também promover um efeito sinérgico, que foi verificado com *B. bassiana* e *M. anisopliae* quando associados com concentrações subletais de imidaclopride. Houve uma mortalidade larval de *Diaprepes abbreviatus* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) de 90 a 100% quando os fungos foram usados nas concentrações de 10^6 e 10^7 conídios/mL, junto com o inseticida na concentração de 100 ppm (Quintela & McCoy, 1997).

De acordo com Neves et al. (2001), os inseticidas neonicotinóides acetamipride, imidaclopride e tiametoxam foram compatíveis com os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces* sp., sendo avaliados a germinação dos conídios, o crescimento vegetativo e a esporulação dos entomopatógenos.

Loureiro et al. (2002) testaram o efeito de oito fungicidas e doze inseticidas usados na cultura do crisântemo e alface nos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* e *V. lecanii* e obtiveram que os inseticidas tiametoxam e imidaclopride foram compatíveis com todos os fungos. Já o óxido cuproso, iprodione, paratiom metílico, tebuconazole, metalaxil, mancozebe, folpete, fenpropatrina e tetraconazole inibiram o crescimento dos fungos.

2.5.2 Nematóides

Hara & Kaya (1983) avaliaram o efeito de produtos químicos sobre o comportamento e infectividade do nematóide entomopatogênico *Neoaplectana* (= *Steinernema*) *carpocapsae* Weiser (Rhabditida: Steinernematidae) às larvas de *S. exigua*. Houve uma diminuição na movimentação desses nematóides quando usados os produtos mevinfós, fenamifós, triclorfon, oxamil e metomil, além da diminuição da patogenicidade às larvas de *S. exigua*.

Estudos realizados por Rovesti et al. (1988) testaram a compatibilidade de 24 fungicidas, 25 herbicidas, 18 inseticidas, cinco acaricidas e dois nematicidas com o nematóide *H. bacteriophora*, sendo que três fungicidas, dois herbicidas, oito inseticidas, um acaricida e os dois nematicidas foram considerados incompatíveis com o nematóide.

A compatibilidade de 75 formulações comerciais de produtos fitossanitários foi testada para os nematóides *S. carpocapsae* e *Steinernema feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). Os juvenis infectivos das duas espécies de nematóides toleraram a maioria dos produtos testados; apenas dodine, entre os fungicidas, e alaclor e paraquate, entre os herbicidas, prejudicaram os nematóides. Estes resultados indicaram a possibilidade de uso integrado das espécies de nematóides e produtos fitossanitários no manejo integrado das culturas (Rovesti & Deseñ, 1990).

De acordo com Zimmerman & Cranshaw (1990), os fungicidas benomil, clorotalonil, pentacloronitrobenzeno e o herbicida dicamba foram compatíveis com os nematóides testados. Já o inseticida organofosforado diazinon não foi tóxico para *N. carpocapsae* e para *Neoaplectana bibionis* Bovien (Rhabditida: Steinernematidae) após 48 horas de exposição, porém prejudicou *Heterorhabditis* sp. neste mesmo tempo de exposição. O produto mais tóxico, que causou 100% de mortalidade para três espécies, foi o fungicida cloreto de mercúrio.

Koppennhöfer & Kaya (1998) avaliaram os efeitos sinérgicos de aplicações combinadas de imidaclopride e nematóides entomopatogênicos em larvas de terceiro ínstar de *Cyclocephala hirta* LeConte e *Cyclocephala pasadenae* (Coleoptera: Scarabaeidae) e a compatibilidade do inseticida com juvenis infectivos de *H. bacteriophora*. O inseticida foi considerado compatível com o nematóide, causando uma mortalidade entre 0,7 e 3%. A mortalidade larval foi elevada no uso combinado do inseticida e nematóide, sendo maior que


a encontrada na testemunha, mostrando um efeito sinérgico para esta combinação.

O nematóide *S. feltiae* foi misturado a inseticidas e aplicado em condições de laboratório em larvas de *G. mellonella* e em campo sobre larvas de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agromyzidae), com a finalidade de avaliar a patogenicidade deste nematóide quando associado a inseticidas. Tanto nos ensaios de campo como nos de laboratório, verificou-se uma redução na patogenicidade do nematóide quando associado aos produtos fitossanitários, ocorrendo um alto índice de sobrevivência das larvas (Head et al., 2000).

Para obtenção de uma padronização na avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com o nematóide entomopatogênico do gênero *Steinernema*, foi desenvolvido por Vainio (1992) um protocolo que propõe a realização de testes que avaliem a viabilidade dos nematóides após contato com produtos fitossanitários por 2, 5 e 7 dias e a sua infectividade, após estes mesmos períodos, sobre larvas de *G. mellonella*.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 11, p. 289-380.
- ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 8, p. 217-238.
- AGUDA, R. M.; ROMBACH, M. C.; SHEPARD, B. M. Effect of "neem" oil on germination and sporulation of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*. **International Rice Research Newsletter**, Manila, v. 11, n. 1, p. 34-35, 1986.
- ARANTES, A. M. V. T.; CORREIA, A. do C. B. Diversidade de fungos associados a *Parlatoria ziziphus* (Lucas) (Hemiptera: Diaspididae) em Citros. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 477-483, set. 1999.
- BAJAN, C.; KMITOWA, K.; WOJCIECHOWSKA, M. The effect of enolofos 50 and its active substance clorfenvinfos on growth and pathogenicity of entomopathogenic fungi. **Polish Ecological Studies**, Lomianki, v. 3, n. 2, p. 65-77, 1977.
- CADATAL, T. D.; GABRIEL, B. P. Effect of chemical pesticides on the development of fungi pathogenic to some rice insects. **The Philippine Entomologist**, Laguna, v. 1, n. 5, p. 379-395, 1970.
- CAVALCANTI, R. S. **Compatibilidade e seleção para resistência do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a produtos fitossanitários**. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- COLEN, K. G. F.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; MORAES, J. C.; REIS, P. R. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a biologia da cochonilha pulverulenta *Dysmicoccus brevipes* (Cockrell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, a. 2, p. 248-252, ago. 2000.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Indicadores da agropecuária**. Brasília, 2002. v. 11.



DELALIBERA JÚNIOR, I.; HUMBER, R. A.; BENTO, J. M. S.; MATOS, A. P. de. First record of the entomopathogenic fungus *Neozygites fumosa* on the cassava mealybug *Phenacoccus herreni*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 69, n. 3, p. 276-278, May 1997.

• DOUCET, M. M. A. de; BERTOLOTTI, M. A.; GIAYETTO, A. L.; MIRANDA, M. B. Host Range, specificity, virulence of *Steinernema feltiae*, *Steinernema rarum*, and *Heterorhabditis bacteriophora* (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Argentina. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 73, n. 3, p. 237-242, 1999.

• DUSO, C. Biological study on *Planococcus ficus* (Sign.) in Veneto. **Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo-Silvestri**, Bologna, v. 46, n. 1, p. 3-20, 1989.

FERNANDEZ-GARCÍA, E.; EVANS, H. C. *Hirsutella cryptosclerotium* sp. nov. , an entomopathogen of the mealybug pest, *Rastrococcus invadens*, in West Africa. **Mycology Research**, New York, v. 94, n. 8, p. 1111-1117, Dec. 1990.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 16, p. 541-569.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**, São Paulo: FEALQ, 2002. 920 p.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. de C. R.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C. Consumo alimentar de *Chrysoperla externa* sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *Dysmicoccus brevipes*, em laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 387-391, fev. 2001.

• GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B. de; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: Potencial for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr./June 2001.

GUTIERREZ, A. P.; NEUENSCHWANDER, P.; VAN ALPEN, J. J. M. Factors affecting biological control of cassava mealybug by exotic parasitoids: a ratio-dependent supply-demand driven model. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 706-721, 1993.

- HARA, A. H.; KAYA, H. K. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 12, n. 2, p. 496-501, Apr. 1983.
- HEAD, J.; WALTERS, K. F. A.; LANGTON, S. Compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and chemical insecticides for the control of the south american leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 45, n. 3, p. 345-353, Sept. 2000.
- HEMPEL, A. Descrição de sete novas espécies de coccídeos. **Revista do Museu Paulista**, São Paulo, v. 10, p. 193-208, 1918.
- KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to white grub (Coleoptera: Scarabaeidae). **Journal of Economic Entomology**, Washington, v. 91, n. 3, p. 618-623, June 1998.
- LOUREIRO, E. de S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. de. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 263-269, Apr./June 2002.
- MARTÍNEZ, M. de los A.; SURIS, M. Bases bioecológicas para el manejo de chinches harinosas en el cultivo del café en Cuba. **Manejo Integrado de Plagas**, Costa Rica, n. 57, p. 58-64, 2000.
 - MILLER, D. R.; POLAVARAPU, S. A new species of mealbug in the genus *Dysmicoccus* (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) of importance in highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, Ericaceae) in the Eastern United States. **Proceedings of Entomology Society**, Washington, v. 99, n. 3, p. 440-460, July 1997.
- MOINO JR, A.; ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 122, n. 6, p. 301-305, Sept. 1998.
- NAKANO, O. Estudo da cochonilha da raiz do cafeeiro, *Dysmicoccus cryptus* (Hempel, 1918) comb. n. (Homoptera: Pseudococcidae). Tese de livre docente. Piracicaba: ESALQ/USP, 1972. 130 p.

- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. *Neotropical Entomology*, Itabuna, v. 30, n. 2, p. 263-268, Jun. 2001.
- OLMERT, I.; KENNETH, R. G. Sensitivity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. *Environmental Entomology*, Lanham, v. 3, n. 1, p. 33-38, Feb. 1974.
- POINAR, G. O. JR. A manual and host list of insects nematode associations. New York: Ed. Brill, 1975. 317 p.
- QUINTELA, E. D.; MCCOY, C. W. Pathogenicity enhancement of *e* *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to first instars of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) with sublethal doses of imidacloprid. *Environmental Entomology*, Lanham, v. 26, n. 5, p. 1173-1182, Oct. 1997.
- REDDY, K. B.; SREEDHARAN, K.; PRAKASAN, C. B. New records of natural enemies of *Planococcus* spp. , *Coccus viridis* (Green) and *Ferrisia virgata* (Cockerell) on coffee in India. *Journal of Coffee Research*, Balehonnur, v. 20, n. 2, p. 153-156, 1990.
 - RODRÍGUEZ, M. de los A. M.; SÁNCHEZ, L.; RODRÍGUEZ, M. G. Comprobacion en campo de la efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* cepa HC1 en el control de chinches harinosas (Homoptera: Pseudococcidae) del cafeto. *Revista de Protección Vegetal*, Chapinco, v. 13, n. 3, p. 195-198, 1998.
 - RODRÍGUEZ, M. G.; SÁNCHEZ, L.; MARTÍNEZ, M. de los A. Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heterorhabditidae) sobre chinches harinosas del cafeto (Homoptera: Pseudococcidae). *Revista de Protección Vegetal*, Chapinco, v. 12, n. 2, p. 119-122, 1997.
- ROVESTI, L.; DESEÖ, K. V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *Steinernema feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*, Leiden, v. 36, n. 2, p. 237-245, Apr. 1990.
- ROVESTI, L.; HEINZPETER, E. W.; TAGLIENTE, F. DESEÖ, K. V. Compatibility of pesticides with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). *Nematologica*, Leiden, v. 34, n. 4, p. 463-476, Oct. 1988.

- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; CHALFOUN, S. M. Pragas e doenças que afetam o abacaxizeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 195, p. 48-57, 1998.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; CIOCIOLA, A. I. Flutuação populacional da cochonilha-do-abacaxi, *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Homoptera, Pseudococcidae), em duas épocas de plantio ao ano no estado de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, Lavras, MG, v. 15, n. 3, p. 236-244, jul./set. 1991.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; MATIOLI, J. C.; CIOCIOLA, A. I. Efeitos de fatores climáticos sobre a cochonilha-do-abacaxi *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Homoptera, Pseudococcidae) nas principais regiões produtoras do estado de Minas Gerais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 135-145, 1992. Separata.
- OK * SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; REIS, P. R.; SOUZA, J. C. Sobre a nomenclatura das espécies de cochonilhas-farinentas do cafeeiro nos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 333-334, Apr./June 2002.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SILVA, J. R. da. **A cochonilha-do-abacaxi em Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1991. 16 p. (Boletim Técnico, n. 35).
- * SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, J. C. de; REIS, P. R. Novas constatações da cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus cryptus* em lavouras de café no Sul de Minas Gerais. Lavras, MG: EPAMIG, 2000. (Circular Técnica, n. 130).
- X SOUZA, J. C. de; REIS, P. R.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; DAUM, S. C.; SOUZA, M. A. . **Cochonilha-da-raiz do cafeeiro: aspectos biológicos, dano e controle**. Lavras, MG: EPAMIG, 2001. 5 p. (Circular Técnica, n. 136).
- OK * STUART, R. J.; POLAVARAPU, S.; LEWIS, E. E.; RANDY, G. Differential susceptibility os *Dysmicoccus vaccinii* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditidae: Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 90, n. 4, p. 925-932, Aug. 1997.
- VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 15, p. 145-147, 1992.

WILLIANS, D. J. The mealbugs (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae) of sugar cane, rice and sorghum. **Bulletin Entomology Research**, London, v. 60, n. 1, p. 109-188, Aug. 1970.

WILLIANS, D. J.; GRANARA de WILLINK, M. C. Mealbug of Central and South America. Wallingford: CABI, 1992. 629 p.

ZIMMERMAN, R. J.; CRANSHAW, W. S. Compatibility of three entomogenous nematodes (Rhabditida) in aqueous solutions of pesticides used in turfgrass maintenance. **Journal of Economic Entomology**, Washington, v. 83, n. 1, p. 97-100, Feb. 1990.

CAPÍTULO 2

CARVALHO, Vanessa Andaló Mendes de. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). 2003. p. 27-55. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

1 RESUMO

As diferenças existentes entre fungos e nematóides infectando insetos, tanto na sua forma de ação como na sua adaptação ao ambiente, demonstram a importância da realização de uma fase de seleção, já que existe uma grande variabilidade entre eles. Assim, o objetivo desse trabalho foi selecionar um fungo e um nematóide, de um total de 81 isolados fúngicos e quatro espécies de nematóides, que sejam considerados mais virulentos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis*. Os fungos foram pulverizados sobre o inseto na concentração de 1×10^8 conídios/mL, em placas de Petri de 9 cm contendo 20 g de areia esterilizada e um broto de batata, onde foram colocadas as cochonilhas. As placas foram colocadas em caixas plásticas fechadas, com esponja umedecida no fundo, e mantidas em condições controladas de temperatura e umidade. A avaliação da mortalidade foi feita aos sete dias após a inoculação. Deste bioensaio foram selecionados 10 fungos que causaram maior mortalidade e feito um novo bioensaio para determinar o TL_{50} . Foram avaliadas quatro espécies de nematóides, utilizando-se as concentrações de 25, 50 e 100 nematóides/cochonilha para selecionar uma delas. As avaliações foram feitas diariamente até os oito dias após a inoculação. O isolado UEL 114 de *Beauveria bassiana* e o nematóide *Steinernema carpocapsae* foram selecionados por terem causado maior mortalidade em menor tempo em fêmeas adultas de *D. texensis*.

* Orientador: Alcides Moino Junior - UFLA

CHAPTER 2

CARVALHO, Vanessa Andaló Mendes de. **Selection of entomopathogenic fungi and nematodes to the coffee root mealybug, *Dysmicoccus texensis***. 2003. p. 27-55. Dissertation (Master in Entomology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

2 ABSTRACT

There are some differences between fungi and nematodes infecting insects, such as in their mode of action, such as in their adaptation to the environment, that demonstrate the importance of a selection phase, since a great variability exists among them. The objective of this work was to select a fungus strain and a nematode species (total of strains tested: 81 fungi and four nematodes) with high virulence to the coffee root mealybug, *Dysmicoccus texensis*. The fungi were applied on *D. texensis* at the concentration of 1×10^8 conidia/mL, in 9 cm diameter Petri dishes containing 20 g of sterilized sand and a potato sprout, in which the insects were placed. The dishes were maintained in closed plastic boxes with wet sponge in the bottom and kept in controlled conditions of temperature and humidity. The mortality evaluation was made at seven days after inoculation. Ten fungi strains were selected by causing higher mortality levels and submitted to a new bioassay to determine TL_{50} . Four nematode species were evaluated at the concentrations of 25, 50 and 100 infective juveniles/mealybug. The mortality evaluation was made daily until eight days after inoculation. The fungus *Beauveria bassiana* (strain UEL 114) and the nematode *Steinernema carpocapsae* were selected by causing high mortality in short time periods in adult females of *D. texensis*.

* Adviser: Alcides Moino Junior – UFLA

3 INTRODUÇÃO

A cultura do cafeeiro, por ser perene, é suscetível à ocorrência de um grande número de artrópodes, principalmente devido à sua longa permanência no campo, causando efeitos diretos sobre o seu desenvolvimento, a produção e a qualidade do fruto. Os estudos para uso do controle microbiano de insetos para esta cultura têm se fortalecido atualmente, principalmente devido à maior procura pelo café orgânico, que é livre do uso de produtos fitossanitários (Martinez & Suris, 2000).

Os fungos apresentam grande variabilidade genética, o que é uma vantagem, pois possibilita selecionar isolados de fungos com alta virulência, podendo ser específicos ou não e apresentar boas características para utilização como inseticida microbiano, objetivando o controle de várias pragas. Desta forma, pode-se selecionar adequadamente os melhores fungos para um programa de controle (Alves, 1998). Assim, é possível adequar o uso de um fungo às condições existentes, tomando-o viável em um programa de controle microbiano.

Os nematóides possuem boa capacidade de adaptação a novos ambientes e algumas espécies têm a capacidade de se difundir no ambiente, podendo buscar um hospedeiro quando preciso, possibilitando o uso em programas de manejo integrado. Os índices de mortalidade de pragas podem ser maiores que aqueles causados por outros patógenos, dependendo do caso (Ferraz, 1998).

De acordo com Pacolla-Meirelles & Azevedo (1990), citado por Moino Junior et al. (1998), as linhagens usadas devem ser as mais apropriadas, que tenham qualidades satisfatórias, para que um programa de controle biológico seja o mais eficiente possível. Devido à considerável variabilidade existente, as diferenças de mortalidade observadas em bioensaios com fungos mostram a

importância da realização da fase de seleção de isolados, sendo esta fase indispensável para a escolha dos isolados mais eficientes (Moino Junior, 1998).

A alta adaptação entre o complexo nematóide e bactéria mata rapidamente o inseto, permitindo que estes tenham um espectro de hospedeiros superior aos dos demais organismos entomopatogênicos (Ferraz, 1998).

Os nematóides são patogênicos a um grande número de hospedeiros, principalmente devido à sua forma de ação, penetrando no inseto por aberturas naturais e pelo tegumento, principalmente regiões pouco esclerotizadas, como também pelo seu comportamento, sendo que alguns nematóides têm o hábito de se movimentar e buscar o hospedeiro, enquanto outros ficam esperando que o hospedeiro passe.

O objetivo deste trabalho foi selecionar um isolado fúngico e uma espécie de nematóide com alta virulência à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Criação de *Dysmicoccus texensis*

A criação e manutenção de *D. texensis* foi realizada em condições de laboratório, na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Centro Tecnológico do Sul de Minas, localizado no Campus da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG.

As cochonilhas foram mantidas em condições controladas de temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, com umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, em sala climatizada. Foram utilizadas batatas com brotações, colocando-se pelo menos duas fêmeas adultas por brotação, e estas colocadas em recipientes plásticos. Verificações semanais foram realizadas a fim de transferir as cochonilhas para batatas novas, evitando contaminações fúngicas, e também para infestar novo material, incrementando a criação. Para transferência dos insetos de uma batata para outra, foi usado um pincel fino e um estilete. No caso de batatas com grande número de cochonilhas, tornou-se inviável a transferência destas uma a uma; assim, uma batata nova foi colocada juntamente com a já infestada, mantendo-as juntas até que alguns destes insetos fossem para a nova batata. Ocorrendo isto, a batata foi retirada e colocada em um novo recipiente.

Para melhor manutenção e manipulação, as batatas infestadas com as cochonilhas foram colocadas em recipientes plásticos, cobertos com filme plástico de PVC, e este preso por um elástico. O plástico foi perfurado várias vezes com estilete de ponta fina para facilitar a aeração no interior do recipiente.

4.2 Obtenção dos nematóides e isolados de fungos

Os fungos e nematóides foram obtidos no Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da UFLA, provenientes de diversos locais e hospedeiros (Tabela 1), estando os fungos armazenados em tubos plásticos do tipo Eppendorf e os nematóides, em frascos Erlenmeyer em suspensão aquosa.

TABELA 1. Procedência, hospedeiros e identificação dos 81 isolados de fungos e quatro espécies de nematóides usados nos bioensaios de seleção.

Isolado	Procedência	Hospedeiro	Identificação
JAB 2	Ubirajara, SP	<i>Coccus viridis</i>	<i>Verticillium lecanii</i>
IPA 202	IPA	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
IPA 219	IPA	<i>Mahanarva fimbriolata</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
Ufla 1	Lavras, MG	-	<i>Beauveria bassiana</i>
Ufla 2	Lavras, MG	-	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
Ufla 3	Lavras, MG	<i>Spodoptera frugiperda</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
Ufla 4	Lavras, MG	<i>Dorcacerus barbatus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
Ufla 6	Lavras, MG	Solo de bananeira	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
Ufla 7	Ijaci, MG	Solo	<i>Beauveria bassiana</i>
Ufla 8	Lavras, MG	Solo	<i>Beauveria bassiana</i>
Ufla 9	Lavras, MG	Solo	<i>Beauveria bassiana</i>
Ufla 10	Lavras, MG	Solo	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
Ufla 11	Lavras, MG	<i>Chiomyza</i> sp.	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CG 17	Piracicaba, SP	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CG 68	Brasília, DF	<i>Forficula auricularia</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CG 71	Pernambuco	<i>Diatraea saccharalis</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CG 76	Cuiabá, MT	<i>Solenopsis invicta</i>	<i>Beauveria bassiana</i>

...continua...

TABELA 1, Cont.

CG 166	Curitiba, PR	<i>Schirius</i> sp	<i>Beauveria bassiana</i>
CG 251	Colinas do Sul, GO	Formicidae	<i>Beauveria bassiana</i>
CG 425	Campo N. dos Parceis, MT	<i>Rhammatocerus schistocercoides</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 01	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 02	Abatia, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 22	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 25	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 55	Paraná	Hemiptera	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 63	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 65	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 67	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 70	Paraná	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 82	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 97	-	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 108	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 110	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 112	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 114	Londrina, PR	-	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 118	Bandeirantes, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
UEL 122	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 04	Cascavel, PR	Solo	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 10	Araçatuba, SP	<i>Deois</i> sp.	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 17	Cosmópolis, SP	<i>Anthonomus grandis</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 28	Miracatu, SP	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 35	Cruz das Almas, BA	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 39	Cosmópolis, SP	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 64	Rondônia, RO	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 66	S. J. do Rio Preto	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 74	Japão	<i>Lyzothopteus eryzosperulu</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 82	Embrapa – CNPMPF	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 84	Cascavel, PR	Solo	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 87	Goiânia, GO	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 95	Cascavel, PR	Solo	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 118	São Paulo, SP	Solo	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CB 121	Tabapuã, SP	Solo	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 127	Florinea, SP	Solo	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>

...continua...

TABELA 1, Cont.

CB 141	Cascavel, PR	Solo	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CB 160	Cascavel, PR	Solo	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 221	Pindorama, SP	Solo	<i>Paecilomyces farinosus</i>
CB 236	Poloni, SP	Solo	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
CB 251	Caconde, SP	Solo	<i>Paecilomyces farinosus</i>
CB 323	Cascavel, PR	Solo de soja	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 390	Catanduva, SP	<i>Mahanarva fimbriolata</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 391	Tabapuá, SP	<i>Mahanarva fimbriolata</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 398	Campinas, SP	Lagarta	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 411	Iporanga, SP	Lagarta	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 414	Iporanga, SP	Lagarta	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 416	Iporanga, SP	Lagarta	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 421	Iporanga, SP	Lagarta	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
CB 438	Iporanga, SP	Lagarta	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 439	Iporanga, SP	Lagarta	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 451	Itatiba, SP	Solo de sorgo	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 452	Itatiba, SP	Solo de sorgo	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 453	Itatiba, SP	Solo de sorgo	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 457	Itapetininga, SP	Solo de café	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 464	Tapiratiba, SP	Solo de café	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 466	Franca, SP	Solo de café	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 478	Mogi das Cruzes, SP	Solo de algodão	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 480	Campinas, SP	Solo de viveiro	<i>Metarhizium anisopliae</i>
CB 498	São Paulo, SP	<i>Rincophorus palmarum</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
CB 500	Monte Alegre, SP	Solo de café	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 503	Monte Alegre, SP	Solo de café	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 525	Jaguariúna, SP	Solo de cana-de-açúcar	<i>Paecilomyces</i> sp.
CB 530	Jaguariúna, SP	Solo de cana-de-açúcar	<i>Paecilomyces</i> sp.
-	UFSCAR, Araras	Solo de cana-de-açúcar	<i>Heterorhabditis</i> sp.
-	Flórida	-	<i>Steinernema anomali</i>
-	Flórida	-	<i>Steinernema carpocapsae</i>
-	S ^{ta} Rosa de Viterbo, SP	Solo de cana-de-açúcar	<i>Steinernema glaseri</i>

Os fungos foram mantidos em freezer, com temperatura de -10°C e, quando necessário, foram repicados em placas de Petri em meio de cultura artificial para produção de esporos de *Beauveria* spp. e *Nomuraea rileyi* (ME) (Alves et al., 1998), a fim de se obter maior produção de conídios. Estas placas foram mantidas em câmara climática do tipo B.O.D., com temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ por cerca de 7 dias, até completa esporulação, quando os conídios foram transferidos para o freezer e armazenados em tubos plásticos do tipo Eppendorf.

O cultivo de nematóides também foi realizado no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA, assim como para os fungos.

Os nematóides foram mantidos em frascos Erlenmeyer na geladeira com temperatura de 8 a 10°C , em suspensão aquosa com 500 JI/mL (juvenis infectivos/mL).

Para a multiplicação foram usadas lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), criadas no Laboratório de Patologia de Insetos de acordo com metodologia adaptada descrita por Parra (1998), sendo que foi colocado um macho para três fêmeas do inseto adulto em potes de plástico contendo papéis sanfonados para oviposição e dieta artificial contendo mel e água (1:1). Estes potes foram fechados com filó e a cada dois dias foram retirados os ovos e transferidos para recipientes plásticos também fechados com filó, contendo cera alveolada (favo seco) e dieta artificial para criação de larvas de *G. mellonella* (Tabela 2).

TABELA 2. Composição da dieta artificial para criação de larvas de *Galleria mellonella*.

Componente	Quantidade
Farinha de milho (fubá)	172,6 g
Farinha de soja	80,2 g
Leite em pó	48,2 g
Levedo de cerveja	94,0 g
Favo de mel	47,0 g
Mel	236 mL
Glicerina	208 mL
Água	94 mL

(modificado de Parra et al., 1998).

Foram selecionadas cinco destas lagartas, de tamanho aproximado, e posteriormente foram colocadas em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro com uma folha de papel filtro no fundo, sendo neste inoculado 1 mL da suspensão com os nematóides, com concentração de 20 JI por lagarta. As placas foram mantidas em B.O.D. por 5 a 7 dias, até a morte das lagartas. As lagartas mortas foram retiradas e colocadas em placas de Petri de 9 cm com papel filtro seco por 2 dias. Com esse tempo pode-se notar a sintomatologia característica da morte causada por nematóides, um ligeiro encurvamento e a coloração mais acentuada.

Após esta fase foi montada a armadilha de White, que consiste em uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro, colocando-se no seu interior a tampa ou o fundo de uma placa de 9 cm virada para baixo. Sobre esta foi posta uma folha de papel filtro cortada conforme o diâmetro da placa maior, onde foram colocadas cinco lagartas mortas por nematóides e cerca de 3 mL de água no fundo da placa. As armadilhas foram colocadas em B.O.D. por um período de 3 a 7 dias.

Os primeiros nematóides a saírem na água, em geral nos primeiros dois dias, foram descartados, pois são adultos. Após este prazo a água foi recolhida e a suspensão passou por um processo de filtragem e decantação, a fim de retirar nematóides adultos e corpos gordurosos do inseto. Para a filtragem foi usado um funil, uma proveta, uma peneira de 350 mesh para *Steinernema glaseri* e uma de 150 mesh para os demais nematóides, já que *S. glaseri* é maior e fica preso na peneira mais fina. Na proveta foram adicionados 750 mL de água destilada mais espalhante adesivo Tween 80 a 0,1% e a suspensão de nematóides foi filtrada, deixando decantar por 1 dia. No caso do material estar muito sujo, era necessário realizar duas a três vezes esse processo. Depois de realizado esse processo de purificação dos nematóides, foi retirada uma alíquota de 1 mL para realizar a quantificação dos nematóides em placa de Petri de 5 cm, dividida em quadrados para facilitar a contagem. As diluições para armazenamento foram feitas deixando cerca de 5.000 nematóides por 10 mL, os quais foram armazenados em geladeira para, posteriormente, serem utilizados nos bioensaios.

4.3 Bioensaios para seleção de fungos e nematóides

4.3.1 Fungos

Vários isolados dos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces farinosus*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium lecanii* foram testados com a finalidade de selecionar aqueles que causassem maior taxa de mortalidade em uma mesma concentração na cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro.

Os fungos foram inoculados através de pulverização com aspersor manual sobre a cochonilha *D. texensis*, na concentração de 1×10^8 conídios/mL em placas de Petri de 5 cm contendo 20g de areia esterilizada e um broto de batata, onde foi colocada uma fêmea adulta. As placas foram colocadas em

caixas plásticas fechadas, com esponja umedecida no fundo para manter uma alta umidade relativa, e mantidas em condições controladas em B.O.D., com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

Os vários isolados foram separados em grupos, pois os ensaios foram feitos em tempos diferentes. Todos os ensaios seguiram o mesmo padrão do primeiro, até que todos os isolados fossem testados.

As avaliações foram feitas dez dias após a inoculação, verificando-se a quantidade de insetos mortos. Após a avaliação, estes foram colocados em câmara úmida para confirmar que a morte foi causada pelo fungo inoculado. Com os resultados obtidos foram escolhidos os isolados que causaram maior mortalidade, para que estes fossem utilizados nos ensaios posteriores.

Com os 10 isolados selecionados foi feito um bioensaio para determinar o TL_{50} . As formas de montagem do experimento e pulverização do fungo foram as mesmas utilizadas no bioensaio anterior; no entanto, foram utilizadas cinco placas com 10 cochonilhas para cada tratamento. O fungos foram pulverizados na concentração de 1×10^8 conídios/mL e na testemunha, aplicando água + Tween 80 (0,1%).

As avaliações foram feitas diariamente até dez dias, verificando-se a mortalidade causada por cada fungo nos diferentes dias, podendo assim determinar o TL_{50} para os isolados selecionados.

Os dados obtidos foram transformados por $\arcsen \sqrt{(x/100)}$ e submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação entre médias. Os dados da mortalidade acumulada aos 10 dias foram submetidos à análise de Probit para determinação dos tempos letais médios (TL_{50}).

4.3.2 Nematóides

Os nematóides utilizados foram *Heterorhabditis* sp., *Steinernema anomali*, *Steinernema carpocapsae* e *S. glaseri*.

A montagem do experimento seguiu o mesmo procedimento realizado para a seleção de isolados de fungos, no entanto, os nematóides foram inoculados na areia estéril e não diretamente sobre a cochonilha. Após a inoculação, os brotos de batata foram cobertos pela areia juntamente com as cochonilhas. Esta inoculação foi feita aplicando, com uma pipeta, 2 mL de suspensão de nematóides por placa, o que representa 10% do peso da areia. As concentrações usadas foram de 25, 50 e 100 nematóides/cochonilha. As placas foram colocadas em recipientes plásticos e estes foram mantidos em B.O.D., em condições controladas de temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. As avaliações de mortalidade foram feitas diariamente até sete dias após a inoculação dos nematóides. A confirmação da morte por nematóides foi feita após os oito dias, com a dissecação de todas as larvas em placas de Petri de 5 cm com água.

Os dados obtidos foram transformados por $\arcsen \sqrt{(x/100)}$ e submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação entre médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Seleção de fungos entomopatogênicos

Foram selecionados os 10 fungos que causaram maior mortalidade, entre 56 e 64%, sendo nove isolados de *B. bassiana* e um de *M. anisopliae* (Tabela 3).

TABELA 3. Porcentagem de mortalidade total confirmada de *Dysmicoccus texensis* 10 dias após a inoculação de fungos entomopatogênicos.

Isolado n°	Fungo ¹	Mortalidade (%)
Ufla 10	Pfu	24,0
Ufla 6	Pfu	28,0
Ufla 11	Pfu	28,0
JAB 2	VI	28,0
CB 141	Pfu	30,0
Ufla 3	Pfu	30,0
CB 127	Pfu	30,0
CB 236	PI	36,0
CB 464	Psp.	36,0
Ufla 2	Pfu	38,0
CB 118	Pfu	38,0
CB 251	Pfa	38,0
CB 452	Psp.	38,0
Ufla 4	Bb	40,0
CB 439	Ma	40,0
CB 160	Ma	40,0
CB 457	Psp	40,0
CB 503	Psp	40,0
Ufla 7	Bb	42,0
CB 414	Ma	42,0
CB 35	Ma	42,0
CB 390	Ma	42,0

...continua...

TABELA 3, Cont.

UEL 02	Bb	42,0
CB 221	Pfa	42,0
CB 453	Psp	42,0
Ufla 1	Bb	44,0
CB 421	Pfu	44,0
UEL 70	Bb	44,0
CB 04	Bb	44,0
CB 451	Psp	44,0
CB 500	Psp	44,0
Ufla 8	Bb	46,0
IPA 202	Bb	46,0
CB 478	Ma	46,0
CB 10	Ma	46,0
CB 391	Ma	46,0
CB 416	Ma	46,0
UEL 01	Bb	46,0
UEL 110	Bb	46,0
UEL 25	Bb	46,0
CG 251	Bb	46,0
CB 74	Bb	46,0
CB 466	Psp	46,0
IPA 219	Ma	48,0
CB 82	Bb	48,0
UEL 55	Bb	48,0
CG 76	Bb	48,0
CG 425	Bb	48,0
CG 68	Bb	48,0
CB 66	Bb	50,0
CB 398	Ma	50,0
CB 411	Ma	50,0
CB 438	Ma	50,0
UEL 63.	Bb	50,0
UEL 65	Bb	50,0
CG 71	Bb	50,0
CB 64	Bb	50,0
CB 87	Bb	50,0
CB 530	Psp	50,0
CB 121	Ma	52,0
CB 323	Ma	52,0

...continua...

TABELA 3, Cont.

UEL 97	Bb	52,0
UEL 122	Bb	52,0
UEL 112	Bb	52,0
CG 17	Bb	52,0
CB 525	Bb	52,0
CB 84	Bb	52,0
UEL 118	Bb	54,0
CG 166	Bb	54,0
CB 95	Bb	54,0
CB 39	Bb	54,0
CB 480	Ma	56,0
UEL 67	Bb	56,0
CB 17	Bb	56,0
UEL 82	Bb	58,0
UEL 114	Bb	58,0
CB 28	Bb	58,0
UEL 22	Bb	60,0
CB 498	Bb	60,0
Ufla 9	Bb	60,0
UEL 108	Bb	64,0

¹Bb = *Beauveria bassiana*; Ma = *Metarhizium anisopliae*; Pfa = *Paecilomyces farinosus*; Pfu = *Paecilomyces fumosoroseus*; Pl = *Paecilomyces lilacinus*; *Paecilomyces* sp.; Vl = *Verticillium lecanii*.

Foram verificadas grandes diferenças entre as porcentagens de mortalidade encontradas, tanto para fungos diferentes como para o mesmo fungo, como *M. anisopliae*, isolado CB 439 causando 40% de mortalidade e CB 480 causando 56% de mortalidade em *D. texensis*. O fungo *B. bassiana* teve um grande intervalo entre a maior e a menor porcentagem de mortalidade, com o isolado UFLA 4 causando 40% de mortalidade e o isolado UEL 108 causando 64% de mortalidade. As diferenças entre espécies de fungos ficam ainda maiores, como é o caso do fungo *P. fumosoroseus*, com menor índice de

mortalidade de 24% e o maior de 44%, enquanto *B. bassiana* tem seu menor índice em 40%.

A maior parte dos isolados que causaram alta mortalidade em *D. texensis* foi de *B. bassiana*, mostrando de forma geral que este fungo possui maior virulência para a cochonilha que as demais espécies testadas. Isto pode ser explicado pela rápida ação de *B. bassiana*, que, segundo Alves (1998), penetra no tegumento do inseto com cerca de 12 horas e após 72 horas este já está totalmente colonizado. Desta forma, para este fungo, o inseto tem um tempo menor para conseguir ativar o seu sistema de defesa do que para os demais.

O isolado testado de *V. lecanii* apresentou uma mortalidade baixa em *D. texensis*, o que não condiz com o esperado, pois este fungo ocorre freqüentemente sobre pulgões e cochonilhas.

Estudos realizados por Wraight et al. (1998) mostram resultados em que 14 de 22 isolados de *B. bassiana* e quatro de 13 isolados de *P. fumosoroseus*, causando mortalidade em ninfas de *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae), foram considerados com potencial para controle deste inseto, ou seja, os demais atingiram percentuais de mortalidade inferiores ao desejado.

Essas diferenças também foram mostradas por Moino Junior (1998), segundo o qual uma seleção de isolados mostrou grande diferença entre a suscetibilidade de *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae), pragas de grãos armazenados, deixados em contato com isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo que o primeiro fungo mostrou maior virulência que o segundo. Estes resultados mostram a importância de se realizar uma fase de seleção de isolados, pois a variabilidade encontrada entre fungos diferentes ou até mesmo entre isolados do mesmo fungo é considerável; assim, é possível encontrar materiais mais ou menos patogênicos, que tenham as qualidades adequadas para que o entomopatógeno selecionado seja o mais eficiente possível.

5.2 Determinação dos TL₅₀ para fungos

Não foram verificadas diferenças significativas entre as porcentagens de mortalidade, apesar de os isolados UEL 114 e UEL 108 apresentarem maior porcentagem de mortalidade (Tabela 4). Este resultado aproximado entre os isolados testados confirmou o bioensaio realizado anteriormente com todos os fungos, já que estes isolados haviam sido selecionados justamente por estes altos índices, tendo valores aproximados de mortalidade, continuando a variar na mesma faixa anteriormente obtida (Tabela 1).

TABELA 4. Porcentagem de mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *Dysmicoccus texensis* inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

Tratamento	Identificação	Mortalidade (%) ¹
UEL 114	<i>B. bassiana</i>	62,0 ± 2,00 a
UEL 108	<i>B. bassiana</i>	62,0 ± 2,00 a
CB 480	<i>M. anisopliae</i>	60,0 ± 3,16 a
CB 498	<i>B. bassiana</i>	58,0 ± 3,74 a
UFLA 9	<i>B. bassiana</i>	56,0 ± 5,10 a
UEL 82	<i>B. bassiana</i>	54,0 ± 2,45 a
CB 17	<i>B. bassiana</i>	52,0 ± 2,00 a
UEL 67	<i>B. bassiana</i>	52,0 ± 3,74 a
UEL 22	<i>B. bassiana</i>	50,0 ± 3,16 a
CB 28	<i>B. bassiana</i>	50,0 ± 3,16 a
CV (%)		8,63

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹M ± EP (M).

A maior parte dos isolados fúngicos selecionados causou mortalidade em *D. texensis* entre o sétimo e o oitavo dia após a sua aplicação, mostrando que ocorre um pico de mortalidade nesses pontos, já que com seis dias houve no máximo 20% de mortalidade e com nove dias, no máximo 10% de mortalidade, sendo que com sete dias ocorreu até 35% de mortalidade e com oito dias, 30% de mortalidade (Figura 1). Antes de seis dias não foi observada a ocorrência de mortalidade em *D. texensis*, podendo ser decorrente da dificuldade de penetração do fungo na cochonilha, já que esta apresenta uma camada cerosa revestindo o seu tegumento. Após dez dias da inoculação, também não foi observada ocorrência de mortalidade de *D. texensis*.

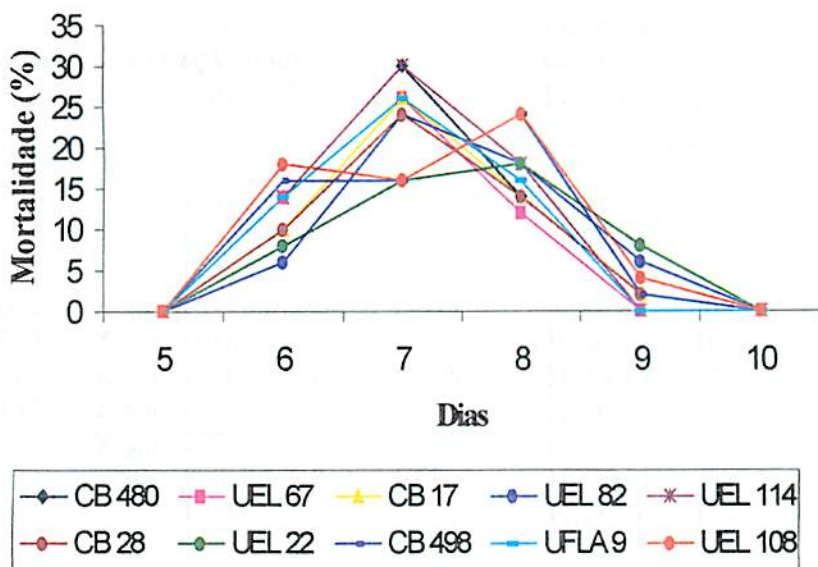


FIGURA 1. Porcentagem diária de mortalidade de *Dysmicoccus texensis* por isolados de fungos entomopatogênicos.

De acordo com a análise de Probit para os tempos letais médios (TL_{50}) de mortalidade da cochonilha para os diferentes fungos, observa-se um menor TL_{50} para o isolado UEL 114, seguido pelo isolado CB 480 e depois, UEL 108 (Tabela 5), que obteve o mesmo índice de mortalidade que o primeiro isolado no bioensaio anterior (Tabela 4). Assim, o isolado UEL 114 foi selecionado, pois de acordo com os resultados apresentados, tanto de mortalidade como de tempo letal (TL_{50}), este apresenta as melhores características para o desenvolvimento dos demais bioensaios realizados com a cochonilha *D. texensis*.

TABELA 5. Tempos letais médios (TL_{50}) em dias, intervalos de confiança (IC) ($P < 0,05$), equações de regressão linear e valores de χ^2 obtidos pela análise de Probit para os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre *Dysmicoccus texensis* (Temperatura = $25 \pm 1^\circ\text{C}$; Fotofase = 12 h; UR = $70 \pm 10\%$).

Tratamento	TL_{50}	IC	Equação	χ^2
UEL 114	7,72	(6,42; 9,28)	$y = -1,85615 + 7,71144 \cdot \log X$	4,55
CB 480	7,84	(6,48; 9,48)	$y = -1,47571 + 7,24080 \cdot \log X$	4,13
UEL 108	7,90	(7,11; 8,78)	$y = -1,56761 + 7,31642 \cdot \log X$	1,25
UFLA 9	8,05	(6,59; 9,83)	$y = -1,17765 + 6,82129 \cdot \log X$	3,63
CB 498	8,10	(7,08; 9,25)	$y = -1,50719 + 7,16596 \cdot \log X$	1,73
UEL 67	8,28	(6,47; 10,59)	$y = -0,60658 + 6,10741 \cdot \log X$	3,77
CB 17	8,37	(6,70; 10,47)	$y = -1,51001 + 7,05210 \cdot \log X$	3,81
UEL 82	8,41	(7,11; 9,95)	$y = -2,98830 + 8,63770 \cdot \log X$	3,15
CB 28	8,53	(6,80; 10,70)	$y = -1,35669 + 6,82879 \cdot \log X$	3,30
UEL 22	8,76	(7,81; 9,83)	$y = -2,37421 + 7,82391 \cdot \log X$	0,92

5.3 Bioensaios com nematóides entomopatogênicos

Mediante a mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *D. texensis*, o nematóide *S. carpocapsae*, com concentração de 25 nematóides por cochonilha, apresentou diferença em relação às porcentagens de mortalidade causadas pelos demais nematóides. Mesmo nas outras concentrações, 50 e 100 nematóides/cochonilha, *S. carpocapsae* causou maior mortalidade que os demais nematóides nas mesmas concentrações. Já *S. anomali* foi o que apresentou menor virulência quando comparado aos outros nematóides em todas as concentrações. Esses resultados, mostrando uma maior mortalidade de *D. texensis* causada por nematóides aplicados em menor concentração, podem ter ocorrido pela maior competição existente entre eles nos tratamentos com concentrações mais elevadas de nematóides/cochonilha, provavelmente devido a uma redução na oxigenação. Outros tratamentos mostraram diferenças entre si, e também alta mortalidade, estando na maioria dos casos acima das taxas de mortalidade causadas pelos fungos entomopatogênicos; porém, o nematóide selecionado foi o *S. carpocapsae*, devido a sua maior porcentagem de mortalidade quando comparado aos demais nematóides (Tabela 6).

TABELA 6. Porcentagem de mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *Dysmicoccus texensis* inoculadas com nematóides entomopatogênicos.

Tratamento	Concentração (nem./coch.)	Mortalidade (%) ¹
<i>S. carpocapsae</i>	25	78,0 ± 2,00 a
<i>Heterorhabditis</i> sp.	25	74,0 ± 2,45 ab
<i>S. glaseri</i>	25	70,0 ± 3,16 abc
<i>S. carpocapsae</i>	50	68,0 ± 3,74 abc
<i>Heterorhabditis</i> sp.	50	66,0 ± 4,00 abc
<i>S. glaseri</i>	50	64,0 ± 4,00 abc
<i>S. anomali</i>	25	64,0 ± 4,00 abc
<i>S. carpocapsae</i>	100	62,0 ± 3,74 bc
<i>S. anomali</i>	50	60,0 ± 4,47 bc
<i>Heterorhabditis</i> sp.	100	60,0 ± 3,16 bc
<i>S. glaseri</i>	100	58,0 ± 2,00 bc
<i>S. anomali</i>	100	54,0 ± 2,45 c
CV (%)	8,49	

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹M ± EP (M).

Para o nematóide *S. carpocapsae*, os maiores índices de mortalidade ocorreram entre o terceiro e o quinto dia após a aplicação do nematóide na cochonilha, sendo que a concentração de 25 nematóides/cochonilha matou mais no terceiro dia e a concentração 100 nematóides/cochonilha matou mais no quinto dia; porém, ao final dos oito dias de avaliação observou-se que as concentrações mais baixas causaram maior mortalidade em *D. texensis* (Figura 2). Para os demais nematóides os resultados foram semelhantes; no entanto, não houve um pico de mortalidade tão aparente quanto o de *S. carpocapsae*, sendo que as mortalidades se distribuíram mais uniformemente pelos oito dias de avaliação do bioensaio (Figuras 3, 4 e 5).

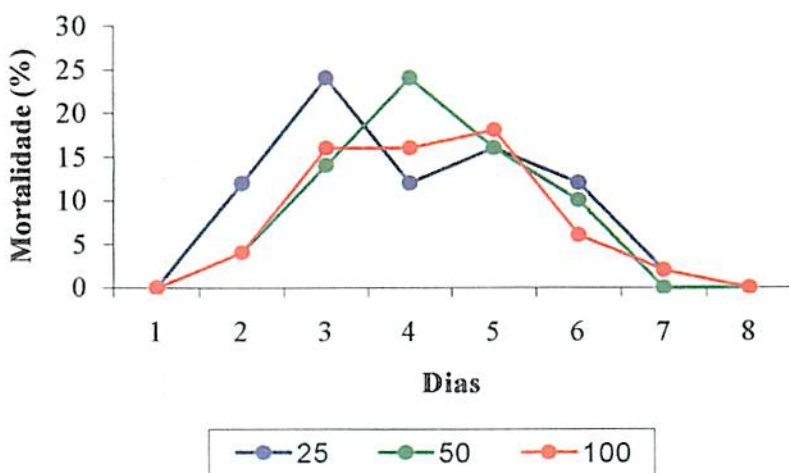


FIGURA 2. Porcentagem diária de mortalidade de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Steinernema carpocapsae*.

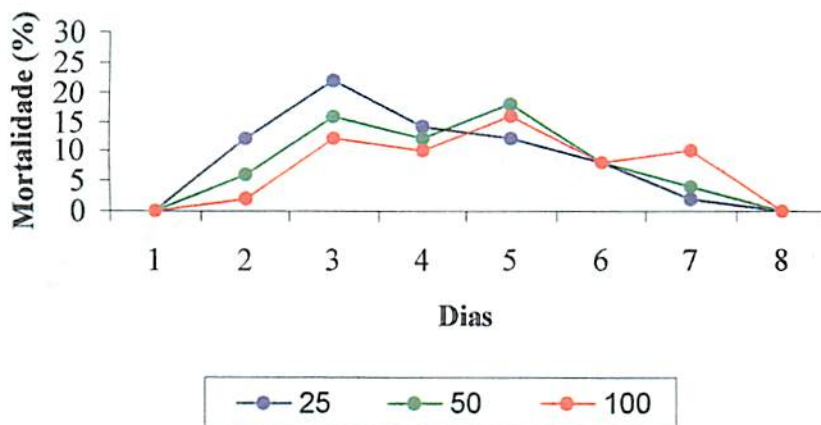


FIGURA 3. Porcentagem diária de mortalidade de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Steinernema glaseri*.

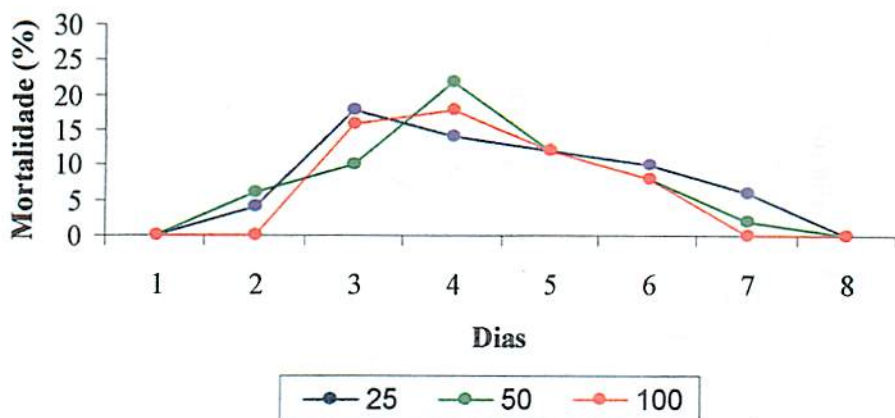


FIGURA 4. Porcentagem diária de mortalidade de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Steinernema anomali*.

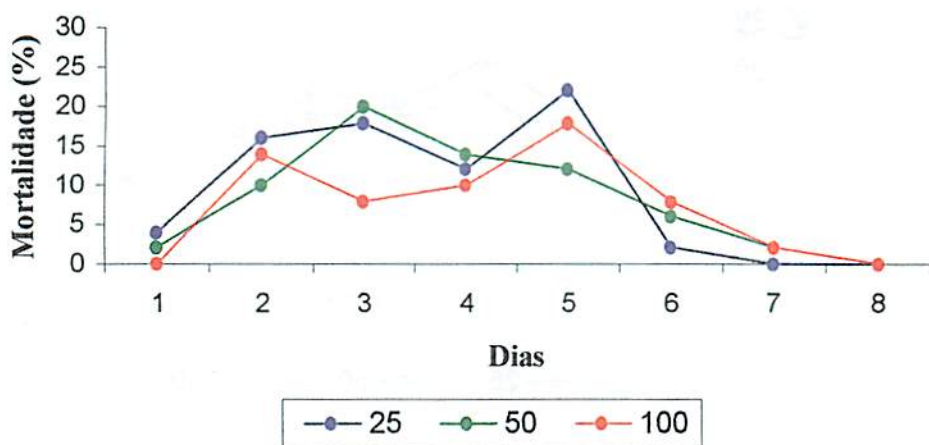


FIGURA 5. Porcentagem diária de mortalidade de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Heterorhabditis* sp.

A diferença observada entre fungos e nematóides, tanto para a porcentagem de mortalidade como para o tempo levado para causar a morte da cochonilha, pode ser explicada tanto pelo comportamento dos dois entomopatógenos como pela forma de penetração. O fungo penetra principalmente pelo tegumento do inseto, enquanto o nematóide também penetra pelas suas aberturas naturais, como boca, ânus e espiráculos; assim, o nematóide terá maior facilidade, já que essa cochonilha possui uma camada cerosa e farinhenta que envolve e protege o seu corpo. A condição em que a cochonilha foi mantida, simulando seu hábito natural, também favoreceu o nematóide, que se manteve a certa profundidade na areia, sem sofrer com condições ambientais extremas, às quais é muito sensível. De acordo com Ferraz (1998), a alta adaptação do complexo entre o nematóide e a bactéria possibilita matar rapidamente o inseto; assim, este é outro fator que diferencia o nematóide do fungo.

Rodriguez et al. (1997) mostraram que o uso de *Heterorhabditis bacteriophora* causou, na cochonilha *Planococcus* sp., 100% de mortalidade em condições de laboratório, sendo que em 48 horas os juvenis infectivos (JI) já haviam penetrado pela cutícula do inseto, ocasionando maior mobilidade e dispersão das cochonilhas; com 72 horas foi observada a mortalidade dos insetos, os quais perderam a sua cobertura farinhosa e adquiriram coloração parda escura.

Testes realizados por Poinar (1975) mostraram que os nematóides atacam um grande número de insetos, mais de 250 espécies de 75 famílias e 11 ordens, mostrando seu grande espectro de hospedeiros, o que não é tão comum para fungos, que são, na maioria dos casos, mais específicos. De acordo com Doucet et al. (1999), existem diferenças no desenvolvimento do nematóide em função do inseto hospedeiro, devido às diferenças fisiológicas encontradas em cada ordem de inseto. Assim, um estudo

mostra que as ordens Coleoptera e Hemiptera são as mais favoráveis como hospedeiras para certas espécies de nematóides.

O fato de o nematóide *S. carpocapsae* ter se mostrado mais eficaz na cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro pode ser também explicado por características comportamentais tanto do nematóide como da cochonilha. Grewal et al. (2001) mostram que barreiras comportamentais restringem a eficácia de nematóides. *S. carpocapsae* tem por característica procurar por hospedeiros que ficam perto da superfície do solo; são os chamados “cruiser”, pois têm grande mobilidade, o que explica que causem maior mortalidade em *D. texensis*, já que as fêmeas adultas são praticamente imóveis. Os demais nematóides procuram em maiores profundidades, são chamados “ambusher”; ficam esperando enquanto o hospedeiro se movimenta; assim, apenas os nematóides que foram inoculados próximos às cochonilhas irão infectá-las.

6 CONCLUSÕES

1. O isolado fúngico de *Beauveria bassiana* UEL 114 é o mais virulento para *Dysmicoccus texensis*, entre os isolados testados.
2. O nematóide entomopatogênico *Steinernema carpocapsae* é o mais virulento para *Dysmicoccus texensis*, entre as espécies avaliadas.
3. Os nematóides entomopatogênicos testados são mais virulentos para *Dysmicoccus texensis* que os fungos entomopatogênicos.
4. As menores concentrações testadas de nematóides em *Dysmicoccus texensis* são mais virulentas que concentrações maiores.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 11, p. 289-380.

ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO JR, A.; ALVES, L. F. A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 20, p. 637-711.

DOUCET, M. M. A. de; BERTOLOTTI, M. A.; GIAYETTO, A. L.; MIRANDA, M. B. Host Range, specificity, virulence of *Steinernema feltiae*, *Steinernema rarum*, and *Heterorhabditis bacteriophora* (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology*, San Diego, v. 73, n. 3, p. 237-242, May 1999.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 16, p. 541-569.

GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B. de; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: Potencial for exploration and use in South America. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr./June 2001.

MARTÍNEZ, M. de los A.; SURIS, M. Bases bioecológicas para el manejo de chinches harinosas en el cultivo del café en Cuba. *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica, n. 57, p. 58-64, 2000.

MOINO JR, A.; ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. *Journal of Applied Entomology*, Berlin, v. 122, n. 6, p. 301-305, Sept. 1998.

PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. Controle microbiano de insetos. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 35, p. 1015-1037.

POINAR, G. O. JR. A manual and host list of insects nematode associations. New York: Ed. Brill, 1975. 317 p.

◦ RODRÍGUEZ, M. G.; SÁNCHEZ, L.; MARTÍNEZ, M. de los A. Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heterorhabditidae) sobre chinches harinosas del cafeto (Homoptera: Pseudococcidae). **Revista de Protección Vegetal**, Chapinco, v. 12, n. 2, p. 119-122, 1997.

WRAIGHT, S. P.; CARRUTHERS, R. I.; BRADLEY, C. A.; JARONSKI, S. T.; LACEY, L. A.; WOOD, P.; GALAINI-WRAIGHT, S. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolli*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 71, n. 3, p. 217-226, May 1998.

CAPÍTULO 3

CARVALHO, Vanessa Andaló Mendes de. **Compatibilidade de fungos e nematóides entomopatogênicos com produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro**. 2003. p. 56-81. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

1 RESUMO

Diversas são as substâncias químicas usadas hoje no controle de pragas, doenças e plantas daninhas, porém muitos desses produtos são tóxicos ao homem e aos animais, além de reduzirem o potencial de controle de predadores, parasitóides e patógenos. O controle integrado utilizando produtos fitossanitários seletivos e organismos entomopatogênicos é uma técnica muito utilizada, mas alguns destes produtos podem influenciar estes organismos, reduzindo crescimento vegetativo, viabilidade e esporulação, alterando até mesmo sua composição genética, modificando a sua virulência. Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito de produtos químicos utilizados na cultura do cafeeiro sobre fungos e nematóides entomopatogênicos considerados potenciais para controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, através da avaliação dos parâmetros de desenvolvimento do material fúngico e da viabilidade e infectividade do nematóide. O fungo foi repicado em meio BDA contendo os produtos, em que foram avaliadas germinação, crescimento vegetativo e esporulação. Para os nematóides foram avaliados os parâmetros viabilidade e infectividade em larvas de *Galleria mellonella*. Os produtos azafenidina, quintozene, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen diminuíram a germinação dos conídios de *Beauveria bassiana*. O crescimento vegetativo e esporulação foram reduzidos pelos produtos dimetiluréia, azafenidina, quintozeno, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen. Os herbicidas 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen diminuíram a viabilidade do nematóide *Steinernema carpocapsae* e os herbicidas azafenidina, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen reduziram a infectividade de *Steinernema carpocapsae* a larvas de *Galleria mellonella*.

* Orientador: Alcides Moino Junior – UFLA

CHAPTER 3

CARVALHO, Vanessa Andaló Mendes de. **Compatibility of entomopatogenic fungi and nematodes with chemical pesticides used in the coffee crop.** 2003. p. 56-81. Dissertation (Master in Entomology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

2 ABSTRACT

Several chemical substances are actually used for the control of pests, diseases and weeds, however many of these products are toxic to the man and other animals, besides reducing the potential of control of predators, parasitoids and pathogens. The integrated control using selective chemical pesticides and entomopatogenic organisms is a technique very used, however some of these products can influence these organisms, reducing vegetative growth, viability and sporulation, altering even their genetic composition, and modifying their virulence. The objectives of this work were to evaluate the effect of chemical pesticides used in the coffee crop on entomopatogenic fungi and nematodes considered potential for the control of the coffee root mealybug, through the evaluation of development parameters of the fungus and viability and infectivity of the nematode. The fungus was inoculated in PDA medium containing the products, being evaluated germination, vegetative growth and sporulation. Viability and infectivity on *Galleria mellonella* larvae were evaluated for the nematode, in the presence of the chemicals. The herbicides azafenidyn, quintozene, simazyn + ametryn, 2,4-D, acetochlor and oxyfluorfen reduced fungi germination. Vegetative growth and sporulation were reduced by these chemicals and also glifosate and dimetilurea. The viability of *S. carpocapsae* was reduced by 2,4-D, acetochlor and oxyfluorfen. The nematode infectivity on *G. mellonella* larvae were reduce by these products also simazyn + ametryn and azafenidyn.

* Adviser: Alcides Moino Junior – UFLA

3 INTRODUÇÃO

A ocorrência de resistência de muitos organismos a produtos fitossanitários se deve ao uso indiscriminado destes produtos, resultando no aumento de populações de pragas e de doenças no campo, contaminando os alimentos, animais e reservas hídricas e gerando graves desequilíbrios (Cavalcanti, 2002).

Várias são as substâncias químicas usadas no controle de pragas e de doenças atualmente. Entre as principais estão os inseticidas e os fungicidas, porém muitos desses produtos são tóxicos ao homem e aos animais, além de reduzirem o potencial de controle de predadores, parasitóides e patógenos. A estratégia do controle integrado pode ser utilizada, e neste caso, produtos fitossanitários seletivos são usados juntamente com fungos entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico. Entretanto, alguns destes produtos podem influenciar estes microrganismos, como no caso dos fungos. Além do crescimento vegetativo, viabilidade e esporulação de fungos entomopatogênicos, até mesmo a composição genética pode ser alterada, modificando a sua virulência (Alves et al., 1998).

Os inseticidas exercem uma pressão de seleção sobre insetos-praga, ocorrendo também sobre populações de insetos benéficos, como inimigos naturais das pragas e insetos polinizadores, podendo selecionar uma população resistente ao produto devido às sucessivas aplicações realizadas no campo, eliminando apenas os indivíduos mais sensíveis ao produto químico (Rosenheim & Hoy, 1986). Os fungos estão entre os inimigos naturais que podem sofrer influência na aplicação de produtos fitossanitários; devido a sua grande diversidade e sua intensa capacidade de multiplicação, oferecem uma ampla oportunidade para selecionar linhagens resistentes. Em uma população sensível a

determinado produto, aquelas colônias com menor sensibilidade aos produtos se propagam devido à ocorrência de mutação ou outro mecanismo de variabilidade (Ghini & Kimati, 2000).

Os nematóides entomopatogênicos também são aplicados em áreas que recebem outros insumos, como produtos químicos, fertilizantes e corretivos de solo, sendo que alguns desses produtos podem reduzir a infectividade e a sobrevivência desses nematóides (Grewal et al., 2001).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito de produtos químicos utilizados na cultura do cafeeiro sobre fungos e nematóides entomopatogênicos considerados potenciais para controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, através da avaliação dos parâmetros de desenvolvimento do material fúngico e da viabilidade e infectividade do nematóide, ambos selecionados anteriormente, visando uma maior produção desses microrganismos para realização de ensaios em campo e posterior viabilização do seu uso como bioinseticida em agroecossistemas que utilizem produtos fitossanitários.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Testes de compatibilidade

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA. Os produtos químicos utilizados foram os descritos na Tabela 1, recomendados para a cultura do cafeeiro.

TABELA 1. Produtos fitossanitários utilizados nos experimentos e registrados para a cultura do cafeeiro (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002).

Nome		Formulação	Uso ¹	Grupo químico	Concentração média (ha) ²
Técnico	Comercial				
Pencicuron	Monceren	PM	F	Feniluréia	100 g/100 L
Quintozene	Plantacol	PM	F	Cloroaromático	750 g/100 L
Tiametoxam	Actara	WG	I	Nicotinóide	3000 g/300 L
Carbofuran	Furadan	SC	I/N	Carbamato	6 L/1000 L
Imidaclopride	Premier	WG	I	Nicotinóide	1150 g/300 L
2,4-D	DMA 806	CS	H	Fenoxiacéticos	3,5 L/300 L
Acetoclor	Fist	CE	H	Cloroacetanilida	4 L/ha
Oxifluorfen	Goal	CE	H	Éter difenílico	6 L/300 L
Azafenidina	Ranger	WG	H	Triazolona	600 L/300 L
Simazina+	Topezc	SC	H	Triazina	8 L/300 L
Ametrina					
Glifosato	Glifosato	CS	H	Glicina substituída	6 L/300 L
Dimetiluréia	Karmex 110	WG	H	Uréias substituídas	4 kg/300 L

¹A = acaricida; I = inseticida; F = fungicida; N = nematicida. ²Concentração média recomendada no rótulo do produto.

4.1.1 Metodologia para avaliação do efeito de produtos fitossanitários sobre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*

O isolado utilizado foi UEL 114, selecionado através dos bioensaios de avaliação de mortalidade e de TL_{50} . O fungo foi inoculado em placas de Petri contendo meio para produção de esporos de *Beauveria* spp. e *Nomuraea rileyi* (ME) e incubado em câmara climatizada B.O.D. à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e umidade relativa de $70 \pm 10\%$ por 10 dias, até plena esporulação, quando os conídios foram usados para o bioensaio de compatibilidade.

Primeiramente foi feita a avaliação da germinação dos conídios, na qual as formulações dos produtos químicos foram dissolvidas em 10 mL de água destilada esterilizada (ADE) + espalhante adesivo Tween 80 (0,1%) contendo conídios do fungo suspensos, tendo esta suspensão uma concentração de 10^7 conídios/mL. Uma alíquota de 0,1 mL foi retirada de cada suspensão após uma hora, espalhada em quatro placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) com auxílio da alça de Drigalsky. Na testemunha não foram adicionados produtos químicos na suspensão. As placas foram mantidas em B.O.D. nas mesmas condições usadas para o crescimento do fungo, por 20 horas. Após este período foi quantificada a porcentagem de conídios germinados sob microscópio óptico com aumento de 400 vezes (cinco campos por placa de Petri), segundo metodologia adaptada de Neves et al. (2001). Os dados obtidos foram transformados por $\arcsen \sqrt{(x/100)}$ e submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação entre médias.

Outros parâmetros avaliados foram o crescimento vegetativo e a esporulação. Neste estudo, as quantidades recomendadas das formulações dos produtos químicos (Tabela 1) foram adicionadas em 200 mL de meio de cultura ME fundido, ainda não solidificado, e depois vertido em placas de Petri. Depois de solidificado o meio, o fungo foi inoculado em três pontos equidistantes por

placa, com auxílio de alça de platina. Foram utilizadas quatro placas por tratamento. As placas foram incubadas em B.O.D. com as mesmas condições do estudo anterior. Após oito dias foram selecionadas, aleatoriamente, seis colônias por tratamento; estas foram medidas com uma régua em dois sentidos transversais, determinando o diâmetro médio. Em seguida, estas colônias foram recortadas com um bisturi para a quantificação dos conídios. Cada colônia foi colocada em um tubo de vidro e a ela foram adicionados 10 mL de ADE + Tween 80 (0,1%), agitando-o por cerca de dois minutos, até a retirada dos conídios da superfície do meio recortado. Foram feitas seguidas diluições para quantificar os conídios com auxílio de uma câmara de Neubauer.

Os dados de crescimento vegetativo e esporulação obtidos foram transformados por $\sqrt{(x + 0,5)}$ e submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($P < 0,05$), para comparação entre médias, e também ao sistema de classificação quanto ao nível de toxicidade (valor "T"), de acordo com metodologia proposta por Alves et al. (1998), determinando a toxicidade dos produtos testados ao isolado UEL 114 do fungo *Beauveria bassiana*. Esse método é baseado nos valores médios em porcentagem de esporulação e crescimento vegetativo das colônias dos fungos, para testes *in vitro* realizados em meio sólido, em que são calculados os valores em relação à testemunha (100%). A fórmula utilizada é a seguinte:

$$T = \frac{20 (CV) + 80 (ESP)}{100}$$

Onde:

T = Valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para classificação do produto;

CV = Porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha;

ESP = Porcentagem de esporulação com relação à testemunha.

Os valores de “T” são classificados de forma que de 0 a 30 o produto é considerado muito tóxico, de 31 a 45 é considerado tóxico, de 46 a 60 é considerado moderadamente tóxico, e para valores acima de 60, é considerado compatível.

4.1.2 Metodologia para avaliação do efeito de produtos fitossanitários sobre o nematóide entomopatogênico *Steinernema carpocapsae*

Este bioensaio seguiu o protocolo desenvolvido por Vainio (1992) para avaliar os efeitos de produtos fitossanitários sobre nematóides entomopatogênicos em laboratório. O uso destes nematóides sozinhos ou associados pode reduzir a quantidade de produto aplicado, sendo um método integrado de uso potencial.

Foram usados 12 produtos e a testemunha, sendo que cada tratamento possuiu cinco repetições para o teste de viabilidade dos nematóides e 15 repetições para o teste de infectividade em *Galleria mellonella*. Os produtos fitossanitários foram misturados na sua mais alta concentração de ingrediente ativo recomendado, multiplicada por 2 (já que ainda foi diluído mais uma vez, quando acrescentada a suspensão de nematóides), a 200 mL de água destilada. Posteriormente, foi retirada uma alíquota de 1 mL dessa suspensão e esta foi colocada em tubos de vidro. Durante a incubação, os tubos foram mantidos em B.O.D. com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade

relativa de $70 \pm 10\%$. Uma suspensão de nematóides também foi preparada, a qual deveria conter cerca de 2.000-2.500 juvenis infectivos (JI3) em 1 mL de água destilada, já que, para a avaliação do teste de viabilidade, uma alíquota de 0,1 mL foi retirada, devendo conter no mínimo 100 nematóides. Assim, foram misturados 1 mL da suspensão dos nematóides e 1 mL da solução do produto. Como testemunha usaram-se apenas os nematóides em água destilada. Todos os tubos foram bem agitados depois da aplicação do produto fitossanitário e todas as vezes que avaliados.

A viabilidade dos nematóides foi avaliada com 2, 5 e 7 dias após o contato com os produtos. Uma alíquota de 0,1 mL da suspensão foi retirada e examinada em estereomicroscópio.

A sobrevivência e morte dos indivíduos foram contadas randomicamente, observando 100 nematóides. Os que se moveram ativamente ou que responderam ao uso de uma agulha foram considerados vivos e os que não responderam ao estímulo, considerados mortos.

A infectividade dos nematóides foi testada com os mesmos períodos que a viabilidade. Os tubos foram cheios com água e os nematóides, deixados decantar por meia hora na geladeira. O sobrenadante (cerca de 3 mL) foi descartado, sendo esta lavagem realizada três vezes. Depois da terceira vez, 0,2 mL foi retirado do fundo de cada tubo e pipetados em papel de filtro em placa de Petri de 5 cm.

Uma larva de *G. mellonella* foi colocada em cada placa; estas foram fechadas e mantidas em B.O.D. com a mesma temperatura e umidade que as suspensões por cinco dias, sendo mantidas úmidas por todo tempo. As larvas mortas foram retiradas e colocadas em placas de Petri com papel filtro seco no escuro por mais três dias, sendo depois dissecadas para avaliar a presença ou não dos nematóides.



Os dados de mortalidade de nematóides foram corrigidos pela fórmula de Abbott, a seguir:

$$M = \frac{(t \% - c \%)}{(100 \% - c \%)} \times 100 \%$$

Onde:

M = mortalidade total;

t = mortalidade dos nematóides expostos;

c = mortalidade dos nematóides da testemunha.

Com relação aos dados obtidos para infectividade, os mesmos foram transformados para valores de porcentagem de redução de infectividade em relação à testemunha (100%).

O protocolo utilizado preconiza que valores de mortalidade ou redução de infectividade maiores que 50% caracterizam o produto como incompatível com os nematóides testados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da germinação dos conídios

Nos resultados obtidos para germinação dos conídios não houve diferença significativa entre a testemunha e o tratamento com Imidaclopride, mostrando que não houve efeito prejudicial sobre a viabilidade dos conídios do fungo *B. bassiana*. Os demais tratamentos reduziram a germinação, porém glifosato, tiametoxam, pencicuron, dimetiluréia e carbofuran não tiveram diferença significativa da testemunha e do tratamento com imidaclopride, também não prejudicando a germinação. Verificou-se uma redução significativa na germinação de *B. bassiana* nos demais tratamentos, azafenidina, quintozene, simazina + ametrina, acetoclor, oxifluorfen e 2,4-D, apresentando uma diferença significativa em relação à testemunha, principalmente no caso dos últimos três produtos químicos citados, quando o fungo apresentou 0% de germinação dos conídios (Tabela 2). Isto mostra que estes produtos, quando aplicados junto com este fungo, podem prejudicar a sua germinação.

Neves et al. (2001) avaliaram a compatibilidade de três inseticidas neonicotinóides com *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces fumosoroseus*, estando entre eles tiametoxam e o imidaclopride. Estes inseticidas não afetaram a viabilidade dos conídios de *B. bassiana*, ratificando o resultado encontrado neste trabalho.

Os valores altos de germinação dos conídios cultivados com o produto químico podem ter ocorrido devido ao fato de o fungo degradar e metabolizar os princípios tóxicos das moléculas das formulações dos produtos, usando-as para sua germinação (Alves et al., 1998).

TABELA 2. Viabilidade de conídios do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* na presença de produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro (Temperatura = 25 ± 1°C; Fotofase = 12 h; UR = 70 ± 10%).

Tratamento	Germinação (%) ¹
Testemunha	96,93 ± 0,84 a
imidaclopride	96,67 ± 1,58 a
glifosato	94,33 ± 0,55 ab
tiametoxam	94,12 ± 1,46 ab
pencicuron	93,99 ± 1,24 ab
dimetiluréia	92,74 ± 0,40 ab
carbofuran	91,30 ± 1,66 ab
azafenidina	86,47 ± 4,87 bc
quintozene	75,66 ± 3,49 cd
simazina + ametrina	70,28 ± 1,42 d
acetoclor	0 e
oxifluorfen	0 e
2,4-D	0 e
CV (%)	6,87

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

¹M ± EP (M)

5.2 Avaliação do crescimento vegetativo e da esporulação

Os resultados obtidos referentes ao crescimento vegetativo e esporulação de *B. bassiana*, quando inoculado em meio de cultura BDA contendo produtos fitossanitários, são apresentados na Tabela 3. Para o crescimento vegetativo, não houve diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos tiametoxam, imidaclopride, carbofuran e pencicuron. Os tratamentos glifosato e azafenidina apresentaram uma pequena redução em relação à testemunha, seguidos dos tratamentos quintozene e dimetiluréia. Já os tratamentos acetoclor, 2,4-D e simazina + ametrina causaram uma grande redução no crescimento vegetativo

do fungo; no tratamento inoculado com oxifluorfen, o fungo não apresentou crescimento algum (Tabela 3).

TABELA 3. Diâmetro médio de colônia (cm) e número médio de conídios produzidos por colônias de *Beauveria bassiana* na presença de produtos químicos (Temperatura = $25 \pm 1^\circ\text{C}$; Fotofase = 12 h; UR = $70 \pm 10\%$).

Tratamento	Diâmetro (cm) ¹	Conídios ($\times 10^7$) ¹
Testemunha	2,93 \pm 0,02 a	4,89 \pm 0,12 a
tiametoxam	2,92 \pm 0,03 a	4,69 \pm 0,11 ab
imidaclopride	2,91 \pm 0,05 a	4,37 \pm 0,05 bc
carbofuran	2,85 \pm 0,03 a	4,21 \pm 0,18 c
pencicuron	2,66 \pm 0,09 a	2,74 \pm 0,01 d
glifosato	1,75 \pm 0,03 b	2,31 \pm 0,01 de
azafenidina	1,54 \pm 0,03 b	1,33 \pm 0,01 ef
quintozene	1,05 \pm 0,06 c	0,28 \pm 0,01 ef
dimetiluréia	0,94 \pm 0,02 c	0,23 \pm 0,02 f
acetoclor	0,40 \pm 0,02 d	0,07 \pm 0,01 g
2,4-D	0,35 \pm 0,03 d	0,09 \pm 0,01 g
simazina + ametrina	0,35 \pm 0,04 d	0,09 \pm 0,01 g
oxifluorfen	0 e	0 g
CV (%)	2,80	3,22

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

¹M \pm EP (M)

Além das análises estatísticas de crescimento vegetativo, foram realizadas, nesse estudo, observações paralelas da coloração e da morfologia das colônias de *B. bassiana*, que apresentam visualmente diferenças de crescimento entre os tratamentos contendo os diferentes produtos fitossanitários, mostrando principalmente as maiores diferenças, entre testemunha, tiametoxam, imidaclopride, carbofuran e pencicuron, contra simazina + ametrina, acetoclor, 2,4-D e oxifluorfen (Figura 1).

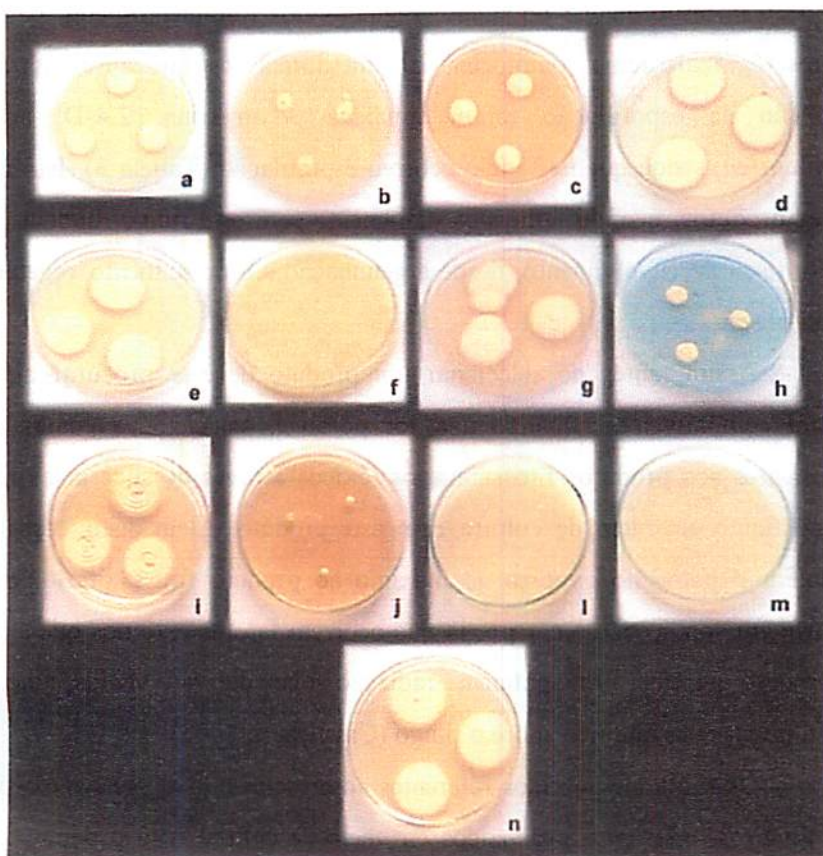


FIGURA 1. Aspecto morfológico das colônias do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* na presença de produtos fitossanitários. a. glifosato; b. dimetiluréia; c. azafenidina; d. carbofuran; e. imidaclopride; f. oxifluorfen; g. pencicuron; h. quintozene; i. tiametoxam; j. 2,4-D; l. acetoclor; m. simazina + ametrina; n. testemunha.

Em relação ao parâmetro esporulação, não houve diferença significativa entre a testemunha e o tratamento com tiametoxam, mostrando não prejudicar a esporulação do fungo, o que também ocorreu no parâmetro germinação e crescimento vegetativo. Imidaclopride e carbofuran apresentaram uma pequena

redução na esporulação do fungo, seguidos dos tratamentos com pencycuron e glifosato, azafenidina, quintozene e dimetiluréia; os que apresentaram maior inibição da esporulação foram simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen, sendo que neste não ocorreu esporulação (Tabela 3). Isto indica que estes produtos, quando aplicados juntamente com este fungo, podem prejudicar todo o seu desenvolvimento, desde a germinação e o crescimento vegetativo até a esporulação.

Assim, antes de selecionar um produto deve-se procurar aqueles que sejam compatíveis e, quando não for possível, selecionar colônias do fungo resistentes aos produtos fitossanitários tóxicos através de sucessivas repicagens deste fungo em meio de cultura com este produto. Além disto, testes *in vitro* mantêm o patógeno exposto ao máximo ao produto fitossanitário, o que não ocorre em condições de campo, já que ocorrem fatores externos que agem sobre o produto químico, principalmente radiação solar, deriva e ventos, amenizando a ação do produto químico sobre o fungo (Cavalcanti, 2002).

Os resultados obtidos referentes ao crescimento vegetativo e esporulação do fungo *B. bassiana*, produzidos em meio de cultura com produtos químicos, foram submetidos ao sistema de classificação quanto ao nível de toxicidade para cálculo do valor de compatibilidade (valor "T").

Pelos resultados apresentados na tabela de classificação de produtos fitossanitários quanto à toxicidade dos mesmos ao fungo entomopatogênico *B. bassiana*, mostrou-se que os inseticidas tiametoxam, imidaclopride e carbofuran e o fungicida pencycuron foram compatíveis com o isolado UEL 114. O herbicida glifosato foi considerado moderadamente tóxico e o herbicida azafenidina, tóxico. O fungicida quintozene e os herbicidas dimetiluréia, simazina + ametrina, acetoclor, 2,4-D e oxifluorfen foram considerados muito tóxicos (Tabela 4). Assim, estes resultados confirmam que estes produtos químicos alteram o desenvolvimento de *B. bassiana*, sendo necessária precaução

quando utilizados no manejo integrado de pragas e doenças, caso exista o uso conjunto com este fungo.

TABELA 4. Valores de “T” e classificação dos produtos fitossanitários recomendados para a cultura do cafeeiro, quanto à toxicidade ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.

Tratamento	“T” ¹	Classificação ¹
tiametoxam	96,65	Compatível
imidaclopride	91,35	Compatível
carbofuran	88,32	Compatível
pencicuron	62,98	Compatível
glifosato	49,72	Moderadamente tóxico
azafenidina	32,26	Tóxico
quintozene	11,74	Muito tóxico
dimetiluréia	10,17	Muito tóxico
acetoclor	3,87	Muito tóxico
2,4-D	3,53	Muito tóxico
simazina + ametrina	3,53	Muito tóxico
oxifluorfen	0	Muito tóxico

¹Segundo Alves et al. (1998), valores de T: entre 0 e 30 = muito tóxico; entre 31 e 45 = tóxico; entre 46 e 60 = moderadamente tóxico; e maior que 60 = compatível.

Esta classificação proposta por Alves et al. (1998) considera o fator esporulação com maior peso que o fator crescimento vegetativo, isto devido aos conídios serem estruturas do fungo com capacidade de se disseminar pelo ambiente, além de serem responsáveis pelo início da infecção no campo; desta forma, uma colônia com pequeno crescimento, porém com grande produção de propágulos, tem uma disseminação da doença maior que uma colônia que cresceu bem, mas teve pequena esporulação.

Batista Filho et al. (2001) evidenciaram que tiametoxam foi compatível com 10 microrganismos testados, o que também ocorreu neste estudo. Também

Neves et al. (2001) mostraram que os produtos tiametoxam e imidaclopride foram compatíveis com o fungo *B. bassiana*, assim como os resultados obtidos por Loureiro (2002), não influenciando nos parâmetros crescimento vegetativo e esporulação. Moino Jr. & Alves (1998) verificaram que o inseticida imidaclopride não causou efeitos prejudiciais sobre a esporulação e crescimento vegetativo dos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Estes resultados são similares aos dados obtidos nesse estudo, em que tiametoxam e imidaclopride foram considerados compatíveis com o fungo *B. bassiana*.

5.3 Avaliação do efeito dos produtos fitossanitários sobre a viabilidade de *Steinernema carpocapsae*

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, apenas os herbicidas 2,4-D, oxifluorfen e acetoclor são considerados incompatíveis com o nematóide *Steinernema carpocapsae* após dois dias de montado o experimento, devendo ser feitos mais estudos com esses produtos, como ensaios de campo, já que nas condições deste bioensaio o nematóide fica exposto ao máximo à ação do produto químico. Os demais tratamentos foram compatíveis com o nematóide para esse mesmo período, não influenciando a sua viabilidade. Para cinco e sete dias de exposição do nematóide aos produtos fitossanitários os resultados foram os mesmos, em que apenas os herbicidas 2,4-D, oxifluorfen e acetoclor foram considerados incompatíveis com *S. carpocapsae*, devendo ser realizados estudos mais específicos com esses produtos, principalmente pelo alto índice de mortalidade causado, pois ocorreu 100% de mortalidade dos nematóides para todas as repetições desses tratamentos.

TABELA 5. Porcentagem de mortalidade corrigida ("M") e classificação dos produtos fitossanitários recomendados para a cultura do cafeeiro, quanto à viabilidade do nematóide entomopatogênico *Steinernema carpocapsae*.

Tratamento	2 dias		5 dias		7 dias	
	"M" ¹	Classificação	"M"	Classificação	"M"	Classificação
imidaclopride	1,55	Compatível	1,13	Compatível	0	Compatível
tiametoxam	2,87	Compatível	6,81	Compatível	7,17	Compatível
dimetiluréia	4,64	Compatível	6,13	Compatível	10,41	Compatível
penicuron	5,08	Compatível	9,54	Compatível	9,95	Compatível
quintozene	12,83	Compatível	17,95	Compatível	17,36	Compatível
glifosato	13,93	Compatível	13,40	Compatível	13,88	Compatível
azafenidina	16,15	Compatível	15,90	Compatível	19,67	Compatível
carbofuran	3,98	Compatível	8,18	Compatível	9,02	Compatível
simazina + ametrina	20,57	Compatível	29,31	Compatível	35,64	Compatível
2,4-D	100	Incompatível	100	Incompatível	100	Incompatível
acetoclor	100	Incompatível	100	Incompatível	100	Incompatível
oxifluorfen	100	Incompatível	100	Incompatível	100	Incompatível

¹Segundo Vainio (1992) para valores de "M" maiores que 50% considera-se o produto fitossanitário incompatível com o nematóide e menores que 50% como compatível.

O inseticida imidaclopride também foi testado por Koppenhöfer & Kaya (1998), avaliando a compatibilidade deste produto químico com juvenis infectivos do nematóide *Heterorhabditis bacteriophora*, sendo que este foi considerado compatível com o nematóide, causando uma mortalidade entre 0,7 e 3%. Estes resultados apresentam analogia com os dados obtidos no presente estudo. Esta confirmação também foi apresentada por Rovesti & Deseõ (1990), que testaram a compatibilidade de produtos fitossanitários com os nematóides *S. carpocapsae* e *Steinernema feltiae* e verificaram que o herbicida glifosato e o inseticida carbofuran não alteraram a viabilidade destes e o herbicida oxifluorfen causou uma redução notável na viabilidade dos nematóides. Hara & Kaya (1983) avaliaram o efeito de produtos químicos no comportamento do nematóide entomopatogênico *S. carpocapsae*, observando uma diminuição na

movimentação desses nematóides quando usados os produtos químicos organofosforados mevinfós, fenamifós e triclorfon e os carbamatos oxamil e metomil, mostrando a influência destes produtos na movimentação desses nematóides. Zimmerman & Cranshaw (1990) testaram os fungicidas benomil, clorotalonil, pentacloronitrobenzeno e o herbicida dicamba e observaram que estes foram compatíveis com os nematóides *Heterorhabditis* sp. e *S. carpocapsae*. Já o inseticida organofosforado diazinon não foi tóxico a *S. carpocapsae* após 48 horas de exposição, porém prejudicou *Heterorhabditis* sp. nesse mesmo tempo, o fungicida cloreto de mercúrio, causou 100% de mortalidade dos nematóides.

5.4 Avaliação do efeito dos produtos fitossanitários sobre a infectividade de *Steinernema carpocapsae* em larvas de *Galleria mellonella*

Pelos resultados apresentados na tabela de classificação de produtos fitossanitários quanto à compatibilidade dos mesmos ao nematóide entomopatogênico *S. carpocapsae* (Tabela 6), através da avaliação da sua infectividade a larvas de *G. mellonella*, quando em contato com o produto químico, observa-se que após dois dias apenas os produtos 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen foram considerados incompatíveis, ou seja, reduziram a infectividade do nematóide. Para este mesmo tempo de exposição, os demais produtos foram considerados compatíveis, mesmo havendo uma pequena redução na infectividade. Para o tempo de exposição de *S. carpocapsae* com os produtos químicos de cinco dias, além dos produtos citados anteriormente, os herbicidas azafenidina e simazina + ametrina também foram considerados incompatíveis, reduzindo a infectividade do nematóide. No sétimo dia de exposição não ocorreu mortalidade das larvas na testemunha, mesmo tendo ocorrido uma pequena mortalidade em outros tratamentos, o que inviabilizou a

comparação em termos de porcentagem de redução de infectividade. A ausência de mortalidade na testemunha pode ter ocorrido pelo tempo de armazenamento desses nematóides na B.O.D. (sete dias); a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pode acelerar o processo de degeneração desses microrganismos, além da quantidade alta de nematóides por mL de água, 2.000-2.500 JI3/mL de água destilada, diminui a oxigenação. Assim, alguns nematóides poderiam ainda estar vivos, mas com a infectividade reduzida.

TABELA 6. Porcentagem de redução de infectividade (%) e classificação dos produtos fitossanitários recomendados para a cultura do cafeeiro, quanto à infectividade do nematóide entomopatogênico *Steinernema carpocapsae* para larvas de *Galleria mellonella*.

Tratamento	2 dias		5 dias	
	% ¹	Classificação	%	Classificação
imidaclopride	0	Compatível	0	Compatível
tiametoxam	0	Compatível	0	Compatível
dimetiluréia	0	Compatível	33,33	Compatível
pencicuron	25	Compatível	33,33	Compatível
quintozene	25	Compatível	33,33	Compatível
glifosato	25	Compatível	33,33	Compatível
azafenidina	25	Compatível	66,66	Incompatível
carbofuran	25	Compatível	0	Compatível
simazina + ametrina	25	Compatível	66,66	Incompatível
2,4-D	100	Incompatível	100	Incompatível
acetoclor	100	Incompatível	100	Incompatível
oxifluorfen	100	Incompatível	100	Incompatível

¹Segundo Vainio (1992) para porcentagens de redução de infectividade maiores que 50% considera-se o produto fitossanitário incompatível com o nematóide e menores que 50% como compatível.

A ocorrência de uma redução na patogenicidade de nematóides para larvas de *G. mellonella* também foi encontrada por Head et al. (2000) para o nematóide *S. carpocapsae*. Este foi misturado aos inseticidas abamectin, deltamethrin, dimethoate, heptenophos e trichlorfon e aplicado em condições de laboratório em larvas de *G. mellonella*. Os ensaios mostraram uma redução na patogenicidade do nematóide quando associado aos produtos químicos, ocorrendo um alto índice de sobrevivência das larvas.

Já Koppenhöfer & Kaya (1998) avaliaram os efeitos sinérgicos de aplicações combinadas de imidaclopride e juvenis infectivos de *H. bacteriophora* em larvas de terceiro instar de *Cyclocephala hirta* LeConte e *Cyclocephala pasadenae* (Coleoptera: Scarabaeidae), obtendo um aumento da mortalidade larval do uso combinado entre o inseticida e o nematóide, mostrando um efeito sinérgico entre esta combinação. Hara & Kaya (1983) também avaliaram o efeito dos produtos químicos mevinfós, fenamifós, trichlorfon, oxamil e metomil associados ao nematóide *S. carpocapsae*, em larvas de *Spodoptera exigua*, havendo uma diminuição da patogenicidade do nematóide às larvas deste inseto.

O protocolo utilizado para os testes de compatibilidade de produtos fitossanitários com nematóides teve a finalidade de padronizar esse tipo de bioensaio, permitindo uma comparação entre os resultados obtidos por diferentes grupos de pesquisa; porém, os resultados obtidos são expressos apenas em compatível (< 50%) e incompatível (> 50%), faltando um parâmetro mais conclusivo que permita uma comparação entre os tratamentos (Moino Jr. et al., 2002).

Com os resultados apresentados nesse trabalho, é possível destacar pontos importantes para o manejo integrado de pragas (MIP), como a diminuição no uso de produtos fitossanitários, já que em muitos casos ocorrem efeitos negativos sobre o meio ambiente, ou mesmo a associação destes produtos

com agentes de controle biológico, quando apresentado um sinergismo entre eles. Assim, é muito importante que seja feita uma avaliação criteriosa da influência dos produtos fitossanitários sobre o desenvolvimento de entomopatógenos.

6 CONCLUSÕES

1. Os produtos fitossanitários azafenidina, quintozene, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen afetam a germinação dos conídios de *Beauveria bassiana*.
2. Tiametoxam, imidaclopride, carbofuran e pencicuron são compatíveis e glifosato, dimetiluréia, azafenidina, quintozene, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen são incompatíveis com o fungo *Beauveria bassiana*, considerando os parâmetros crescimento vegetativo e esporulação.
3. Os herbicidas 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen diminuem a viabilidade do nematóide *Steinernema carpocapsae*; os demais produtos são considerados compatíveis.
4. A infectividade de *Steinernema carpocapsae* a larvas de *Galleria mellonella* é reduzida pelos herbicidas azafenidina, simazina + ametrina, 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. *Controle Microbiano de Insetos*. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 8, p. 217-238.
- ◊ BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxan on entomopathogenic microorganisms. *Neotropical Entomology*, Itabuna, v. 30, n. 3, p. 437-447, set. Sept. 2001.
- * CAVALCANTI, R. S. *Compatibilidade e seleção para resistência do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a produtos fitossanitários*. 2002. 82 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- GHINI, R.; KIMATI, H. *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 78 p.
- × GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B. de; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: Potencial for exploration and use in South America. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr./June 2001.
- ◊ HARA, A. H.; KAYA, H. K. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinemematidae). *Environmental Entomology*, Lanham, v. 12, n. 2, p. 496-501, Apr. 1983.
- ε 626
HEAD, J.; WALTERS, K. F. A.; LANGTON, S. Compatibility of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and chemical insecticides for the control of the south american leafminer, *Liriomyza huidobrensis*. *Biocontrol*, Dordrecht, v. 45, n. 3, p. 345-353, Sept. 2000.
- KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K. Synergism of imidacloprid and na entomopathogenic nematode: a novel approach to white grub (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*, Washington, v. 91, n. 3, p. 618-623, June 1998.

LOUREIRO, E. de S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. de. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 31, n. 2, p. 263-269, Apr./June 2002.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Agrofit*. Brasília, 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 25 out. 2002.

ABS 3 ⑥ MOINO JR., A.; ALVES, S. B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Itabuna, v. 27, n. 4, p. 611-619, dez. 1998.

MOINO JR., A.; LEITE, L. G.; AGUILLERA, M. M. Padronização de testes de compatibilidade *in vitro* de produtos fitossanitários com nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae). In CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Manaus. *Resumos...* Manaus: SEB, 2002. CD-ROM.

NO 6 ⑥ NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. *Neotropical Entomology*, Itabuna, v. 30, n. 2, p. 263-268, June 2001.

ROSENHEIM, J. A.; HOY, M. A. Intraspecific variation in levels of resistance in field populations of a parasitoid, *Aphis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae): the role of past selection pressures. *Journal of Economic Entomology*, Washington, v. 79, n. 5, p. 1161-1173, Oct. 1986.

ROVESTI, L.; DESEÕ, K. V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *Steinernema feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). *Nematologica*, Leiden, v. 36, n. 2, p. 237-245, Apr. 1990.

VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. *IOBC/WPRS Bulletin*, v. 15, p. 145-147, 1992.

ZIMMERMAN, R. J.; CRANSHAW, W. S. Compatibility of three entomogenous nematodes (Rhabditida) in aqueous solutions of pesticides used in turfgrass maintenance. *Journal of Economic Entomology*, Washington, v. 83, n. 1, p. 97-100, Feb. 1990.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, muitos são os produtos fitossanitários utilizados indiscriminadamente, tendo como consequência a resistência de muitos organismos a eles, o aumento de populações de pragas e de doenças no campo, a diminuição do potencial de controle de predadores, parasitóides e patógenos, os quais contaminam os alimentos, o homem, os animais, as reservas hídricas, ou seja, gerando graves desequilíbrios.

Os estudos para uso do controle microbiano de insetos têm se fortalecido atualmente, principalmente devido à maior procura pelo consumidor de um produto orgânico, que é livre do uso de produtos fitossanitários.

Nesse trabalho, foram apresentados resultados importantes que podem ser destacados principalmente para o uso desses produtos no manejo integrado de pragas, como a diminuição no uso de produtos fitossanitários, ou mesmo a associação destes produtos com agentes de controle biológico, como fungos e nematóides, quando apresentado um sinergismo entre eles. No entanto, mais estudos seguindo essa linha devem ser realizados, principalmente para se ter um maior embasamento quando forem usadas estratégias de controle integrado.

Desta forma, mostra-se a importância de continuação deste trabalho, realizando, além de testes em laboratório, testes em semi-campo e campo, a fim de se ter uma maior aproximação das condições reais de interação entre todos os organismos e produtos testados, bem como com relação à eficiência em condições de campo dos isolados/espécies de fungos e nematóides selecionados.

