

**ASPECTOS DA BIOLOGIA DE *DYSMICOCCUS TEXENSIS* (TINSLEY)  
(HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE) E SEU CONTROLE COM  
NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

**VIVIANE SANDRA ALVES**

**2006**

**VIVIANE SANDRA ALVES**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA DE *DYSMICOCCUS TEXENSIS* (TINSLEY)  
(HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE) E SEU CONTROLE COM  
NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

Tese 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 obtenção do título de “Doutor”.

**Orientador**  
**Prof. Dr. Alcides Moino Junior**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**  
**2006**

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

Alves, Viviane Sandra

Aspectos da biologia de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera:  
Pseudococcidae) e seu controle com nematóides entomopatogênicos / Viviane  
Sandra Alves. – Lavras : UFLA, 2006.

110 p. : il.

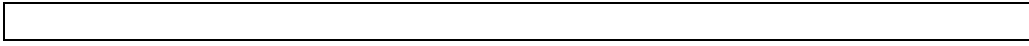
Orientador: Alcides Moino Junior.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro. 2. Biologia. 3. Controle. 4. Nematóide  
entomopatogênico. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-595.754



**VIVIANE SANDRA ALVES**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA DE *DYSMICOCCLUS TEXENSIS* (TINSLEY)  
(HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE) E SEU CONTROLE COM  
NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS**

Tese 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 obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 22 de setembro de 2006

<b>Prof. Dr. Pedro Manuel O. J. Neves</b>	<b>UEL</b>
<b>Dra. Lenira Viana Costa Santa-Cecília</b>	<b>EPAMIG</b>
<b>Prof. Dr. Jair Campos de Moraes</b>	<b>UFLA</b>
<b>Prof. Dr. Luis Cláudio Paterno Silveira</b>	<b>UFLA</b>

**Prof. Dr. Alcides Moino Junior**  
**UFLA**  
**(Orientador)**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**

**“Algumas pessoas passam em nossas vidas e deixam muito de si. Outras, passam e levam muito da gente.”**

Aos amigos de ontem, hoje e principalmente aos que serão sempre!

Ane, Milena, Danila e Fabricia!

Porque os grandes amigos ficam pra sempre, mesmo que não estejam perto da gente!!!

**OFEREÇO**

**Família ê, Família a... Família!!!**

Aos meus pais, Luis e Celestina, pelo apoio incondicional, respeito, confiança e por todas as lições de vida e amor que me ajudaram a ser quem sou...

Aos meus irmãos, Adriani e Alex, pela força, carinho e admiração...

Amo muito vocês!!!

**DEDICO**

**“Diante da imensidão do tempo e do espaço que existe no mundo, é bom saber que Deus me colocou ao seu lado no mesmo local e na mesma fração da existência.”**

Ao Fabio, pela compreensão na ausência, apoio no desânimo e esperança de que dias melhores estavam por vir...

E como valeu a pena esperar!

Obrigada por me amar e por fazer parte da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Alcides Moino Junior pela orientação, apoio, confiança, paciência e principalmente pela amizade.

À pesquisadora Lenira Viana Costa Santa-Cecilia da EPAMIG, pelos esclarecimentos, conselhos e apoio nos momentos difíceis, não me deixando desanimar.

Ao pesquisador Julio César de Souza da EPAMIG, pela ajuda e incentivo.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, pela ajuda, dedicação e atenção disponibilizados durante toda a execução do trabalho.

Ao Consórcio Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras – CBP&D-Café, pelo suporte financeiro do projeto.

Às amigas de turma Fabricia e Danila, por todas as noites compartilhadas estudando fisiologia, fazendo terapia de grupo e lembrando de casa e dos nossos amores distantes.

Às amigas, Milena e Danila, pela boa convivência, pelos incansáveis conselhos, pelas festas e pela grande amizade.

Aos amigos do Laboratório de Patologia de Insetos: Vanessa, Gisele, Ricardo, Grazielle e Juan Pablo, pela boa convivência, experiências trocadas e pela ajuda sem a qual este trabalho não estaria concluído.

À Cris e Marco Aurélio, que, além da ajuda nos trabalhos, foram amigos constantes, ouvindo, dando conselhos... valeu mesmo!

Às amigas Thais, Vanvan e Patrícia, pelos bons momentos de convivência.

A minha família pelo apoio constante, incentivo, confiança e certeza de que sempre estiveram comigo. Vocês foram e sempre serão meu forte.

Ao amado Fabio pelo companheirismo, amizade, por acreditar no meu sonho e ser capaz de sonhar comigo. Por todo o amor de sempre e principalmente pelo de hoje.

À professora Urânia, por despertar em mim o interesse pela biologia e a capacidade de sonhar com o mundo da ciência; Por ensinar a melhor de todas as lições que aprendi: a importância de ser apaixonada pelo que faço.

Ao professor Luis Alves, pela amizade, pelo incentivo e por proporcionar que o mundo da ciência fosse realidade em minha vida.

Aos amigos do departamento de Entomologia e aos companheiros de turma.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

E por último, mas não com menor importância, a Deus por permitir que tudo isso acontecesse e por colocar todos vocês em minha vida.

**“Todos aqueles que se tornaram grandes cientistas, antes foram chamados de loucos”**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	1
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	4
<b>COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA 1</b> .....	6
Biologia da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro <i>Dysmicoccus texensis</i> (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) usando broto de batata ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) como substrato de alimentação .....	6
Abstract .....	8
Resumo .....	9
Criação de <i>Dysmicoccus texensis</i> .....	12
Biologia de <i>Dysmicoccus texensis</i> .....	13
Biologia de <i>Dysmicoccus texensis</i> .....	14
Referências Bibliográficas .....	19
<b>ARTIGO 2</b> .....	24
Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos à Cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro <i>Dysmicoccus texensis</i> (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório .....	24
Abstract .....	26
Resumo .....	28
Material e Métodos .....	32
Criação de <i>Dysmicoccus texensis</i> .....	32
Obtenção de isolados de nematóides .....	32
Seleção de isolados .....	35

Concentração Letal Máxima (CL <sub>99</sub> ) .....	36
Eficiência dos isolados sobre criptas.....	37
Resultados e Discussão .....	38
Seleção de isolados.....	38
Estimativa da Concentração Letal Máxima (CL <sub>99</sub> ) .....	42
Avaliação de patogenicidade a criptas .....	43
Referências Bibliográficas .....	46
<b>ARTIGO 3</b> .....	55
Deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae) na busca por <i>Dysmicoccus texensis</i> (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório e casa-de-vegetação .....	55
Abstract .....	57
Resumo .....	59
Material e Métodos.....	63
Criação de <i>Dysmicoccus texensis</i> .....	63
Obtenção de isolados de nematóides.....	63
Deslocamento em coluna de areia (Teste em Laboratório).....	64
Deslocamento em coluna de solo (teste em casa-de-vegetação).....	65
Resultados e Discussão .....	67
Deslocamento na coluna de areia .....	67
Deslocamento em coluna de solo .....	68
Referências Bibliográficas .....	74
<b>ARTIGO 4</b> .....	84
Testes em condições de casa-de-vegetação e campo para o controle de <i>Dysmicoccus texensis</i> (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro	

com nematóides entomopatogênicos do gênero <i>Heterorhabditis</i> (Rhabditida: Heterorhabditidae).....	84
Abstract .....	86
Resumo .....	88
Material e Métodos.....	92
Testes em casa-de-vegetação.....	92
Testes em campo .....	93
Resultados e Discussão .....	95
Testes em casa-de-vegetação.....	95
Testes em campo .....	97
Referências Bibliográficas .....	102
<b>Considerações Finais</b> .....	<b>110</b>

## RESUMO

ALVES, Viviane Sandra. **Aspectos da biologia de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) e seu controle com nematóides entomopatogênicos.** 2006. 110 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae), é uma praga de grande importância para esta cultura. Os danos ocorrem nas raízes da planta onde, devido à constante sucção da seiva e à instalação das colônias de insetos, são formadas as criptas ou “pipocas”, que impedem a absorção de água e nutrientes pela raiz, levando ao enfraquecimento das plantas e causando conseqüentes perdas na produção. Informações quanto à biologia e hábitos do inseto, bem como métodos de controle adequados, são bastante escassas, dificultando a instalação de programas de manejo. Assim, este trabalho objetivou avaliar a biologia do inseto, bem como testar, em condições de laboratório, casa-de-vegetação e campo, o uso de nematóides entomopatogênicos (NEPs) para o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro. A biologia do inseto foi feita sobre brotos de batata (*Solanum tuberosum* L.) da variedade Ágata, em câmara climatizada, com temperatura de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ , sem fotofase e com umidade relativa de  $70\pm 10\%$ . Foram feitas 52 repetições, sendo que cada repetição (parcela) consistiu de um broto de batata com duas ninfas de um dia de idade, acondicionadas em placa do tipo ELISA de 24 cavidades, com avaliação diária. Foi também realizado teste de seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos, estimativa da concentração letal máxima ( $CL_{99}$ ) e patogenicidade a criptas coletadas no campo, bem como a capacidade de deslocamento vertical dos nematóides em coluna de areia e solo. Foram ainda realizados testes de eficiência dos NEPs, em condições de casa-de-vegetação e campo. Quanto à biologia, os resultados demonstram que a duração média da fase ninfal foi de 29,45 dias e a fase adulta foi de 31,06 dias, totalizando aproximadamente 60 dias de ciclo de vida. Os isolados *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM3 foram os que apresentaram maior virulência, alcançando valores máximos de mortalidade de 100 e 80,9% respectivamente, na maior concentração testada (100 Juvenis Infectivos (JIs)/inseto). A  $CL_{99}$  estimada foi de 530 JIs/placa para CCA e 560 JIs/placa para JPM3. Quanto ao deslocamento vertical, para o experimento de coluna de areia, não houve diferença entre os isolados avaliados, sendo que ambos alcançaram valor de 92% de mortalidade. No experimento de deslocamento em coluna de solo, observou-

---

<sup>1</sup> Orientador: Alcides Moino Junior - UFLA

se que JPM3 aplicado em suspensão aquosa foi o melhor tratamento, em quase todas as profundidades avaliadas. Os resultados dos testes de casa-de-vegetação e campo também apontaram o isolado JPM3 aplicado em suspensão aquosa como o melhor tratamento, apresentando eficiência de controle de 70% em casa-de-vegetação e 65% de eficiência de controle em condições de campo.

## ABSTRACT

ALVES, Viviane Sandra. **Biologics aspects of *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) and their control with entomopathogenic nematodes.** 2006. 110 p. Tese (Doctor in Entomology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.<sup>2</sup>

The coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) is a pest of great importance to this crop. Damage occurs on plant roots where crypts or “pop corns” are formed due to intense sucking and fixing of insect colonies, preventing water and nutrients absorption, weakening the plants and resulting in losses in yield. Informations on biology and behavior of the insects, and adequate control methods are scarce, making the application of management methods. Thus, this work has the objective of evaluate the insect biology and this susceptibility to the entomopathogenic nematodes in laboratory, green-house and field conditions. The studies on biological aspects of the immature stage of *D. texensis* were carried out in climatic chambers at  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  RH in darkness, using Agata variety potato sprouts as feeding substrate. There were 52 replicates (plots), each one consisting of a dip on an Elisa plate with a potato sprout with two one-day old nymphs, which were daily evaluated. A selection test of EPN isolates, maximum lethal concentration ( $CL_{99}$ ) and pathogenicity to crypts in the field collected was carried out as well as vertical displacement capacity of nematodes in sand and soil columns. Efficiency tests of EPNs were also conducted under semi-field and field conditions. Biology, results demonstrate that mean nymphal phase duration was of 29.45 days, and 31.06 days for the adult phase, totaling approximately 60 days of life cycle. The highest virulence was found in *Heterorhabditis* sp. CCA and *Heterorhabditis* sp. JPM3, reaching maximum mortality values of 100 and 80.9% respectively, on the highest concentration tested (100 infectant juveniles (IJs)/insect). The estimated  $CL_{99}$  was 530 IJs/dish for CCA and 560 IJs/dish for JPM3. For the vertical displacement, no difference was found on sand column for the evaluated isolates, with both reaching 92% mortality. For the soil column test, aqueous suspension of JPM3 was the best treatment on almost all depths evaluated. Results of green-house and field tests also demonstrated that the JMP3 isolate

---

<sup>2</sup> Orientador: Alcides Moino Junior - UFLA

applied in aqueous suspension was the best treatment, with 70% efficiency in greenhouse and 65% under field conditions.

## INTRODUÇÃO GERAL

O café pertence ao gênero *Coffea* da família Rubiaceae. Dentre as espécies cultivadas, destacam-se *Coffea arabica* L., conhecida como café Arábica, e *Coffea canephora* Pierre & Froehner, conhecida como café Conilon ou Robusta. O café Arábica é originário das florestas subtropicais da região serrana da Etiópia e se adequa ao clima tropical de altitude, correspondendo a aproximadamente 80% do café cultivado no Brasil. Já o café Robusta é originário das regiões equatoriais baixas, quentes e úmidas do Congo e adapta-se melhor a regiões baixas, protegidas de ventos, sendo portanto menos adaptado às regiões tropicais brasileiras e por isso menos cultivado (aproximadamente 20% do café cultivado no Brasil) (Melo et al., 1998).

O Brasil é o maior produtor e exportador de café, sendo responsável por mais de 30% da produção mundial, seguido pela Colômbia e Indonésia. Para a safra de 2006/2007 são estimadas 43,581 mil sacas de café beneficiado, sendo que destas, aproximadamente, 19 mil sacas serão produzidas no estado de Minas Gerais. O restante da produção nacional está distribuída nos estados do Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia, Rondônia e Rio de Janeiro (Agrianual, 2006; Nogueira, 2003; Prado & Nascimento, 2003).

Segundo pesquisa da CONAB, a safra de 2006, quando comparada à safra de 2004/2005, teve um acréscimo de 2,68%. Entretanto, apesar do incremento na produção e das boas perspectivas de mercado, é necessário que a sustentabilidade da cultura seja mantida, ou seja, que a produtividade seja aumentada sem agressão ao meio ambiente, de maneira a se obter um produto de qualidade sem afetar o bem estar da sociedade. Fatores como o uso de variedades melhoradas, manejo adequado da terra, do suprimento de água e

nutrientes e aplicação do MIP (Manejo Integrado de Pragas) são as chaves para o sucesso na produção (Zambolim, 2000).

A cultura do café hospeda inúmeras espécies de insetos e ácaros, sendo que algumas delas são de importância econômica, por causarem danos significativos, levando a perdas na produção.

Entre as principais pragas, estão as cochonilhas que atacam a parte aérea e também as raízes do cafeeiro. A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, também conhecida como cochonilha-farinheira, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley), tem se tornado um sério problema em quase todos os estados onde a cultura está presente. Os prejuízos ocorrem devido à contínua sucção de seiva, que leva ao enfraquecimento da planta e conseqüentes perdas na produção. A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro vive nas raízes, formando nodosidades, provocando amarelecimento e queda das folhas, podendo levar a planta à morte. As raízes atacadas apresentam nódulos, criptas ou “pipocas” devido à instalação da colônia. O sistema radicular da planta fica tomado pela cochonilha e pelo fungo *Bornetina*, impedindo a absorção de água e nutrientes (Santa-Cecília et al., 2000; Souza & Ribeiro, 2003). Um agravante do ataque dessa cochonilha é que as plantas só apresentam sintomas de ataque quando quase todo o sistema radicular foi afetado.

Ainda se conhece muito pouco a respeito dessa praga e dados sobre sua biologia e métodos alternativos de controle são escassos. O método mais utilizado é o controle químico, com o uso de produtos neonicotinóides (Santa-Cecília et al., 2005).

O uso de nematóides pode ser viável, pois o ambiente ocupado pela cochonilha é bastante semelhante ao exigido pelos nematóides entomopatogênicos. Andaló et al. (2004), em trabalho realizado para seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para o controle de *D. texensis*, observaram que os nematóides são mais virulentos que os fungos,

alcançando valores de até 78% de mortalidade, enquanto que os fungos alcançaram valor máximo de 62% de mortalidade.

Na estratégia de utilização desses organismos, como agentes no controle de *D. texensis*, é necessário obter informações sobre o ciclo de vida do inseto, para adoção de técnicas de controle adequadas e, posteriormente, a realização de seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos, em condições de laboratório e com potencial de controle em condições de casa-de-vegetação e campo.

Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a biologia de *D. texensis* e o potencial de nematóides entomopatogênicos, como agentes de controle para este inseto em condições de laboratório, casa-de-vegetação e campo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL. **FNP: Produtos e Serviços > Anuários**. Disponível em: <<http://www.agrafnp.com.br/prodserv/anuarios/agrianual.php?PHPSESSID=33a7a6483598757bb7c66af8d83dfca9>>. Acesso em: 15 mar. 2006.
- ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos pra a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 181-187, abr./jun. 2004.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Indicadores da agropecuária**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php>>. Acesso em: 15 mar. 2006.
- MELLO, B. de; BARTHOLO, G. F.; MENDES, A. N. G. Café: variedades e cultivares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 193, p. 92-96, 1998.
- NOGUEIRA, A.M. **Características fenológicas e de produtividade de linhagens das cultivares Catuaí vermelho e amarelo de *Coffea arabica* L. plantadas individualmente ou em combinação**. 2003. 50 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- PRADO, R. M.; NASCIMENTO, V. M. **Manejo da adubação do cafeeiro no Brasil**. Ilha Solteira: UNESP/FEIS, 2003. 273 p.
- SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUSA, J. C.; REIS, P. R. **Novas constatações da cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus criptus* em lavouras de café no sul de Minas Gerais**. Lavras: EPAMIG, 2000. 2 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 130).
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; PRADO, E.; SOUZA, J. C.; FORNAZIER, M. J. **Cochonilhas-farinentas em cafeeiros: reconhecimento e controle**. Lavras: EPAMIG, 2005. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 189).
- SOUZA, J. C.; RIBEIRO, J. A. **Cochonilha-da-raiz: cafeicultor, conheça e saiba como controlar esta praga com inseticidas neonicotinóides**. Lavras: EPAMIG, 2003. 3 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 162).

ZAMBOLIM, L. Manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Summa  
Phytopathologica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 152-153, jan./mar. 2000.

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA 1

Biologia da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis*  
(Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) usando broto de batata (*Solanum  
tuberosum* L.) como substrato de alimentação  
(Preparado de acordo com as normas da revista “Neotropical  
Entomology”)

VIVIANE S. ALVES<sup>1</sup>

ALCIDES MOINO JUNIOR<sup>1</sup>

LENIRA V. C. SANTA-CECILIA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Departamento de Entomologia, CP 30,  
CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Epamig-CTSM/EcoCentro, Lavras, MG, Brasil.

Biologia da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis*  
(Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) usando broto de batata (*Solanum*  
*tuberosum* L.) como substrato de alimentação

Biology of the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* (Tinsley)  
(Hemiptera: Pseudococcidae) on potato sprout (*Solanum tuberosum* L.) as  
feeding substrate

**ABSTRACT**

This work has the objective studies on biological aspects of *D. texensis* using potato sprouts as feeding substrate. There were 52 replicates (plots), each one consisting of a dip on an ELISA plate with a potato sprout with two one-day old nymphs, which were daily evaluated. The study revealed that mean nymphal stage duration was of 29.45 days, with 12.82 days for the first, 8.53 for the second and 8.1 days for the third instar, and 31.06 days for the adult stage. Mortality was of 32.7, 18.6 and 14.0% for the first, second and third instars, respectively.

**Keywords:** *Dysmicoccus texensis*, coffee pests, biology, mealybugs.

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar os aspectos biológicos da fase imatura de *D. texensis*, usando como substrato de alimentação brotos de batata (*Solanum tuberosum* L.), na temperatura de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ , no escuro e com U.R. de  $70\pm 10\%$ . Foram feitas 52 repetições, contendo duas ninfas de um dia de idade cada. A duração média da fase ninfal foi de 29,45 dias. O primeiro, segundo e terceiro ínstar tiveram duração média de 12,82; 8,53 e 8,1 dias respectivamente. A fase adulta foi de 31,06 dias. A mortalidade foi de 32,7 % no primeiro ínstar, 18,6 % no segundo e 14 % no terceiro.

**Palavras-chave:** *Dysmicoccus texensis*, pragas do café, biologia, cochonilhas.

Registros da ocorrência de pseudococcídeos em raiz de cafeeiro no Brasil foram feitos por Hempel (1918), que verificou tratar-se da espécie *Pseudococcus cryptus* Hempel. Posteriormente, Silva et al. (1968) catalogaram esta espécie como *Planococcus cryptus* (Hempel). Williams (1970) descreveu novamente a espécie *cryptus*, colocando-a no gênero *Dysmicoccus*, sendo, porém, a correta identificação *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (= *bispinosus* Bearsley) (Miller & Polavarapu, 1997; Williams & Granara de Willink, 1992). Em trabalho de Santa-Cecília et al. (2002), os autores relatam a ocorrência de *D. texensis* (Tinsley), que foi identificada a partir de material enviado para especialistas na área, ocorrendo no Brasil em *Coffea* spp. (Rubiaceae) e *Trifolium* sp (Fabaceae).

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *D. texensis* (Hemiptera: Pseudococcidae) é uma praga de grande importância para essa cultura, devido aos danos decorrentes de sua alimentação, que levam ao enfraquecimento das plantas, causando conseqüentes perdas na produção (Santa-Cecília et al., 2000). O que a destaca em relação a outras pragas é que o cafeeiro apresenta sintomas de ataque, quando quase todo o seu sistema radicular foi afetado. Sua localização no subsolo dentro das

criptas prejudica a ação de inimigos naturais e de produtos químicos, dificultando a adoção de medidas de controle (Santa-Cecília et al., 2002).

As fêmeas adultas de *D. texensis* são ápteras e apresentam o corpo em formato ovalado, com a cabeça e tórax fundidos, coloração rosada, recoberto com cerosidade branca, finamente granulada, o que lhes confere o aspecto de haverem sido polvilhadas com farinha. Possuem apêndices filamentosos ao redor do corpo, em número de 34, com 17 de cada lado, sendo os dois posteriores mais longos. As ninfas são menores, mais ágeis e com menor quantidade de cerocidade sobre o corpo (Nakano, 1972; Souza & Ribeiro, 2003).

Atualmente, existem registros da ocorrência desse inseto em quase todos os estados brasileiros produtores de café, tornando preocupante a situação dos produtores. Relatos foram feitos nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná. Entre os agravantes desta situação, está a falta de conhecimentos sobre a biologia e caracterização dos hábitos e danos da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro (Santa-Cecilia et al., 2005).

Dados referentes à biologia desse inseto são escassos, dificultando a adoção de medidas de controle, bem como a previsão de ocorrência do

inseto. Este tipo de informação é imprescindível na adoção de métodos de controle, principalmente do controle biológico.

Assim, este trabalho objetivou o estudo da biologia da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro usando broto de batata (*Solanum tuberosum* L.) como substrato de alimentação de acordo com a metodologia de Nakano & Lima, 1968.

#### **Criação de *Dysmicoccus texensis***

A criação de *D. texensis* foi conduzida no laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras - UFLA, em Lavras no Campus da UFLA.

Como substrato para criação das cochonilhas foram utilizadas abóboras do tipo moranga, variedade “Cabotcha”.

Para infestação de novas abóboras, pedaços de uma abóbora já infestada foram colocados sobre as novas, esperando pela passagem das ninfas e adultos da cochonilha. Assim que a infestação ocorria, os pedaços eram retirados para evitar a contaminação com fungos.

Os frutos infestados permaneceram em condições controladas de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e no escuro, em câmara climática.

### **Biologia de *Dysmicoccus texensis***

A biologia de *D. texensis* foi avaliada usando, como substrato de alimentação, broto de batata (*Solanum tuberosum* L.) var. Ágata, conforme metodologia de Nakano & Lima, 1968. Para montagem do experimento, fêmeas adultas da cochonilha foram transferidas com auxílio de um pincel para uma nova abóbora cortada ao meio, disposta em um prato de vaso e mantida em câmara climática a  $27\pm 1$  °C, com umidade relativa de  $70\pm 10$  % no escuro e foi feita a verificação diária até a eclosão de ninfas. As ninfas de um dia foram transferidas duas a duas para os brotos de batata colocados dentro de placas do tipo ELISA, com 24 cavidades (cavidade de 1,5 cm de diâmetro por 1,5 cm de altura) (Fig. 1). Cada broto recebeu 2 ninfas (parcela). A placa foi vedada com filme de PVC, perfurado com um alfinete. Foi realizada a substituição dos brotos semanalmente, colocando-se um novo sobre o velho, e, assim que a ninfa passava para o novo, o velho era retirado. A avaliação para verificação da ocorrência de ecdises foi diária, sendo anotado o número de ecdises/dia e a retirada das exúvias com auxílio de pincel.

O experimento constou de 52 repetições, sendo cada parcela composta por um broto de batata com 2 ninfas.

Foram avaliados o número e a duração dos ínstars, a duração total da fase ninfal, mortalidade nos diferentes ínstars (número de insetos que sobreviveram ao respectivo ínstar) e a longevidade dos adultos.

### **Biologia de *Dysmicoccus texensis***

Não houve ocorrência de indivíduos machos, sendo descrito apenas o desenvolvimento das fêmeas.

#### **1º Ínstar**

A duração média do primeiro ínstar foi de 12,82 dias (Tabela 1). Nakano (1972) avaliando a biologia de *Dysmicoccus cryptus* (Hempel, 1918) (Hemiptera: Pseudococcidae), obteve duração de 11,95 dias a 25 °C, assim como Menezes (1973) encontrou dados semelhantes para *Dysmicoccus brevipes* (Cokerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae) (14,68 dias). Já Garcia et al. (1992) obtiveram duração de 12,6 dias a 25° para *D. cryptus*. Dados semelhantes foram encontrados por Colen et al. (2000), onde a duração do primeiro ínstar de *D. brevipes* a 25° foi 12,7 dias.

#### **2º Ínstar**

A duração média do segundo ínstar de *D. texensis* foi de 8,53 dias (Tabela 1). Esses dados são bastante semelhantes aos encontrados por

Garcia et al. (1992) para *D. cryptus* (8,9 dias a 25°C). Por outro lado, Nakano (1972) obteve duração de 10,3 dias para este mesmo inseto com temperatura de 25 °C e U.R. de 50±10. Para *D. brevipes*, a duração do segundo ínstar é 12,4 dias quando avaliada a 25° C, porém, em temperatura mais elevada (30° C), a duração deste ínstar diminui para 7,9 dias (Colen et al., 2000). Desta forma, é possível observar que *D. texensis* tem desenvolvimento mais rápido, mesmo em temperatura mais amena.

### **3º Ínstar**

A duração média do terceiro ínstar foi de 8,1 dias (Tabela 1). Testes realizados com *D. cryptus* (Nakano, 1972) a 25° C mostraram que o terceiro ínstar destes insetos teve duração de 11,65 dias. Já Garcia et al. (1992) obtiveram duração de 9,1 dias a 25 °C. Ainda Colen et al. (2000), trabalhando com *D. brevipes*, mostraram que a duração do terceiro ínstar desses insetos foi de 12,7 dias a 25° C.

### **Período ninfal**

A duração total do período ninfal foi de 29,45 dias (Tabela 1). Estes dados são semelhantes aos encontrados por Garcia et al. (1992) para *D. cryptus*, onde a duração do período ninfal a 25°C foi de 30,6 dias. Outros pseudococcídeos, como *D. brevipes*, apresentam fase ninfal mais

longa, chegando a até 58 dias (Colen et al., 2000). A duração da fase ninfal pode variar em função das condições climáticas apresentadas. Trabalhos, avaliando a duração da fase ninfal em diferentes temperaturas e com diferentes substratos de alimentação, demonstram que a duração de cada ínstar é afetada, quando estas condições não são adequadas (Colen et al., 2000; Garcia et al., 1992; Ghose, 1983; Santa-Cecília et al., 1992).

Para a maioria dos pseudococcídeos, as fêmeas apresentam três instares, enquanto que os machos passam por quatro, sendo que a partir do 2º ínstar esses constroem um casulo de filamentos cerosos, onde passam o 3º e o 4º instares, até atingirem a fase adulta (Colen et al., 2000). Entretanto, neste experimento não foram observados machos, sendo possível descrever apenas o desenvolvimento das fêmeas.

Os dados observados apresentam concordância com o referencial teórico, indicando que a duração da fase ninfal de *D. texensis* é bastante semelhante à apresentada por outros pseudococcídeos.

As condições climáticas, nas quais o experimento foi conduzido foram determinadas a partir da bibliografia estudada e também de observações práticas, durante a condução dos experimentos. De acordo com os resultados, as mesmas parecem ser adequadas, uma vez que o

desenvolvimento dos insetos foi compatível ao encontrado por outros autores.

### **Adultos**

Após a última ecdise, a duração média dos insetos na fase adulta foi de 31,06 dias, totalizando aproximadamente 60,51 dias de ciclo de vida.

Algumas fêmeas chegaram a ovipositar, sendo que o número máximo de ovos por fêmea foi de 32 ovos, ovipositados num período de até 81 dias.

Garcia et al. (1992) obtiveram dados semelhantes para *D. cryptus*, onde a 25° C os insetos apresentaram ciclo vital de 53,5 dias.

### **Mortalidade**

Quanto a dados de sobrevivência em cada ínstar, é possível observar que, à medida que o inseto se desenvolve, o índice de mortalidade diminui. Assim, o primeiro ínstar foi o que apresentou maior mortalidade (32,7%), seguido do segundo (18,6%) e depois pelo terceiro ínstar (14%).

Uma possível explicação para a maior mortalidade no primeiro ínstar é que, fisiologicamente e morfológicamente, os insetos são mais

frágeis quando mais jovens, pois apresentam o corpo coberto por pouca cerosidade, o que os torna mais susceptíveis aos fatores ambientais, mesmo quando estes são sobremaneira controlados.

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *D. texensis* apresentou ciclo de vida semelhante ao relatado por Garcia et al. (1992) e Nakano (1972) para *D. cryptus* em condições semelhantes. Desta forma, este trabalho complementa cientificamente o trabalho de Santa-Cecília et al. (2002), onde os autores afirmam que *D. texensis* é a nova classificação adotada para *D. cryptus*.

Além disso, este trabalho vem auxiliar no conhecimento do ciclo de vida da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, bem como facilitar a adoção de medidas adequadas de controle, visando diminuir os danos e prejuízos que este inseto vem causando.

## Referências Bibliográficas

COLEN, K. G. F.; SANTA-CECILIA, L. C. V.; MORAES, J. C.; REIS, P. R. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a biologia da cochonilha pulverulenta *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 248-252, ago. 2000.

GARCIA, A.; ALAUZET, C.; DECAZY, B. Biologie de la cochenille racinaire du caféier *Dysmicoccus cryptus* (Hempel) (Homoptera, Pseudococcidae). **Café Cacao Thé**, Paris, v. 36, n. 1, p. 35-44, jan./mar. 1992.

GHOSE, S. K. Biology of parthenogenetic race of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) (Pseudococcidae, Homoptera) pineapple mealybug. **The Indian Journal Agricultural Sciences**, New Delhi, v. 53, n. 2, p. 939-942, Feb. 1983.

HEMPEL, A. Descrição de sete novas espécies de coccídeos. **Revista do Museu Paulista**, São Paulo, v. 10, p. 193-208, 1918.

MENEZES, E. B. **Bioecologia e controle da cochonilha farinhosa do abacaxi *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) Ferris, 1950 (Homoptera: Pseudococcidae)**. 1973. 77 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MILLER, D. R.; POLAVARAPU, S. A new species of mealybugs in the genus *Dysmicoccus* (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) of importance in highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, Ericaceae) in the Eastern United States. **Proceedings of the Entomological Society**. Washington, v. 99, n. 3, p. 440-460, July 1997.

NAKANO, O. **O estudo da cochonilha da raiz do cafeeiro, *Dysmicoccus cryptus* (Hempel, 1918) comb.n. (Homoptera:**

**Pseudococcidae**). 1972. 130 p. Tese (Livre Docente) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba:

NAKANO, O.; LIMA, N.P. Contribuição ao estudo de *Pseudococcus* sp. da raiz do cafeeiro. **Anais da Reunião da Sociedade Brasileira de Entomologia**. p.60, 1968.

SANTA-CECILIA, 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 Brasileira**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 135-145, 1992.

SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUSA, J. C.; REIS, P. R. **Novas constatações da cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus criptus* em lavouras de café no sul de Minas Gerais**. Lavras: EPAMIG, 2000. 2 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 130).

SANTA-CECILIA, L. V. C.; REIS, P. R.; SOUZA, J. C. Sobre a nomenclatura das espécies de cochonilhas-farinhentas 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.; SOUZA, B.; PRADO, E.; SOUZA, J. C.; FORNAZIER, M. J. **Cochonilhas-Farinhentas em cafeeiros: reconhecimento e controle**. Lavras: EPAMIG, 2005. 4 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 189).

SILVA, A. G. A.; GONSALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONSALVES, A. J. L.; GOMES, J.; SILVA, M. do N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968. Part. 2, 622 p.

WILLIAMS, D. J.; GRANARA DE WILLINK, M. C. **Mealybug of Central and South América**. CABI, 1992. 629 p.

WILLIAMS, D. J. The mealybugs (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae) of sugar cane, rice and sorghum. **Bulletin Entomological Research**, Wallington, v. 60, n. 1, p. 109-188, Aug. 1970.

Tabela 1. Duração dos instares, período ninfal, fase adulta e porcentagem de mortalidade da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* em brotos de batata da variedade. Ágata conduzido em câmara climática a  $27\pm 1$  °C, umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e no escuro.

	<b>1º Ínstar</b>	<b>2º Ínstar</b>	<b>3º Ínstar</b>	<b>Período Ninfal</b>	<b>Adulto</b>
Duração	12,82 $\pm$ 3,61	8,53 $\pm$ 3,70	8,1 $\pm$ 1,70	29,45	31,06 $\pm$ 13,2
(n <sup>1</sup> )	104	70	57	49	29
Mortalidade	32,7%	18,6	14%	40%	-
(n <sup>2</sup> )	34	13	8	20	-

n<sup>1</sup> = número de insetos vivos em cada ínstar

n<sup>2</sup> = número de insetos mortos em cada ínstar

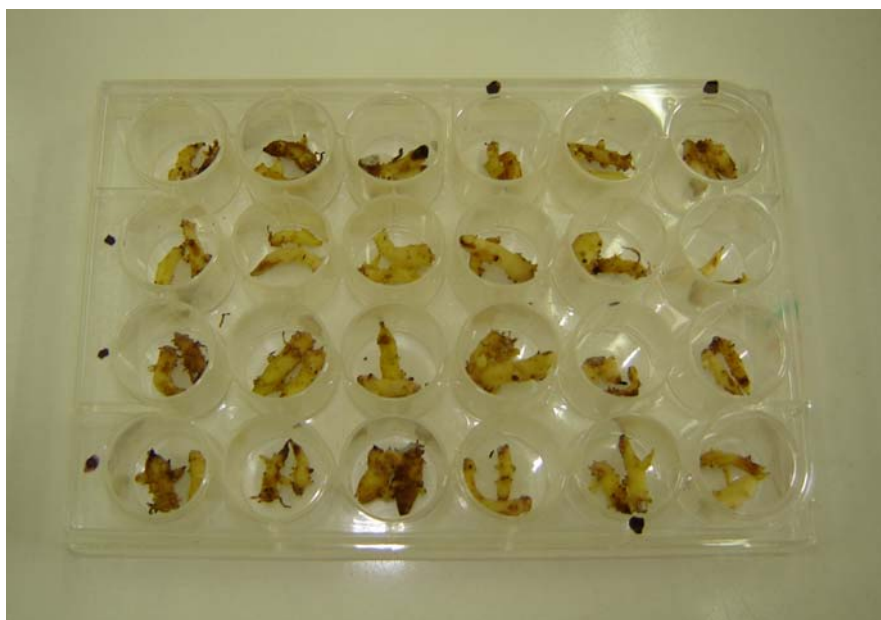


Figura 1. Placa do tipo ELISA com brotos de batata utilizada na biologia de *D. texensis*.

## ARTIGO 2

Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae)

em laboratório

(Preparado de acordo com as normas da revista “Neotropical Entomology”)

VIVIANE S. ALVES<sup>1</sup>

ALCIDES MOINO JUNIOR<sup>1</sup>

LENIRA V. C. SANTA-CECILIA<sup>2</sup>

VANESSA ANDALÓ<sup>1</sup>

GISELE C. SOUZA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Departamento de Entomologia, CP 30, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Epamig-CTSM/EcoCentro, Lavras, MG, Brasil.

Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos à cochonilha-da-raiz-  
do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae)  
em laboratório

Entomopathogenic nematodes pathogenicity to coffee root  
mealybug *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae)  
under laboratory

**ABSTRACT**

Coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) attacks coffee plant roots and may cause heavy damage to the crop that resulting losses. Entomopathogenic nematodes are efficient control agents of pests with potential suggest efficiency for control of coffee root mealybug. So this study aimed to evaluate the pathogenicity tests with eleven isolates of Steinernematidae and Heterorhabditidae, and the estimation of maximum lethal concentration ( $C_{99}$ ) were carried out under laboratory conditions. Petri dishes containing 20g of sand and one potato sprout with ten adult females were used on both experiments. The sprouts were dipped into the sand, the nematode suspension poured over them using a pipette and evaluations made five days after. Pathogenicity tests on field collected crypts were also conducted. The highest virulence was found in *Heterorhabditis* sp. CCA, *H. bacteriophora*, *Heterorhabditis* sp. JPM3 1 and *Heterorhabditis* sp. JPM3, reaching maximum mortality values of

100, 94, 93.6 and 80.9%, respectively on the highest concentration tested (100 infectant juveniles (IJs)/insect). The estimated CL<sub>99</sub> was 530 IJs/dish for CCA and 560 IJs/dish for JPM3 and the density were 28 and 29 IJs/cm<sup>2</sup> for CCA and JPM3, respectively. Both entomopathogenic nematode isolates were pathogenic to the insects on tests with crypts.

**Keywords:** Microbial Control, *Heterorhabditis*, *Steinernema*, *Dysmicoccus texensis*.

## RESUMO

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley), ataca as raízes desta planta, podendo causar sérios danos à cultura e conseqüentes perdas na produção. Os nematóides entomopatogênicos são agentes eficientes no controle de pragas de solo, com potencial para o da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro. Dessa forma, este trabalho objetivou avaliar a patogenicidade de alguns isolados de nematóides entomopatogênicos à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, através de testes em condições de laboratório. Foi realizado teste de seleção de isolados, com 11 isolados de nematóides das famílias Sterinernematidae e Heterorhabditidae, bem como a determinação da concentração letal máxima (CL<sub>99</sub>). Para realização destes dois experimentos, foram usadas placas de Petri, contendo areia (20g) e um broto de batata, sobre o qual foram colocadas dez fêmeas adultas do inseto. Em seguida, o broto foi enterrado na areia e a suspensão de nematóides, aplicada sobre o mesmo, com auxílio de pipeta. A avaliação foi feita 5 dias após a aplicação. Foi também feito um teste de patogenicidade a criptas coletadas no campo. Os isolados *Heterorhabditis* sp. CCA, *H. bacteriophora*, *Heterorhabditis* sp. JPM3.1 e *Heterorhabditis* sp. JPM3 foram os que apresentaram maior

virulência, alcançando valores máximos de mortalidade de 100, 94, 93,6 e 80,9% respectivamente, na maior concentração testada (100 Juvenis Infectivos (JIs)/inseto). A CL<sub>99</sub>, para o isolado CCA, foi estimada em 530 JIs/placa. Valor semelhante foi encontrado para o isolado JPM3, que teve a CL<sub>99</sub> igual a 560 JIs/placa . Estimando a densidade por área, o valor obtido para os isolados CCA e JPM3 foi de 28 e 29 JIs/cm<sup>2</sup>, respectivamente. No teste realizado com criptas, ambos os isolados de nematóides entomopatogênicos foram patogênicos aos insetos.

**Palavras-chave:** Controle Microbiano, *Heterorhabditis*, *Steinernema*, *Dysmicoccus texensis*..

A cultura do café é uma das mais importantes no Brasil e também uma das mais significativas do mundo, movimentando a economia nacional e internacional. Entretanto, ocorrem perdas consideráveis todos os anos, devido ao grande número de pragas que atacam essa cultura (Zambolim, 2000).

Entre as pragas de maior importância está a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera; Pseudococcidae), que se alimenta sugando a seiva das raízes, onde forma colônias que, associadas a fungos do gênero *Bornetina*, levam à formação de nódulos, criptas ou “pipocas”, que impedem a absorção de água e nutrientes pela planta, causando desde o enfraquecimento até a morte da planta (Santa-Cecília et al., 2002, Santa-Cecília et al., 2005).

O controle desse inseto é difícil, devido à sua localização no subsolo, o que dificulta a ação de inseticidas e também de inimigos naturais. Os insetos localizam-se em volta das raízes da planta, a partir da região do colo, e, em altas infestações, alojam-se nas criptas que se formam nas raízes primárias e secundárias. Além disso, o hábito críptico dificulta a percepção da ocorrência, que muitas vezes é confundida com o ataque de outras pragas (nematóides da raiz, por exemplo), ou ainda com

deficiência de nutrientes, uma vez que os sintomas apresentados pela planta são semelhantes (Santa-Cecília et al., 2005; Souza et al., 2001; Souza & Ribeiro, 2003).

O uso de nematóides entomopatogênicos para o controle deste inseto tem potencial, pois o ambiente ocupado pela cochonilha é bastante semelhante ao exigido pelos nematóides (Grewal et al., 2001; Lewis et al., 2006).

Algumas espécies de nematóides entomopatogênicos já se mostraram patogênicas à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, em testes realizados em laboratório (Andaló et al., 2004). Entretanto, é necessária a avaliação de um número maior de isolados, já que, nos testes realizados até agora, a mortalidade máxima obtida foi de 78%. São necessários também testes quanto à capacidade de deslocamento do nematóide, uma vez que o inseto apresenta comportamento críptico, aumentando assim as chances do encontro entomopatógeno-hospedeiro.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade de alguns isolados de nematóides entomopatogênicos à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro em laboratório.

## **Material e Métodos**

### **Criação de *Dysmicoccus texensis***

A criação de *D. texensis* foi conduzida no laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras - UFLA, em Lavras, no Campus da UFLA.

Como substrato para criação das cochonilhas, foram utilizadas abóboras do tipo moranga, variedade “Cabotcha”.

Para infestação de novas abóboras, pedaços de uma abóbora já infestada foram colocados sobre as novas, esperando pela passagem das ninfas e adultos da cochonilha. Assim que a infestação ocorria, os pedaços eram retirados para evitar a contaminação com fungos.

Os frutos infestados permaneceram em condições controladas de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e no escuro, em câmara climática.

### **Obtenção de isolados de nematóides**

Os isolados foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da UFLA (Tabela 1), onde permaneceram armazenados em frascos Erlenmeyer, em suspensão

aquosa, em temperatura ambiente e em condições controladas a  $16 \pm 1^\circ\text{C}$ , no escuro e na concentração de até 500 Juvenis Infectivos (JIs)/mL.

Quando necessário, a multiplicação foi feita em larvas de último ínstar da traça-dos-favos, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA.

A dieta para desenvolvimento larval de *G. mellonella* tem a seguinte composição (Dolinski, comunicação pessoal):

Farinha de trigo	200g
Farelo de trigo	200g
Leite em pó desnatado	400g
Levedura de cerveja	120g
Gérmen de trigo	200g
Mel	240g
Glicerina	130g
Água destilada	20mL

O preparo da dieta foi feito misturando-se todos os ingredientes. A farofa resultante foi colocada sobre folha de papel, dentro dos potes plásticos e, sobre esse substrato, foram colocadas as posturas de *G.*

*mellonella*, permitindo que as larvas, ao eclodirem, encontrassem facilmente o alimento. Após a passagem das larvas para o estágio pupal, estas foram transferidas para os frascos de vidro, contendo no interior papel sanfonado para postura.

Completando o ciclo, as posturas foram retiradas e transferidas para os potes plásticos com dieta, iniciando-se nova geração de larvas.

A criação foi mantida em sala climatizada a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas e a manutenção foi feita em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, coleta de posturas e adição de dieta.

Para multiplicação dos isolados de nematóides foi utilizada a metodologia descrita por Poinar (1979), na qual a infecção de larvas de último instar de *G. mellonella* com JIs é realizada por meio do sistema de infecção tópica. Após a infecção, as larvas foram incubadas a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e transferidas para câmara seca. Finalmente, armadilhas de White (White, 1927) foram usadas para obtenção dos nematóides sob as mesmas condições. Para montagem dos experimentos, os JIs emergidos foram armazenados sob temperatura de  $16^{\circ}\text{C}$ , por no máximo cinco dias.

### **Seleção de isolados**

Os isolados testados foram obtidos junto ao Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA, sendo 4 do gênero *Steinernema* (*S. glaseri*, *S. anomali*, *S. carpocapsae* e *S. riobravis*) e 7 do gênero *Heterorhabditis* (*H. bacteriophora*, *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *Heterorhabditis* sp. CCA, *Heterorhabditis* sp. JPM3, *Heterorhabditis* sp. JPM3.1, *Heterorhabditis* sp. JPM4 e *Heterorhabditis* sp. PI).

Cada isolado foi testado em três diferentes concentrações (25, 50 e 100 JIs/inseto), resultando num delineamento experimental fatorial 3x11. Cada tratamento teve cinco repetições, sendo cada uma delas composta por dez fêmeas adultas da cochonilha. Foram utilizadas placas de Petri de 5 cm, de diâmetro contendo 20 g de areia esterilizada+broto de batata, sobre o qual foram dispostos os dez insetos. Cada placa recebeu 1 mL de suspensão, aplicado com auxílio de micropipeta, de maneira homogênea, em toda a área da placa. Após a inoculação, os brotos, contendo os insetos, foram recobertos com a areia e as placas acondicionadas em caixas plásticas, contendo espuma embebida em água destilada, para manutenção da umidade.

As caixas foram mantidas em câmara climática a  $25\pm 1$  °C,  $70\pm 10\%$  de umidade e fotofase de 12 horas. Além dos tratamentos que receberam os isolados, foi também montado um tratamento adicional, que recebeu apenas água destilada esterilizada (testemunha).

Após 5 dias, foi realizada a avaliação. As cochonilhas mortas foram retiradas e armazenadas em câmara seca para observação da sintomatologia, para confirmação da morte pelos nematóides entomopatogênicos.

Os dados de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (Alves et al., 1998). Em seguida, foram submetidos à análise de variância e ao teste Scott-Knott ( $P < 0,05$ ), para comparação entre as médias.

#### **Concentração Letal Máxima (CL<sub>99</sub>)**

Foram selecionados dois isolados, que se mostraram mais virulentos à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, para utilizá-los nos testes subsequentes.

A CL<sub>99</sub> foi escolhida como fator de seleção porque, para nematóides entomopatogênicos, valores inferiores de concentração (CL<sub>50</sub>, por exemplo) podem não ser muito expressivos. Devido à alta virulência dos mesmos ao inseto, em concentrações menores, a grande maioria dos

isolados apresentaria eficiência, sendo que a  $CL_{99}$  propicia diferenciar quais são os isolados com maior potencial para o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro.

Para estimativa da concentração letal máxima ( $CL_{99}$ ) foram avaliadas 10 concentrações: 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500, 1750 e 2000 JIs/ placa, aplicados em dois mL de água destilada, de maneira homogênea, em toda a área de placa. Cada tratamento foi repetido quatro vezes e cada parcela consistiu de uma placa de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo areia e um broto de batata, sobre o qual foram dispostas 10 fêmeas adultas da cochonilha. A testemunha recebeu apenas água destilada esterilizada. Os dados foram corrigidos pela fórmula de Abbott e submetidos à análise de regressão pelo programa Sigma-Plot (2003). Para estimativa da  $CL_{99}$  foi utilizada a equação de regressão derivada, estimando-se o valor desejado no intervalo avaliado.

#### **Eficiência dos isolados sobre criptas**

As criptas foram coletadas no campo, cortadas em pedaços de 1,5 cm<sup>2</sup> e colocadas em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo 20 g de areia. A concentração usada foi de 500 JIs/placa. Cada tratamento foi repetido 5 vezes e a avaliação foi feita após 5 dias, sendo os insetos

mortos, transferidos para câmara seca, para confirmação da mortalidade pela sintomatologia. A testemunha recebeu apenas água destilada esterilizada.

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott ( $P < 0,05$ ), para comparação entre as médias. A porcentagem de mortalidade foi corrigida pela fórmula de Abbott (Alves et al., 1998).

## **Resultados e Discussão**

### **Seleção de isolados**

Verificou-se que todos os isolados testados foram patogênicos à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, nas três concentrações utilizadas. De forma geral, os isolados pertencentes ao gênero *Steinernema* foram menos virulentos do que os do gênero *Heterorhabditis* (Tabela 2).

Já para heterorhabditídeos, os isolados CCA, *H. bacteriophora*, JPM3.1 e JPM3, foram os que apresentaram maior virulência, alcançando valores máximos de mortalidade de 100, 94, 93,6 e 80,9% respectivamente, na maior concentração testada (100 JIs/inseto).

Na menor concentração testada (25 JIs/inseto), o isolado JPM3 foi o que também causou maior mortalidade (80%) dos insetos. A

concentração com menor variação entre os isolados testados foi a de 50 JIs/ inseto, sendo nítida a diferença de virulência entre os isolados de heterorhabditídeos e esteinernematídeos.

Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Stuart et al., (1997) que, avaliando a susceptibilidade de *Dysmicoccus vacinii* Miller & Polavarapu a diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, observaram a maior suscetibilidade deste inseto às espécies pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*, com valores de até 90% de mortalidade.

Diferentemente, Andaló et al. (2004), realizando trabalho de seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos para *D. texensis*, observaram que *S. carpocapsae* foi o que se mostrou mais virulento. No entanto, a porcentagem de mortalidade foi baixa (78%), quando comparada com os dados obtidos neste trabalho.

Os resultados demonstram que houve grande variabilidade na susceptibilidade de *D. texensis* aos diferentes isolados testados, com resultados que variam de apenas 3% de mortalidade (*S. riobravis* na concentração de 25 JIs/placa) a até 100% (CCA na concentração de 100 JIs/placa). Essas diferenças reforçam a necessidade de testes de seleção com um número elevado de isolados de nematóides entomopatogênicos,

pois as características e adaptações que cada isolado possui em relação ao ambiente e ao hospedeiro podem variar enormemente (Gaugler et al., 1997).

Larvas do coleóptero *Otiorhynchus sulcatus* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae) também são mais susceptíveis aos heterorhabditídeos que aos esteinernematídeos, sendo possível observar que ocorre variação também na susceptibilidade do inseto a isolados de uma mesma espécie de *Heterorhabditis* (van Tol & Raupp, 2006; van Tol et al., 2004).

Vários fatores justificam as diferenças de virulência entre isolados da mesma espécie. Isolados de diferentes locais podem estar adaptados a diferentes condições climáticas, ou mesmo ter desenvolvido especificidade a hospedeiros locais, o que é evidenciado no experimento, uma vez que os isolados autóctones (JPM3, JPM4 e CCA) demonstraram maior eficiência no controle, quando comparado com *H. bacteriophora*, por exemplo, que apesar de ser um heterorhabditídeo, não apresentou resultado tão eficiente.

A maior susceptibilidade aos heterorhabditídeos do que aos esteinernematídeos pode ser, em parte, explicada pelo menor tamanho que

estes possuem. Segundo Stuart et al. (1997), os esteinernematídeos podem ter dificuldades de penetrar pelas aberturas naturais de insetos menores, como é o caso da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro. Entretanto, uma série de outros fatores pode influenciar, como por exemplo, especificidade entre patógeno e hospedeiro.

A especificidade que cada isolado possui sobre determinado hospedeiro está diretamente ligada a sua eficiência em alcançar o hospedeiro, penetrar no mesmo e causar uma doença, além de driblar o sistema imunológico do inseto, para que este não seja capaz de combatê-lo. Mas como um isolado pode “saber” se determinado inseto é ou não susceptível a ele? Este é um processo bem complexo, mas cuja compreensão pode esclarecer o porquê de tanta variabilidade na eficiência de diferentes espécies, ou mesmo isolados sobre determinados hospedeiros (Lewis et al., 2006).

Assim, a co-evolução entre as espécies pode proporcionar o desenvolvimento de mecanismos de reconhecimento do hospedeiro pelos nematóides, como percepção química ou desenvolvimento de estruturas físicas específicas, que auxiliem no processo de infecção. Quanto aos estímulos químicos, os nematóides podem reconhecer aqueles emitidos

pelo próprio hospedeiro ou por plantas por ele atacadas (emissão de CO<sub>2</sub>, por exemplo) e deslocar-se na sua direção (van Tol et al., 2001).

A diferença na susceptibilidade de *D. texensis* às diferentes espécies e isolados avaliados, reforça a necessidade da realização de testes de seleção, demonstrando que diferentes espécies apresentam maior ou menor especificidade em atacar o inseto, e que isolados nativos apresentam maior virulência sobre o inseto do que espécies exóticas.

#### **Estimativa da Concentração Letal Máxima (CL<sub>99</sub>)**

Para o isolado CCA a CL<sub>99</sub> foi estimada em 530 JIs/placa (Fig. 1). Valor semelhante foi encontrado para o isolado JPM3 que teve a CL<sub>99</sub> igual a 560 JIs/placa (Fig. 2). Estimando a concentração por área, o valor obtido para CCA e JPM3 foi de 28 e 29 JIs/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

Esta concentração é inferior à encontrada por Stuart et al. (1997), que, trabalhando com *D. vaccinii*, alcançaram valor máximo de mortalidade de 83%, aplicando 500 JIs/placa. Alguns insetos, como os cupins, por exemplo, também requerem doses bem maiores (1000 JIs/inseto) para um controle eficiente (Wang et al., 2002).

Quando a concentração encontrada é extrapolada para aplicações a campo o valor é de 2,8x10<sup>9</sup> JIs/ha. Este valor é inferior ao encontrado em

vários trabalhos, onde se recomendam aplicações de  $1 \times 10^{10}$  JIs/ha (Ebssa et al., 2004; Siegel et al., 2004; Thurston et al., 1994). Isso evidencia que o uso de nematóides entomopatogênicos pode ser viável no controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, pois a aplicação de concentrações menores com boa eficiência de controle pode significar um menor custo final de produção.

Por outro lado, a determinação da concentração ideal, para uso em laboratório, pode não ser eficiente em condições de semi-campo e campo, onde o número de fatores não controlados são maiores. Em condições de laboratório, o inseto fica altamente exposto ao ataque do nematóide, enquanto que, em condições de semi-campo e campo, o nematóide é que fica exposto a uma série de intempéries, como variação da temperatura e da umidade, além de ter que buscar o hospedeiro.

#### **Avaliação de patogenicidade a criptas**

Os dois isolados testados foram eficientes no controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, abrigada em criptas (Tabela 3). O isolado CCA causou até 84% de mortalidade, enquanto que JPM3 matou 93% dos insetos.

O inseto *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Hemiptera: Margarodidae), também conhecido como pérola-da-terra, possui hábitos semelhantes aos da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, permanecendo abrigado junto às raízes de videiras. Segundo Hickel et al. (2001), testes realizados, avaliando o efeito de produtos químicos sobre cistos da cochonilha, resultaram em valores máximos de mortalidade em torno de 83,3%. Segundo os autores, a profundidade em que os cistos se encontravam influenciou diretamente na eficiência do controle.

Insetos com hábitos crípticos como pérola-da-terra e a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro dificultam a ação de produtos fitossanitários e também de inimigos naturais, especialmente dos parasitóides e predadores. Entretanto, a alta susceptibilidade que os insetos apresentaram aos nematóides, mesmo quando abrigados nas criptas, é um bom indício da eficiência destes agentes no controle do inseto em condições de campo, apesar de que, neste experimento, as criptas foram cortadas, facilitando o acesso dos JIs.

Desta maneira, este trabalho demonstrou que a realização de testes de seleção de isolados é muito importante, vista a grande variação que houve quanto à virulência dos mesmos sobre *D. texensis*. Além disso, a

determinação de concentrações ideais e avaliações, que levem em consideração condições próximas às encontradas no campo, favorecem o sucesso do controle, quando este é levado a campo.

## Referências Bibliográficas

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**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 637-711.

ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 181-187, abr./jun. 2004.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Indicadores da agropecuária**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php>>. Acesso em: 15 mar. 2006.

EBSSA, L.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H. -M. Effectiveness of different species/strains of entomopathogenic nematodes for control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) at various concentrations, host densities, and temperatures. **Biological Control**, San Diego, v. 29, n. 1, p. 145-154, Jan. 2004.

GAUGLER, R.; LEWIS, E.; STUART, R. J. Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. **Oecologia**, New York, v. 109, n. 4, p. 483-489, 1997.

GREWAL P. G.; NARDO, E. A. B. de; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: Potential for exploration and use in south america. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, June 2001.

HICKEL, E. R.; PERUZZO, E. L.; SCHUCK, E. Controle da Pérola-da-Terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Homoptera: Margarodidae), através da insetigação. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 127-132, Mar. 2001.

LEWIS, E. D.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 66-79, July 2006.

MILLER, R. D.; POLAVARAPU, S. A. 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.

POINAR, G. O. Jr. **Nematodes for biological control of insects**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1979.

POINAR, G. O.; HOM, A. Survival and horizontal movement of infective stage *Neoplectana carpocapsae* in the field. **Journal Nematology**, Lakeland, v. 18, n. 1, p. 34-36, Jan. 1986.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; REIS, P. R.; SOUZA, J. C. Sobre a nomenclatura das espécies de cochonilhas-farinhentas do cafeeiro nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 333-334, June 2002.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; PRADO, E.; SOUZA, J. C.; FORNAZIER, M. J. **Cochonilhas-farinhentas em cafeeiros: reconhecimento e controle**. Lavras: EPAMIG, 2005. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 189).

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2006.

SIEGEL, J.; LACEY, L. A.; FRITTS JR., R.; HIGBEE, B. S.; NOBLE, P. Use of steinernematid nematodes for post harvest control of navel orangeworm (Lepidoptera: Pyralidae, *Amyelois transitella*) in fallen pistachios. **Biological Control**, San Diego, v. 30, n. 2, p. 410-417, June 2004.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R.; SANTA-CECILIA, L. C. V.; DAUM, S.; SOUZA, M. de A. **Cochonilha-da-raiz do cafeeiro: aspectos biológicos, dano e controle**. Lavras: EPAMIG, 2001. 4 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 136).

SOUZA, J. C.; RIBEIRO, J. A. **Cochonilha-da-raiz**: cafeicultor, conheça e saiba como controlar esta praga com inseticidas neonicotinóides. Lavras: EPAMIG, 2003. 3 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 162).

STUART, R. J.; POLAVARAPU, S.; LEWIS, E. E.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vacinni* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabdita: Heterorhabditidae and Steinernematidae), **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 90, n. 4, p. 925-932, Aug. 1997.

THURSTON, G. S.; KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Characterizing the enhanced susceptibility of milky disease-infected scarabaeid grubs to entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 4, n. 1, p. 67-73, Mar. 1994.

VAN TOL, R. W. H. M.; RAUPP, M. J. Nursery and tree applications. In: GREWAL, P. S.; EHLERS, R. -U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. **Nematodes as Biological Control Agents**. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2006. in press.

VAN TOL, R. W. H. M.; VAN DIJK, N.; SABELIS, M. W. Host plant preference and performance of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus*. **Agricultural Forest Entomology**, Oxford, v. 6, n. 4, p. 267-278, Nov. 2004.

VAN TOL, R. W. H. M.; VAN SOMMEN, A. T. C. M.; BOFF, I. C.; VAN BEZOOIJEN, J.; SABELIS, M. W.; SMITS, P. H. Plants protect their roots by alerting the enemies of grubs. **Ecology Letters**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 292-294, July 2001.

WENNEMANN, L.; SHANKS, C. H.; SMITH, K. A. Movement of entomopathogenic nematodes in soils of *Fragaria* spp. **Commun**

**Agricultural Applied Biological Science**, Ghent, v. 69, p. 347-357, 2004.

WANG, C.; POWELL, J. E.; NGUYEN, K. Laboratory evaluations of four entomopathogenic nematodes for control of subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 31, n. 2, p. 381-387, Apr. 2002.

WILLIAMS, D. J.; GRANARA DE WILLINK, M. C. Mealybugs of central and south América. Wallingford: CABI, 1992. 629 p.

WILLIAMS, C. J. The mealbugs (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae) of sugar cane, rice and sorghum. **Bulletin Entomological Research**, Wallingford, v. 60, n. 1, p. 109-188, Aug. 1970.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, Washington, v. 66, p. 302-303, 1927.

ZAMBOLIM, L. Manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 152-153, jan./mar. 2000.

Tabela 1. Isolados e origem dos nematóides entomopatogênicos utilizados no teste de seleção.

<b>Linhagem</b>	<b>Local de Origem</b>
<i>Steinernema</i> (= <i>anomali</i> ) <i>arenarium</i>	Voronezh / Rússia
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	Carolina do Norte / USA
<i>Steinernema riobravis</i> 355	Texas / USA
<i>Steinernema glaseri</i> NA	Flórida / USA
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	New Jersey / USA
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	New Jersey / USA
<i>Heterorhabditis</i> sp. (CCA)	Araras / SP / Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM4)	Lavras / MG / Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM3.1)	Lavras / MG / Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM3)	Lavras / MG / Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (PI)	Teresina / PI / Brasil

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade média de fêmeas adultas da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *D. texensis* causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos em três concentrações em câmara climática a 25±1 °C, 70±10% de umidade e fotofase de 12 horas. Lavras, 2006.

Isolados	Concentração (JIs/ Inseto) <sup>1</sup>		
	25	50	100
<i>Heterorhabditis</i> sp JPM3	83,3 ± 11,91 <b>a</b>	83,0 ± 7,66 <b>a</b>	80,9 ± 15,32 <b>b</b>
<i>Heterorhabditis</i> sp CCA	70,8 ± 11,67 <b>b</b>	97,9 ± 3,33 <b>a</b>	100 ± 0,00 <b>a</b>
<i>Heterorhabditis</i> sp JPM4	63,8 ± 9,36 <b>b</b>	78,7 ± 8,51 <b>a</b>	59,6 ± 6,81 <b>c</b>
<i>Heterorhabditis</i> sp PI	59,6 ± 6,81 <b>b</b>	78,7 ± 8,51 <b>a</b>	80,0 ± 14,47 <b>b</b>
<i>Heterorhabditis</i> sp JPM3.1	44,7 ± 6,81 <b>c</b>	89,4 ± 8,61 <b>a</b>	93,6 ± 7,66 <b>a</b>
<i>H. bacteriophora</i>	42,0 ± 13,60 <b>c</b>	90,0 ± 4,00 <b>a</b>	94,0 ± 7,20 <b>a</b>
<i>Heterorhabditis</i> sp.HP88	30,0 ± 8,00 <b>d</b>	20,0 ± 4,00 <b>b</b>	40,0 ± 16,00 <b>d</b>
<i>S. riobravisi</i>	3,0 ± 3,20 <b>e</b>	22,6 ± 8,00 <b>b</b>	22,0 ± 10,40 <b>e</b>
<i>S. anomali</i>	27,1 ± 8,33 <b>d</b>	25,0 ± 3,33 <b>b</b>	33,3 ± 7,50 <b>d</b>
<i>S. carpocapsae</i>	17,5 ± 7,47 <b>e</b>	16,3 ± 0,13 <b>b</b>	20,8 ± 13,33 <b>e</b>
<i>S. glaseri</i>	14,6 ± 6,67 <b>e</b>	20,8 ± 5,00 <b>b</b>	31,3 ± 9,17 <b>d</b>

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas nas colunas, diferem entre si pelo teste Scott-Knott (P<0,05).

Tabela 3. Porcentagem de mortalidade de *D. texensis* em criptas inoculadas com dois isolados do gênero *Heterorhabditis* na concentração de 500 JIs/placa em câmara climática a  $25\pm 1$  °C,  $70\pm 10\%$  de umidade e fotofase de 12 horas. Lavras, 2006.

<b>Isolados</b>	<b>% Mortalidade<sup>1</sup></b>
Testemunha	$8,3 \pm 0,04$ <b>b</b>
<i>H. sp.</i> CCA	$84,1 \pm 0,08$ <b>a</b>
<i>H. sp.</i> JPM3	$93,6 \pm 0,10$ <b>a</b>

C.V.= 19,69%

<sup>1</sup>Medias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste Scott-Knott (P<0,05).

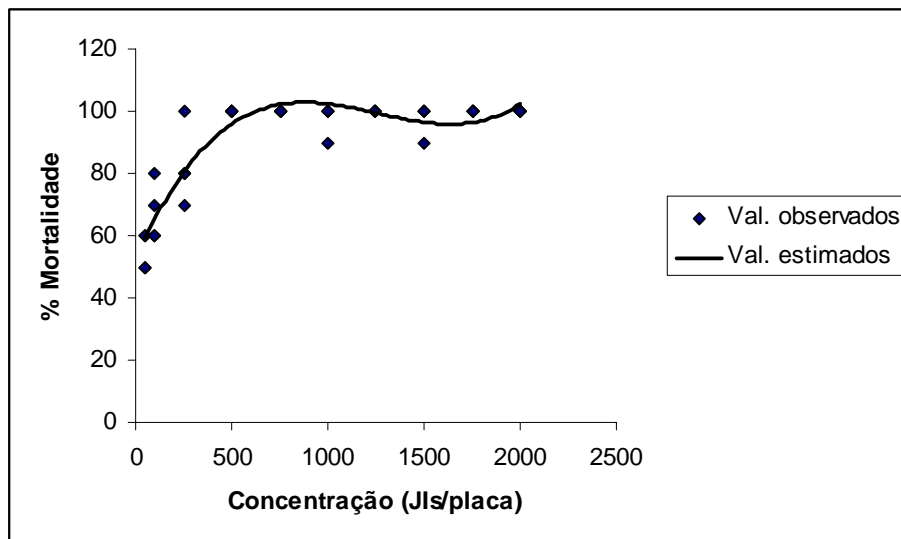


Figura 1. Curva de regressão para o isolado CCA, considerando o número de Juvenis Infectivos (JIs)/placa necessários para causar 99% de mortalidade (CL<sub>99</sub>).

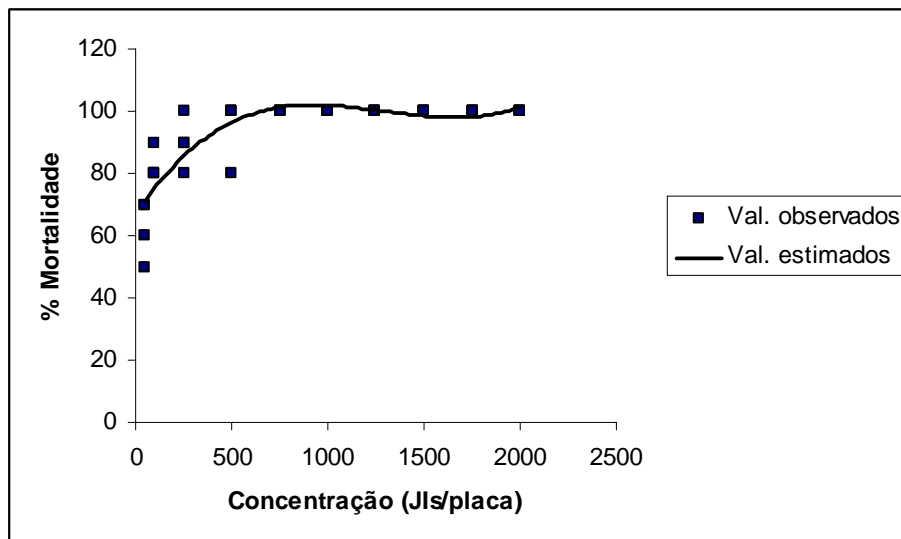


Figura 2. Curva de regressão para o isolado JPM3, considerando o número de Juvenis Infectivos (JIs)/placa necessários para causar 99% de mortalidade ( $CL_{99}$ ).

### ARTIGO 3

Deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida:  
Heterorhabditidae) na busca por *Dysmicoccus texensis* (Tinsley)  
(Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório e casa-de-vegetação  
(Preparado de acordo com as normas da revista “Neotropical  
Entomology”)

VIVIANE S. ALVES<sup>1</sup>

ALCIDES MOINO JUNIOR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Departamento de Entomologia, CP 30,  
CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

Deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida:  
Heterorhabditidae) na busca por *Dysmicoccus texensis* (Tinsley)  
(Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório e casa-de-vegetação

Vertical displacement of entomopathogenic nematodes (Rhabdita: Heterorhabditidae) in search of *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) under laboratory and greenhouse conditions.

### **ABSTRACT**

In studies for evaluation of entomopathogenic nematodes as insect pest control agents is important to know the search capacity, besides pathogenicity and virulence, since the greater the efficiency, the higher the chance to host finding. Thus, in laboratory conditions, aqueous suspension of CCA and JMP3 isolates (*Heterorhabditis*) were placed on top of 5-cm high sand columns and insect mortality checked after 5 days. Similar procedure was followed on 30 cm soil columns composed of six 5-cm extracts. The same isolates were used but with two application methods – dead infected insect and aqueous suspension – both evaluated in different depths and in a 2x2x6 factorial statistical design under greenhouse conditions. No difference was detected between the isolates in the sand experiment, with 92% mortality for both. For the soil experiment, the JMP3 isolate was better than CCA on both application

methods. Better results were obtained with aqueous suspension and JPM3 the best treatment on almost all depths evaluated.

**Keywords:** *Heterorhabditis*, “cruiser”, “ambusher”, *Dysmicoccus texensis*.

## RESUMO

Vários fatores devem ser considerados na avaliação da eficiência de um entomopatógeno no controle de um inseto-praga. Com relação aos nematóides entomopatogênicos, além da patogenicidade e virulência, é importante conhecer a capacidade de busca, pois quanto maior sua eficiência, maior a chance de encontro com o hospedeiro. Assim, este trabalho objetivou avaliar o deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos (*Heterorhabditis*), visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Para avaliação em laboratório, foi feito teste em coluna de areia de 5 cm, onde os isolados CCA e JPM3 foram aplicados em suspensão aquosa no topo da coluna e a mortalidade dos insetos verificada após 5 dias. No experimento de coluna de solo foi usada uma coluna de 30 cm, composta por seis extratos de 5 cm. Foram utilizados dois isolados (CCA e JPM3) e dois métodos de aplicação (cadáver infectado e suspensão aquosa), ambos avaliados nas diferentes profundidades, sendo que o experimento foi conduzido num delineamento fatorial 2x2x6, em condições de casa-de-vegetação. No experimento de coluna de areia, não houve diferença entre os isolados avaliados, sendo que ambos alcançaram valor de 92% de mortalidade. No

experimento de deslocamento em coluna de solo, observou-se que JPM3 foi mais eficiente que CCA, nos dois métodos de aplicação avaliados. Quanto aos métodos de aplicação, o de suspensão aquosa apresentou melhores resultados para os dois isolados, sendo que JPM3, aplicado em suspensão aquosa, foi o melhor tratamento em quase todas as profundidades avaliadas.

**Palavras-chave:** *Heterorhabditis*, “cruiser”, “ambusher”, *Dyzmicoccus texensis*.

Os nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae têm se mostrado agentes promissores e alternativos ao controle químico de muitos insetos-pragas e sua utilização em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) já é realidade em muitos países (Georgis et al., 2005; Kaya 1985).

Entre as vantagens apresentadas pelos nematóides entomopatogênicos, com relação a outros agentes de controle microbiano, está a capacidade de busca pelo hospedeiro. Neste sentido, eles podem apresentar dois tipos de comportamento: “cruiser” e “ambusher”. Esta classificação é baseada na diferença de tempo que o nematóide passa parado à espreita do hospedeiro (“ambusher”) e no tempo em que ele se desloca em busca do hospedeiro (“cruiser”) (Huey & Pianka, 1981; O’Brien et al., 1989). Alguns nematóides podem apresentar comportamento intermediário.

Nematóides com comportamento “cruiser” têm alta probabilidade de sucesso no controle de insetos-pragas com hábito sedentário ou críptico, enquanto que nematóides com comportamento “ambusher” são mais indicados para o controle de insetos ativos, que se movimentam no ambiente (Lewis et al., 2006).

A cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae), é um exemplo de inseto com hábito críptico e seu ataque tem causado sérios prejuízos à cultura do café (Souza & Ribeiro, 2003). Os insetos instalam-se na raiz principal, na região abaixo do colo da planta, e distribuem-se para as raízes secundárias nas quais, associados ao fungo *Bornetina* sp., formam as chamadas criptas ou “pipocas”, no interior das quais se alojam. As criptas impedem a absorção de água e nutrientes pela planta, que, em altas infestações, pode morrer (Nakano, 1972; Santa-Cecília et al., 2000; Sousa et al., 2001).

O hábito críptico desse inseto dificulta o controle químico e a ação de inimigos naturais como parasitóides e fungos entomopatogênicos. Por outro lado, os nematóides entomopatogênicos têm demonstrado um bom potencial para o controle desse inseto (Alves et al., Andaló et al., 2004a; Andaló et al., 2004b, dados não publicados). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de deslocamento vertical de dois isolados de nematóides entomopatogênicos (*Heterorhabditis* sp. CCA e JPM3) na busca de *D. texensis*, em condições de laboratório e casa-de-vegetação.

## **Material e Métodos**

### **Criação de *Dysmicoccus texensis***

A criação de *D. texensis* foi conduzida no laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras - UFLA, em Lavras, no Campus da UFLA.

Como substrato para criação das cochonilhas, foram utilizadas abóboras do tipo moranga, variedade “Cabotcha”.

Para infestação de novas abóboras, pedaços de uma abóbora já infestada foram colocados sobre as novas, esperando pela passagem das ninfas e adultos da cochonilha. Assim que a infestação ocorria, os pedaços eram retirados para evitar a contaminação com fungos.

Os frutos infestados permaneceram em condições controladas de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e no escuro, em câmara climática.

### **Obtenção de isolados de nematóides**

Os isolados utilizados foram *Heterorhabditis* sp. CCA (Araras, SP – Brasil) e *Heterorhabditis* sp. JPM3 (Lavras, MG – Brasil) e foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da UFLA, sendo armazenados em frascos Erlenmeyer em

suspensão aquosa, em condições controladas a  $16^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ , e no escuro, na concentração de até 500 Juvenis Infectivos (JIs)/mL.

Quando necessário, a multiplicação foi feita em larvas de último ínstar da traça-dos-favos, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Piralidae), provenientes do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA.

#### **Deslocamento em coluna de areia (Teste em Laboratório)**

O teste de deslocamento em coluna de areia foi conduzido no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA. Foram usadas placas de Petri de 5 cm de diâmetro, com 20 g de areia esterilizada + broto de batata para onde foram transferidas 10 fêmeas adultas da cochonilha. Em seguida, um cano plástico de PVC de 5 cm de altura e 4 cm de diâmetro foi colocado sobre a base da placa, mantendo-se o broto no fundo, e preenchido com areia até o topo (aproximadamente 80 g). A areia foi umedecida com 8 mL de água destilada (10% do peso da areia) e, a seguir, as suspensões de nematóides foram aplicadas em três concentrações (50, 100 e 500 JIs/inseto). O cano de PVC foi, então, coberto com a tampa da placa de Petri, armazenado em

caixas plásticas, contendo algodão umedecido e mantidas em câmara climática a  $27\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70\pm 10\%$  de umidade e no escuro. Cada tratamento foi repetido 5 vezes. A avaliação foi feita após 5 dias, sendo os insetos mortos transferidos para câmara seca, para confirmação da mortalidade pela sintomatologia. Para o tratamento testemunha, foram seguidos os mesmos passos, porém este recebeu aplicação apenas de água destilada esterilizada. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância e ao teste Scott-Knott ( $P < 0,05$ ) para comparação entre as médias.

#### **Deslocamento em coluna de solo (teste em casa-de-vegetação)**

Os dois isolados foram também avaliados quanto à capacidade de deslocamento em coluna de solo, simulando uma situação mais próxima às condições de campo.

Para montagem da coluna foram utilizados pedaços de cano PVC de 150 mm de diâmetro, com altura de 5 cm, com tela plástica colada em uma das extremidades. Cada pedaço de cano, após ser preenchido com solo não esterilizado, recebeu um broto de batata sobre o qual foram transferidos 10 insetos. Os pedaços de cano foram então empilhados até a altura de 25 cm (5 pedaços) e unidos com fita adesiva.

Foram avaliados dois métodos de aplicação: através de suspensão aquosa (150 mL) e pelo método de cadáver infectado (larvas de *G. mellonella*, previamente infestadas), sendo usada uma larva por coluna, enterrada na superfície da mesma. A suspensão aquosa foi aplicada no topo da coluna na concentração de 28 JIs/cm<sup>2</sup> para CCA e 29 JIs/cm<sup>2</sup> para JPM3. Após a aplicação, as colunas de solo foram mantidas em casa-de-vegetação do Departamento de Entomologia da UFLA.

A avaliação foi feita 5 dias após, desmontando-se as colunas e contando o número de insetos vivos e mortos em cada extrato da coluna.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3 (dois isolados e a testemunha,) x 2 (dois métodos de aplicação) x 5 (diferentes profundidades). Os dados referentes aos diferentes métodos de aplicação foram submetidos ao teste de comparação de médias Scott-Knott ( $P < 0,05$ ), enquanto que o desempenho de cada tratamento, quanto ao deslocamento, foi submetido à análise de regressão.

## **Resultados e Discussão**

### **Deslocamento na coluna de areia**

Foi possível observar que ambos os isolados foram eficientes no deslocamento através da coluna de areia, causando mortalidade mínima de 72% na menor concentração (CCA) e máxima de 92% na maior concentração (CCA e JPM3). Não houve diferença entre os dois isolados em nenhuma das concentrações testadas (Tabela 1).

Stuart et al. (1997) desenvolveram trabalho semelhante, para avaliar a capacidade de deslocamento de várias espécies de nematóides, objetivando o controle de *Dysmicoccus vacinni* (Hemiptera: Pseudococcidae). Segundo os autores, *H. bacteriophora* e *H. indicus* causaram até 90% de mortalidade.

Também Poinar & Hom (1986) avaliaram a capacidade de deslocamento de *S. carpocapsae*, em condições de laboratório. Segundo eles, fatores como temperatura, umidade e tipo de solo podem influenciar na capacidade de deslocamento dos juvenis infectivos.

Vários fatores podem estar envolvidos no processo de deslocamento de JIs. Estes fatores podem ser ambientais como umidade, composição e granulometria do solo, temperatura, presença ou não de

hospedeiro, liberação de substâncias de sinalização pelas plantas atacadas entre outros; e também próprios do nematóide como idade e reserva de energia (Fitters & Griffin 2005; Poinar & Hom, 1986; Rasmann et al., 2005; van Tol et al., 2001; Wennemann et al., 2004).

### **Deslocamento em coluna de solo**

No experimento de deslocamento em coluna de solo, foram avaliados os fatores independentemente e também a interação entre os dois isolados avaliados com os métodos de aplicação e com a profundidade, e ainda a interação dos métodos de aplicação com a profundidade. De acordo com a Tabela 2, é possível observar que apenas a interação, método de aplicação e profundidade, não foi significativa. Tanto o fator isolado quanto o método de aplicação foram significativos quando combinados com a profundidade.

Quanto à interação isolado x método de aplicação, pode-se observar (Tabela 3) que o tratamento suspensão aquosa JPM3 apresentou diferença significativa, causando até 84% de mortalidade. O isolado CCA também diferiu da testemunha, apresentando valor máximo de 68% de mortalidade.

No tratamento cadáver infectado, o resultado foi semelhante, porém a porcentagem de mortalidade foi inferior ao tratamento suspensão aquosa, sendo os valores máximos de mortalidade de 15 e 60% para CCA e JPM3, respectivamente.

Comparando os dois métodos de aplicação dentro de cada isolado, observou-se que CCA apresentou variação significativa, causando 68% de mortalidade no tratamento suspensão aquosa e apenas 15% no tratamento cadáver infectado. O isolado JPM3 também apresentou variação significativa entre os dois métodos de inoculação, alcançando valores de 60 e 84% de mortalidade nos tratamentos cadáver infectado e suspensão aquosa, respectivamente. De maneira geral, o isolado JPM3 apresentou melhores resultados de deslocamento, em ambos os métodos de aplicação na busca de *D. texensis*.

A interação isolado x profundidade também foi significativa. Analisando primeiramente o fator métodos de aplicação, dentro de cada isolado, podemos observar (Fig. 1) que, para o isolado CCA, o método suspensão aquosa foi mais eficiente no deslocamento que o método cadáver infectado, alcançando valor máximo de mortalidade na profundidade mais superficial (5 cm) de até 88%.

Na profundidade de 25 cm deste mesmo tratamento, a mortalidade foi de 55%. Mesmo este valor está acima do obtido no tratamento cadáver infestado na profundidade de 5 cm, que alcançou mortalidade de apenas 23%. Na profundidade de 25 cm, o tratamento cadáver infestado causou mortalidade de 5%, valor este abaixo até mesmo da testemunha.

O isolado JPM3 apresentou resultado de 90% de mortalidade, na profundidade de 5 cm no método de suspensão aquosa, variando até o valor de 68% na profundidade de 25 cm. No tratamento cadáver infectado, o valor máximo de mortalidade foi obtido na profundidade de 10 cm, e o menor, na profundidade de 25 cm, 73 e 43%, respectivamente (Fig. 2).

Analisando os dois isolados avaliados, dentro de cada método de aplicação, podemos observar (Fig. 3) que, no método cadáver infectado, JPM3 apresentou melhores resultados que o isolado CCA. Resultados semelhantes foram observados no método de suspensão aquosa (Fig. 4), com exceção na profundidade 5 cm, onde o desempenho dos dois isolados foi bastante semelhante. Porém, à medida que a profundidade foi aumentada, o isolado JPM3 causou maior mortalidade, quando comparado ao isolado CCA.

A maior parte das formulações de nematóides entomopatogênicos disponíveis no mercado, são feitas a partir de suspensões aquosas. No entanto, outras formulações estão sendo estudadas e testadas como amido, areia, solo, espumas e também cadáveres infectados. Entre os problemas enfrentados estão as dificuldades de estocagem e de aplicação. Entretanto, em trabalho desenvolvido por Shapiro-Ilan et al. (2001), os autores concluem que o uso de cadáveres infectados é uma forma promissora de aplicação de nematóides entomopatogênicos no controle de insetos-praga, apresentando, entre outras vantagens, a diminuição nos custos.

No entanto, de acordo com os dados obtidos neste trabalho, a aplicação de nematóides, pelo método de cadáver infectado teve desempenho inferior à aplicação via suspensão aquosa, para ambos os isolados avaliados. Uma possível explicação seria a diferença de umidade, já que no tratamento de cadáver infectado não foi aplicado, água no momento da inoculação. Este fator pode ter influenciado na emergência e mesmo no deslocamento dos JIs, na coluna de solo.

O uso da técnica de cadáver infectado tem se difundido nos últimos anos, alcançando bons resultados em alguns casos, quando comparado com a aplicação via suspensão aquosa em condições de

laboratório (Shapiro-Ilan et al., 2003). Entre as vantagens apresentadas por este método, está a ausência do estresse físico, provocado no método de suspensão aquosa, e possivelmente a componentes presentes no inseto hospedeiro que podem aumentar a infectividade e a capacidade de dispersão (Shapiro-Ilan et al., 2005).

Por outro lado, na ausência de condições favoráveis (umidade, temperatura, presença de outro hospedeiro), os JIs podem persistir dentro do hospedeiro, esperando por condições adequadas para sua emergência, e se estas não ocorrerem, os juvenis podem morrer dentro do corpo do cadáver infectado, sem que a emergência ocorra.

Quanto à dispersão vertical dos nematóides, vários fatores podem influenciá-la. Boff & Smits (2001) estudaram a influência da densidade, idade e presença do hospedeiro na dispersão de *H. megidis*, sabendo previamente do comportamento “cruiser” deste nematóide. Segundo os autores, todos estes fatores podem influenciar no deslocamento dos JIs, concluindo que a dispersão é maior quando os JIs estão em altas densidades, são mais jovens e respondem de maneira diferenciada à presença de determinados hospedeiros.

De maneira geral, os resultados indicam que o isolado JPM3 teve melhor desempenho do que o isolado CCA, quanto à capacidade de busca pela cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro. O método de aplicação por suspensão aquosa também se mostrou mais eficiente do que o método de cadáver infectado. Além disso, a eficiência de ambos os isolados é inversamente proporcional à profundidade, ou seja, a eficiência diminui à medida que a profundidade aumenta.

## Referências Bibliográficas

ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 463-467, July/Aug. 2004a.

ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 181-187, abr./jun. 2004b.

BOFF, M.I.C.; SMITS, P. H. Effects of density, age and host cues on the dispersal of *Heterorhabditis megidis*. **Biocontrol Science Technology**, San Diego, v. 11, n. 4, p. 505-514, Aug. 2001.

FITTERS, P. F. L.; GRIFFIN, C. T. Survival, starvation, and activity in *Heterorhabditis megidis* (Nematoda: Heterorhabditidae). **Biological Control**, San Diego, v. 37, n. 1, p. 82-88, 2006.

GEORGIS, R.; KOPPENHOFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; VAN TOL, R. W. H. M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 37, n. 1, p. 2005.

HUEY, R. B.; PIANKA, E. R. Ecological consequences of foraging mode. **Ecology**, Washington, v. 62, n. 4, p. 991-999, 1981.

KAYA, H. K. Entomopatogenous nematodes for insect control In IPM system. In: HASS, M. A.; HERZOG, D. C. **Biological control in agricultural IPM systems**. New York: Academic Press, 1985. p. 283-302.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 66-79, July 2006.

NAKANO, O. **O estudo da cochonilha da raiz do cafeeiro, *Dysmicoccus cryptus* (Hempel, 1918) comb.n. (Homoptera: Pseudococcidae)**. 1972. 130 p. Tese (Livre Docente) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

O'BRIEN, W. J.; EVANS, B. I.; BROWMAN, H. I. Flexible search tactics and efficient foraging in saltatory searching animals. **Oecologia**, New York, v. 80, n. 1, p. 100-110, 1989.

POINAR, G. O.; HOM, A. Survival and horizontal movement of infective stage *Neoplectana carpocapsae* in the field. **Journal Nematology**, Lakehand, v. 18, n. 1, p. 34-36, Jan. 1986.

RASMANN, S.; KOLLNER, T. G.; DEGENHARDT, J.; HILTPOLD, I.; TOEPFER, S.; KUHLMANN, U.; GERSHENZON, J.; TURLINGS, T. D. J. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, London, v. 434, n. 7034, p. 732-737, Abr. 2005.

SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUSA, J. C.; REIS, P. R. **Novas constatações da cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus criptus* em lavouras de café no sul de Minas Gerais**. Lavras: EPAMIG, 2000. 2 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 130).

SHAPIRO-ILAN, D. I.; LEWIS, E. E.; BEHLE, R. W.; McGUIRES, M. R. Formulation of entomopathogenic nematode-infected cadavers. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 78, n. 1, p. 17-23, July 2001.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; LEWIS, E. E.; TEDDERS, W. L. Superior efficacy observed in entomopathogenic nematodes applied in infected-host cadavers compared with applications in aqueous suspension. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 83, n. 3, p. 270-272, July 2003.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, July 2005.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; DAUM, S.; SOUZA, M. de A. **Cochonilha-da-raiz do cafeeiro**: aspectos biológicos, dano e controle. Lavras: EPAMIG, 2001. 4 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 136).

SOUZA, J. C.; RIBEIRO, J. A. **Cochonilha-da-raiz**: cafeicultor, conheça e saiba como controlar esta praga com inseticidas neonicotinóides. Lavras: EPAMIG, 2003. 3 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 162).

STUART, R. J.; POLAVARAPU, E.; LEWIS, E.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vacinni* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabdita: Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 90, n. 4, p. 925-932, Aug. 1997.

VAN TOL, R. W. H. M.; VAN SOMMEN, A. T. C. M.; BOFF, I. C.; VAN BEZOOIJEN, J.; SABELIS, M. W.; SMITS, P. H. Plants protect their roots by alerting the enemies of grubs. **Ecology Letters**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 292-294, July 2001.

WENNEMANN, L.; SHANKS, C. H.; SMITH, K. A. Movement of entomopathogenic nematodes in soils of *Fragaria* spp. **Commun Agricultural Applied Biological Science**, Ghent, v. 69, p. 347-357, 2004.

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de *D. texensis*, em diferentes concentrações de JIs de 2 isolados aplicados sobre coluna de areia.

Isolados	Concentrações (JIs/inseto) <sup>1</sup>		
	50	100	500
<i>Heterorhabditis</i> sp.CCA	72 ± 0,12 a	90 ± 0,03 a	92 ± 0,00 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3	76 ± 0,04 a	92 ± 0,00 a	92 ± 0,00 a
Testemunha	4 ± 0,0 b	4 ± 0,0 b	4 ± 0,0 b

C.V.= 8,20%

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste Scott-Knott (P<0,05).

Tabela 2. Análise de variância do deslocamento dos isolados *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM3 em coluna de solo aplicados pelos métodos de suspensão aquosa e cadáver infectado.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Isolados	2	84560.00000	42280.000000	193.74	0.000*
Mét. Aplic.	1	19763.333333	19763.333333	0.563	0.000*
Profundidade	4	3278.333333	819.583333	32.275	0.007*
Isol x Metod	2	14086.666667	7043.333333	32.275	0.000*
Isol x Prof.	8	3481.666667	435.208333	1.994	0.055*
Mét. x Prof.	4	1278.333333	319.583333	1.464	0.2191
Repetição	3	390.000000	130.000000	0.596	0.6193
Erro	95	20731.666667	218.228070		
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>147570.00000</b>			

C.V. = 36.48%

\* Valores significativos com  $P < 0,05$

Tabela 3. Porcentagem média de mortalidade de *D. texensis* causada pelos isolados *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM3 em coluna de solo aplicados pelos métodos de suspensão aquosa e cadáver infectado.

Tratamentos	Métodos de Aplicação	
	Suspensão Aquosa	Cadáver Infectado
CCA	68 ± 13,00 Ab <sup>1</sup>	15 ± 12,00 Bb
JPM3	84 ± 12,20 Aa	60 ± 21,00 Ba
Testemunha	7 ± 8,00 Ac	7 ± 8,00 Ac

C.V.= 36,48

<sup>1</sup> Médias seguidas de letras iguais maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de médias Scott-Knott (P<0,05).

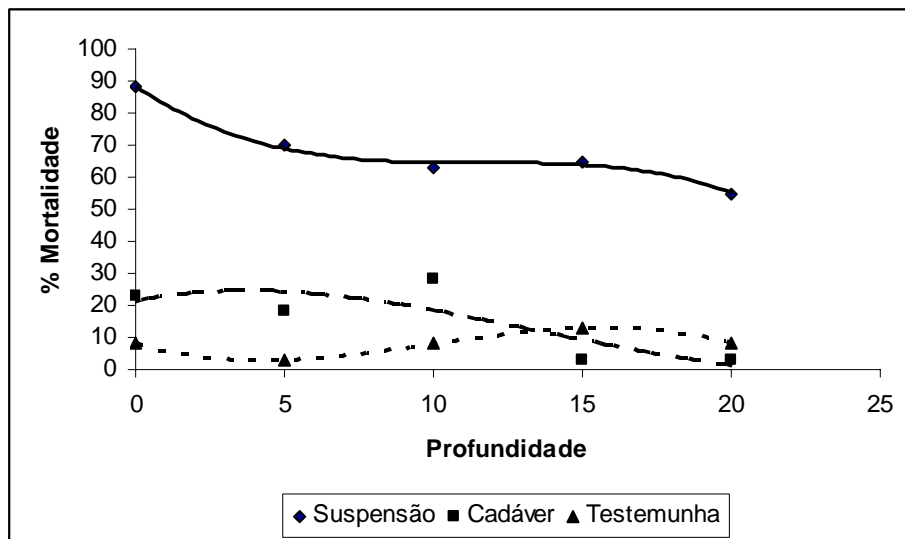


Figura 1. Curva de regressão para o isolado CCA, aplicado pelos métodos suspensão aquosa e cadáver infestado, considerando a porcentagem de mortalidade de *D. texensis* em função da profundidade em cm.

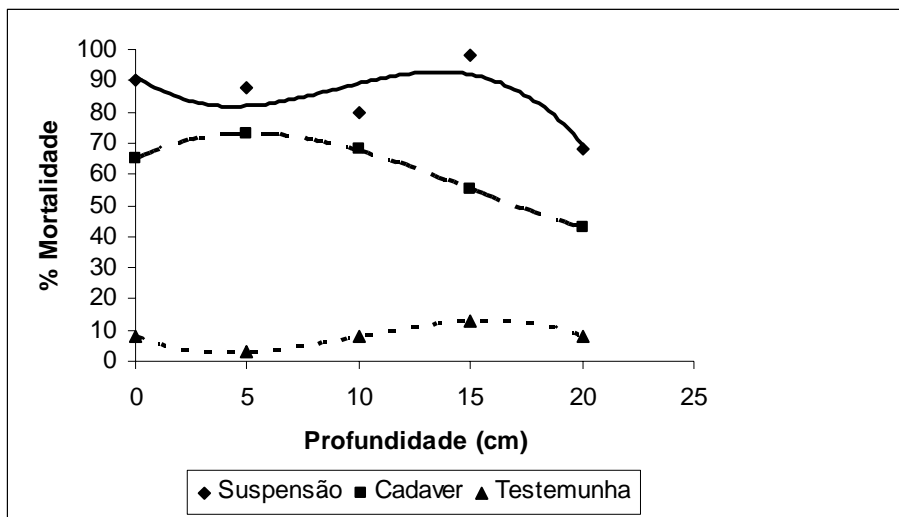


Figura 2. Curva de regressão para o isolado JPM3, aplicado pelos métodos suspensão aquosa e cadáver infestado, considerando a porcentagem de mortalidade de *D. texensis* em função da profundidade em cm.

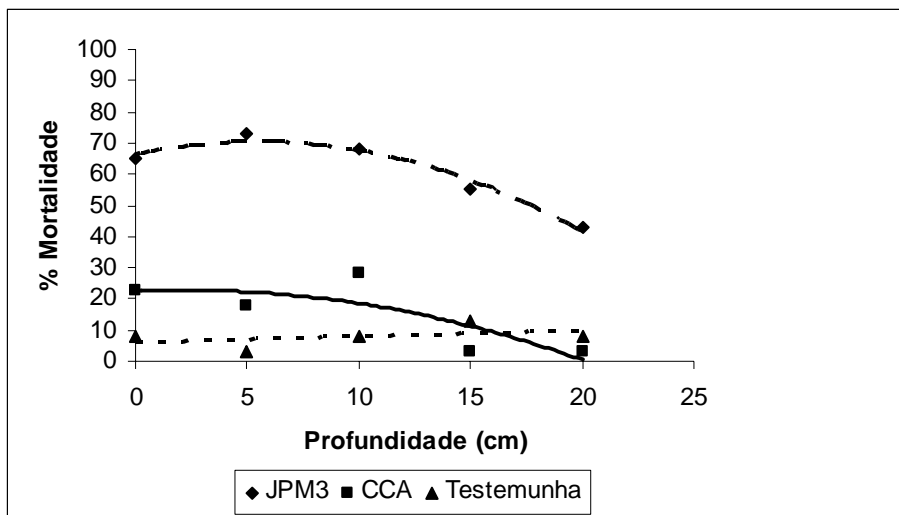


Figura 3. Curva de regressão para o isolado JPM3, CCA e Testemunha, aplicados pelo método cadáver infestado, considerando a porcentagem de mortalidade de *D. texensis* em função da profundidade em cm.

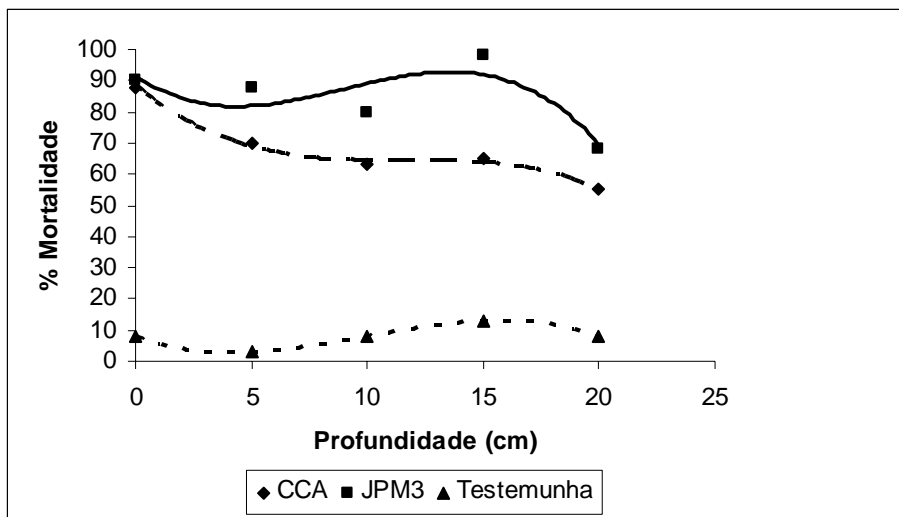


Figura 4. Curva de regressão para o isolado JPM3, CCA e Testemunha, aplicados pelo método suspensão aquosa, considerando a porcentagem de mortalidade de *D. texensis* em função da profundidade em cm.

## ARTIGO 4

Testes em condições de casa-de-vegetação e campo para o controle de  
*Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro  
com nematóides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis*  
(Rhabditida: Heterorhabditidae)

(Preparado de acordo com as normas da revista “Neotropical  
Entomology”)

VIVIANE S. ALVES<sup>1</sup>

ALCIDES MOINO JUNIOR<sup>1</sup>

LENIRA V. C. SANTA-CECILIA<sup>2</sup>

CRISTIANE ROHDE<sup>1</sup>

MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Departamento de Entomologia, CP 30,  
CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

<sup>2</sup> Epamig-CTSM/EcoCentro, Lavras, MG, Brasil.

Testes em condições de casa-de-vegetação e campo para o controle da  
cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley)  
(Hemiptera: Pseudococcidae) com nematóides entomopatogênicos do  
gênero *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae)

Green-house and field tests for the control of coffee root mealybug  
*Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) with  
*Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae)

### **ABSTRACT**

Entomopathogenic nematodes (EPNs) have potential for biological pest control and have been successfully used in several countries in soil and cryptic pests control like the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Laboratory tests demonstrated that these agents are highly virulent to the insect but semi-field and field tests are needed to determine their efficiency. Greenhouse tests were made in infested pots with two isolates and two application methods – dead insect bodies and aqueous suspension – in a complete randomized design with 5 replicates. Field tests were made in randomize plots (6 plots) to evaluate six isolates of heterorhabditids on coffee root mealybug control. Greenhouse results demonstrate that aqueous suspension were better for the two isolates, with 70% control efficiency for JPM3. In field experiments, treatments with aqueous suspensions of insecticide

(thiamethoxan) and JPM3 were the only ones statistically different from control, with 81 and 65% control efficiency, respectively.

**Key-words:** Heterorhabditidae, biological control, *Dysmicoccus texensis*.

## RESUMO

Os nematóides entomopatogênicos (NEPs) apresentam potencial para o controle biológico de pragas e têm sido usados com sucesso, em vários países, no controle de pragas de solo e de ambientes crípticos, como a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). Testes de laboratório demonstram que estes agentes apresentam alta virulência sobre o inseto. No entanto, são necessários testes que avaliem a eficiência dos NEPs em condições de casa-de-vegetação e campo, sendo este o objetivo deste trabalho. O experimento, em condição de casa-de-vegetação para controle da cochonilha, foi realizado em vasos infestados, usando dois isolados e dois métodos de aplicação (cadáver infectado e suspensão aquosa), conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. O experimento a campo foi conduzido em blocos casualizados (6 blocos), para avaliar a eficiência de dois isolados heterorhabditídeos no controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro. Os resultados mostraram que, em casa-de-vegetação, o método de suspensão aquosa apresentou melhores resultados para os dois isolados, sendo que JPM3, aplicado em suspensão aquosa, foi o melhor tratamento, apresentando eficiência de controle de 70%. No experimento de campo,

apenas o tratamento inseticida (thiamethoxan), usado como padrão de comparação, e JPM3, aplicado em suspensão aquosa, diferiram da testemunha, apresentando 81 e 65% de eficiência de controle, respectivamente.

**Palavras-chave:** Heterorhabditidae, controle biológico, *Dysmicoccus texensis*.

O uso de nematóides entomopatogênicos, como agentes de controle microbiano, ainda é limitado, quando comparado com outros agentes, como os fungos e bactérias (Grewal et al., 2001). No entanto, os nematóides apresentam uma combinação única de atributos que os tornam agentes promissores no controle microbiano de vários insetos-praga (Georgis et al., 2005; Grewal et al., 2005; Grewal et al., 1999; Kaya & Gaugler, 1993; Shapiro-Ilan, 2004).

Entre as principais vantagens apresentadas por estes agentes, está o fato de serem mais resistentes que outros entomopatógenos a produtos fitossanitários, possibilitando sua utilização em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP); podem apresentar ação sinérgica com outros agentes entomopatogênicos; apresentam boa capacidade de adaptação a novos ambientes, desde que estes não apresentem condições adversas extremas; algumas espécies podem movimentar-se no ambiente, buscando pelo hospedeiro; podem reproduzir-se por partenogênese e são inócuos a plantas e outros animais, inclusive ao homem (Ferraz, 1998; Lewis et al., 2006; Shapiro-Ilan et al., 2005).

Como limitações para o uso de nematóides entomopatogênicos no MIP, podemos citar a falta de produtos disponíveis no mercado. O

desenvolvimento de um produto à base de um agente entomopatogênico passa por inúmeras fases, entre elas a caracterização e comprovação da eficiência do agente biológico, para o controle de determinado inseto-praga, e esses procedimentos requerem tempo e custos (Ferraz, 1998).

Estudos sobre virulência, concentração letal e outros testes de laboratório são o princípio para a caracterização de isolados, para sua utilização como agentes de um programa de controle (Alves et al., 1998, Pereira et al., 1998).

Por outro lado, estudos em condições de casa-de-vegetação e campo também são importantes, pois retratam verdadeiramente quais as possibilidades de sucesso de um isolado, como agente eficiente no controle de um inseto-praga. Fatores como variação da temperatura, umidade, radiação solar e mesmo encontro do hospedeiro podem influenciar enormemente no sucesso de um agente de controle.

Assim, este trabalho teve como objetivos avaliar o desempenho de dois isolados heterorhabditídeos, previamente testados em condições de laboratório para o controle de *Dysmiococcus texensis*, em condições de casa-de-vegetação e campo.

## Material e Métodos

### Testes em casa-de-vegetação

Foram plantadas previamente 200 mudas de café *Coffea arabica* L. cultivar Mundo Novo, var. 476-4 em vasos com capacidade para 3 litros, utilizando-se, como substrato, esterco bovino e adubo na dosagem recomendada na região. As mudas foram produzidas na Fazenda Experimental de Lavras (FELA) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, em Lavras – MG.

A infestação das mudas com a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro foi feita, colocando um pedaço de aproximadamente 4 cm<sup>2</sup> de abóbora cabotcha, infestada com adultos e ninfas da cochonilha *D. texensis*, junto ao colo da planta durante 3 dias. Para mudas nas quais não ocorreu infestação, o procedimento foi repetido até que a infestação se instalasse na muda de café. A verificação da infestação foi feita, escavando-se em volta do caule, na região do colo, e também pela presença de formigas doceiras, que são um indicativo da presença da praga nas plantas. Uma vez infestadas, as mudas foram então submetidas aos tratamentos.

Para avaliação da eficiência de controle, em condições de casa-de-vegetação, os isolados heterorhabditídeos, previamente testados em

condições de laboratório, foram aplicados através de duas formas: inoculação direta de suspensão aquosa no solo e pelo método de cadáver infectado, sendo aplicados na concentração de 28 e 29 JIs/cm<sup>2</sup> (200 mL/vaso, aplicados próximo do colo da planta) e uma larva de *G. mellonella*/vaso (enterrada próxima do colo da planta) para os isolados CCA e JPM3, respectivamente.

A avaliação foi feita 7 dias após a aplicação, através da contagem do número total de insetos vivos, em toda a área de raiz das plantas.

Cada tratamento foi repetido 5 vezes, sendo cada parcela composta por uma planta e o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos a teste de comparação de médias Scott-Knott ( $P < 0,05$ ). A eficiência de controle dos tratamentos foi calculada através da fórmula de Abbott (1998).

### **Testes em campo**

Os testes, em condições de campo, foram conduzidos na propriedade Vista Alegre, no município de Garça, estado de São Paulo (49°64's / 22°23's com altitude de 682m), sendo que a montagem do experimento foi no dia primeiro de Junho de 2005 e a avaliação no dia 30 do mesmo mês.

Foram utilizadas 36 plantas de café *Coffea canephora* Pierre & Froehner, cv. Apoatã, de 2 anos e meio de idade, infestadas naturalmente com *D. texensis*, distribuídas em 6 blocos, contendo 6 tratamentos cada. Os tratamentos consistiram de nematóides *Heterorhabditis* sp. JPM3 e *Heterorhabditis* sp. CCA, duas formas de aplicação (suspensão aquosa e cadáver infectado), testemunha e produto químico (thiamethoxan 250 WG), como padrão de comparação. Os blocos foram distribuídos em três ruas, a partir da borda do cafezal.

Todas as parcelas receberam 1 litro de água antes de receberem os tratamentos. A aplicação do produto químico foi feita por inundação na concentração recomendada pelo fabricante. Os nematóides foram aplicados através de dois métodos: inundação (da mesma forma que o produto químico) na concentração de  $3,6 \times 10^5$  JIs/planta ( $100$  JIs/cm<sup>2</sup>) e pelo método de cadáver infectado, sendo que foram enterradas 10 larvas (cinco de cada lado da planta) a 10 cm de profundidade e a 5 cm do colo da planta. O produto químico foi aplicado na concentração de 0,23g p.c./planta em 80 mL de solução (Souza & Ribeiro, 2003), sendo metade da calda aplicada de cada lado da planta. O tratamento testemunha recebeu apenas água.

A avaliação foi feita 30 dias após a aplicação, através da retirada de 2 cm<sup>2</sup> de caule da região do colo, com auxílio de um estilete e feita a contagem do número de insetos. Além disso, foi feita avaliação da persistência dos nematóides no campo, coletando-se 300 g de solo em volta das plantas, nas quais esses foram aplicados. As amostras de solo foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA em caixa térmica, onde foram submetidas à análise de persistência pela técnica isca-viva (Kaya & Stock, 1997), usando larvas de último instar de *G. mellonella*. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ( $P < 0,05$ ). A eficiência de controle dos tratamentos foi calculada através da fórmula de Abbott (Alves et al., 1998).

## **Resultados e Discussão**

### **Testes em casa-de-vegetação**

No teste de patogenicidade de nematóides a *D. texensis* em vasos na casa-de-vegetação, não houve interação entre os fatores testados (isolados x método de aplicação).

O isolado JPM3, aplicado pelo método de suspensão aquosa alcançou valores significativos de controle de 68%. Quando aplicado pelo método de cadáver infectado, a eficiência de controle diminuiu para apenas 46% (Tabela 1).

Por outro lado, o isolado CCA alcançou valor máximo de eficiência de 28%, quando aplicado em suspensão aquosa, e de apenas 18% quando aplicado pelo método de cadáver infectado (Tabela 1).

Os resultados obtidos são devidos, principalmente, à alta variabilidade entre diferentes espécies, ou mesmo entre diferentes isolados, além de vários outros fatores, que podem influenciar na eficiência de um agente, no controle de um inseto: fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa do ar e do solo, radiação, entre outros. Assim, a biologia e o comportamento do isolado, do inseto hospedeiro e as condições ambientais em que o programa será desenvolvido são essenciais no estabelecimento da estratégia de controle (Georgis et al., 2005).

Vários isolados, avaliados como eficientes no controle de insetos em condições de laboratório, quando levados a condições de campo, podem não apresentar os mesmos resultados, pois fatores do ambiente

como temperatura, umidade relativa do ar e do solo, luminosidade; fatores do hospedeiro como comportamento (sédil ou móvel), hábitos de vida, resistência e por último, fatores do isolado como capacidade de busca, especificidade ou não ao hospedeiro, resistência a condições ambientais desfavoráveis (Dowds & Peters, 2002). Esses fatores devem ser levados em consideração, na implementação de um programa de controle, e a avaliação de tais fatores nem sempre é possível em condições de laboratório.

### **Testes em campo**

No experimento realizado a campo, os dados foram semelhantes ao experimento em casa-de-vegetação. Apenas o isolado JPM3, aplicado pelo método de suspensão aquosa, e o inseticida apresentaram valores de eficiência significativos no controle de *D. texensis* (65 e 81%, respectivamente) (Tabela 2). Quando aplicado pelo método de cadáver infectado, o isolado JPM3 apresentou apenas 19% de eficiência. O isolado CCA não foi eficiente em nenhum dos métodos de aplicação, não diferindo da testemunha.

Quanto à recuperação dos nematóides, através de armadilha de isca viva, foi possível observar que, nos tratamentos que não receberam

aplicação de nematóides (testemunha e inseticida), não houve nenhuma ocorrência de nematóides. Por outro lado, todos os tratamentos, em que houve aplicação de nematóides, apresentaram amostras positivas de isolamento (Tabela 3).

Os melhores índices de recuperação, para os dois isolados, foram obtidos nos tratamentos de aplicação através de suspensão aquosa (100% para CCA e 83% para JPM3). Nos tratamentos de aplicação através de cadáver infectado, o índice de recuperação foi menor, sendo 50% para JPM3 e 17% para CCA.

Vários fatores podem ter contribuído para a persistência dos isolados no campo, como por exemplo, a temperatura, umidade relativa do ar e do solo e radiação. De acordo com os dados do INPE (2006) para o mês de junho de 2005, a precipitação máxima na cidade de Garça - SP foi de 80 mm, com temperatura do ar média de 20° C (Fig. 1). Esses fatores provavelmente contribuíram para a sobrevivência dos nematóides no campo, propiciando sua recuperação.

A eficiência dos nematóides entomopatogênicos, em condições de campo, requer umidade do solo adequada para sua sobrevivência. A ausência de umidade pode levá-los a dessecação, enquanto que o excesso

de água no solo causa diminuição do oxigênio disponível e também dificuldade de movimentação (Kaya, 1990; Koppenhofer et al., 1995; Peres et al., 2003). De acordo com os dados apresentados na Figura 1, é possível observar que a precipitação, acumulada no período em que o experimento foi conduzido, favoreceu os JIs aplicados, uma vez que a concentração de água no solo manteve-se em torno de 80 mm. As variações na temperatura e na umidade do solo podem influenciar na emergência e na sobrevivência de JIs do gênero *Heterorhabditis* (Brown & Gaugler, 1997).

A temperatura ideal para infecção e reprodução dos nematóides entomopatogênicos varia entre as diferentes espécies, e mesmo entre isolados (Grewal et al., 1994; Shapiro-Ilan et al., 2005; Van Tol & Raupp, 2006). A aplicação dos nematóides, em temperaturas muito baixas ou muito altas, próximas de seu limiar de sobrevivência, pode interferir na sua atividade, ou até torná-los inviáveis (Lacey et al., 2005).

Entretanto, um fato curioso ficou evidente nos resultados: se ambos os isolados estavam presentes em ambas as formas de aplicação, então porque apenas JPM3 aplicado pelo método de suspensão aquosa foi eficiente no controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro? Uma possível

explicação seria a forma de busca dos dois isolados. JPM3, provavelmente, é um isolado “cruiser”, enquanto que CCA apresenta comportamento “ambusher”.

Nematóides que possuem estratégia de busca do tipo “ambusher” são mais eficientes no controle de insetos que são ativos (que se movimentam mais), enquanto que nematóides que apresentam estratégia “cruiser” são mais eficientes no controle de insetos sésseis ou com hábitos cripticos (Lewis et al., 1992; Lewis, 2002; Lewis et al., 2006).

A classificação de um nematóide como “cruiser” ou “ambusher” é baseada na diferença de tempo em que o nematóide permanece estático ou o tempo em que ele gasta, movimentando-se através do ambiente (Huey & Pianka, 1981; O’Brien et al., 1989). Mesmo estrategistas do tipo “ambusher” podem mover-se e estrategistas “cruiser” também podem permanecer estáticos por algum tempo. Isso explica também a existência de isolados que apresentam comportamento intermediário.

Quanto aos mecanismos comportamentais de busca, eles são melhor retratados nos nematóides, que apresentam estratégia do tipo “cruiser” (Lewis et al., 2006). O uso de quimiotaxia na localização do hospedeiro já está bem evidenciada em vários trabalhos (Elliot et al.,

2000; Baldwin et al., 2002; Degenhardt et al., 2003; Rasmann et al., 2005; van Tol et al., 2001).

Neste estudo, vários fatores indicam o isolado JPM3 como um agente promissor no controle de *D. texensis*, entretanto, testes mais detalhados ainda são necessários. Técnicas de aplicação em larga escala precisam ser avaliadas, testes sobre persistência dos JIs no campo, durante períodos maiores, são necessários, bem como técnicas de produção e formulações adequadas que facilitem e disponibilizem tais recursos para o produtor. Mesmo assim, o isolado JPM3, aplicado em suspensão aquosa, teve uma eficiência similar ao do inseticida thiamethoxan, indicando-o como um agente promissor no controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro.

## Referências Bibliográficas

- 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**. Piracicaba: FEALQ-USP, 1998. p. 637-710.
- BALDWIN, I. T.; KESSLER, A.; HALITSCHKE, R. Volatile signaling in plant-herbivore interactions: what is real? **Current Opinion and Plant Biology**, London, v. 5, n. 4, p. 351-354, Aug. 2002.
- BROWN, I. M.; GAUGLER, R. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. **Nematologica**, Leiden, v. 43, n. 5, p. 363-375, Sept. 1997.
- DEGENHARDT, J.; GERSHENZON, J.; BALDWIN, I. T.; KESSLER, A. Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 14, n. 2, p. 169-176, Apr. 2003.
- DOWDS, B. C. A.; PETERS, A. Virulence Mechanisms. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI, 2002. p. 79-93.
- ELLIOT, S. L.; SABELIS, M. W.; JANSSEN, A.; VAN DER GEEST, L. P. S.; BEERLING, E. A. M.; FRANSEN, J. Can plants use entomopathogens as bodyguards? **Ecology Letters**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 228-235, May 2000.
- FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ-USP, 1998. p. 551-567.
- GEORGIS, R.; KOPPENHOFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; VAN TOL, R.W.H.M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 103-123, July 2006.

GREWAL, P. S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D. J. **Nematodes as Biocontrol Agents**. Wallingford: CABI Publishing, 2005.

GREWAL, P. S.; CONVERSE, V.; GEORGIS, R. Influence of production and bioassay methods on infectivity of two ambush foragers (Nematoda: Steinernematidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 73, n. 1, p. 40-44, Jan. 1999.

GREWAL, P. S.; SELVAN, S.; GAUGLER, R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes niche breadth for infection, establishment and reproduction. **Journal of Thermics Biology**, Oxford, v. 19, n. 4, p. 245-253, Aug. 1994.

GREWAL, P. G.; NARDO, E. A. B. de; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: Potential for exploration and use in south américa. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, June 2001.

HUEY, R. B.; PIANKA, E. R. Ecological consequences of foraging mode. **Ecology**, Washington, v. 62, n. 4, p. 991-999, Aug. 1981.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS – INPE.  
<<http://www.inpe.br>>. Acesso em: 02 mar. 2006.

KAYA, H. K. Soil Ecology. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. **Entomopathogenic nematodes in biological control**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 93-116.

KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 38, p. 181-206, 1993.

KAYA, H. K.; STOCK, S. P. Techniques in insect nematology. In: **Manual of techniques in insect pathology**. New York: Academic press, 1997. p. 281-324.

KOPENHOFER, A. M.; KAYA, H. K.; TAORMINO, S. P. Infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabdita: Steinernematidae) at different soil depths and moistures. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 65, n. 2, p. 193-199, Mar. 1995.

LACEY, L. A.; ARTHURS, S. P.; UNRUH, T. R.; HEADRICK, H.; FRITTS JR., R. Entomopathogenic nematodes for control of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple and pear orchards: adjuvants, application equipment, and post-application irrigation. **Biological Control**, San Diego, v. 37, n. 2, p. 214-223, May 2006.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 66-79, July 2006.

LEWIS, E. E. Behavioral ecology. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nemathology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 205-224.

LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; RARRISON, R. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. **Parasitology**, New York, v. 105, n. 2, p. 309-319, Oct. 1992.

O'BRIEN, W. J.; EVANS, B. I.; BROWMAN, H. I. Flexible search tactics and efficient foraging in saltatory searching animals. **Oecologia**, New York, v. 80, n. 1, p. 100-110, 1989.

PERES, E. E.; LEWIS, E. E.; SHAPIRO-ILAN, D. I. Impact of the host cadáver on survival and infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabdita: *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) under desiccating conditions. **Journal Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 82, n. 2, p. 111-118, Feb. 2003.

PEREIRA, R. M.; ALVES, S. B.; SOSA-GOMES, D. R.; MACEDO, N. Utilização de entomopatógenos no Manejo Integrado de Pragas. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ-USP, 1998. p. 1097-1115.

RASMANN, S.; KOLLNER, T. G.; DEGENHARDT, J.; HILTPOLD, I.; TOEPFER, S.; KUHLMANN, U.; GERSHENZON, J.; TURLINGS, T. D. J. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, London, v. 434, n. 7034, p. 732-737, Abr. 2005.

SHAPIRO-ILAN, D. I. Entomopathogenic nematodes and insect management. In: CAPINERA, J. L. **Encyclopedia of entomology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishing, 2004. p. 781-784.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2006.

VAN TOL, R. W. H. M.; RAUPP, M. J. Nursery and tree applications. In: GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D.I. **Nematodes as biological control agents**. Wallingford: CABI Publishing, 2006.

VAN TOL, R. W. H. M.; VAN SOMMEN, A. T. C. M.; BOFF, I. C.; VAN BEZOOIJEN, J.; SABELIS, M. W.; SMITS, P. H. Plants protect their roots by alerting the enemies of grubs. **Ecology Letters**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 292-294, July 2001.

Tabela 1. Número médio de insetos vivos e porcentagem de eficiência de controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro em condições de casa-de-vegetação utilizando dois isolados (*Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM3 ) através de dois métodos de .

Isolados	Métodos de aplicação			
	Suspensão aquosa		Cadáver infectado	
	Nº médio de insetos/planta	Eficiência (%)	Nº médio de insetos/planta	Eficiência (%)
CCA	11 ± 4,72 Aa <sup>1</sup>	28	13 ± 5,52Aa	18
JPM3	3 ± 2,72 Ba	68	8 ± 3,44 Aa	46
Test.	17 ± 4,72 Aa	-	17 ± 4,72Aa	-

C.V.= 55,23%

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras distintas maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 2. Número médio de insetos vivos por planta e eficiência de controle de *D. texensis* em condições de campo após aplicação de inseticida e nematóides entomopatogênicos.

<b>Tratamentos</b>	<b>Nº médio de insetos/ 2cm<sup>2</sup> casca</b>	<b>Eficiência (%)</b>
Inseticida	6 ± 7,78 <b>a</b> <sup>1</sup>	81
JPM3 suspensão	11 ± 8,83 <b>a</b>	65
JPM3 Cadáver infectado	24 ± 19,50 <b>b</b>	19
CCA suspensão	31 ± 9,56 <b>b</b>	0
CCA Cadáver infectado	32 ± 17,00 <b>b</b>	0
Testemunha	30 ± 10,00 <b>b</b>	-

C.V.= 71,98%

<sup>1</sup>Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 3. Recuperação de nematóides entomopatogênicos aplicados através de diferentes métodos para controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *D. texensis* .

<b>Tratamentos</b>	<b>Amostras positivas</b>	<b>Amostras negativas</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Inseticida	0	6	0
JPM3 suspensão	5	1	83
JPM3 Cadáver infectado	3	3	50
CCA suspensão	6	0	100
CCA Cadáver infectado	1	5	17
Testemunha	0	6	0

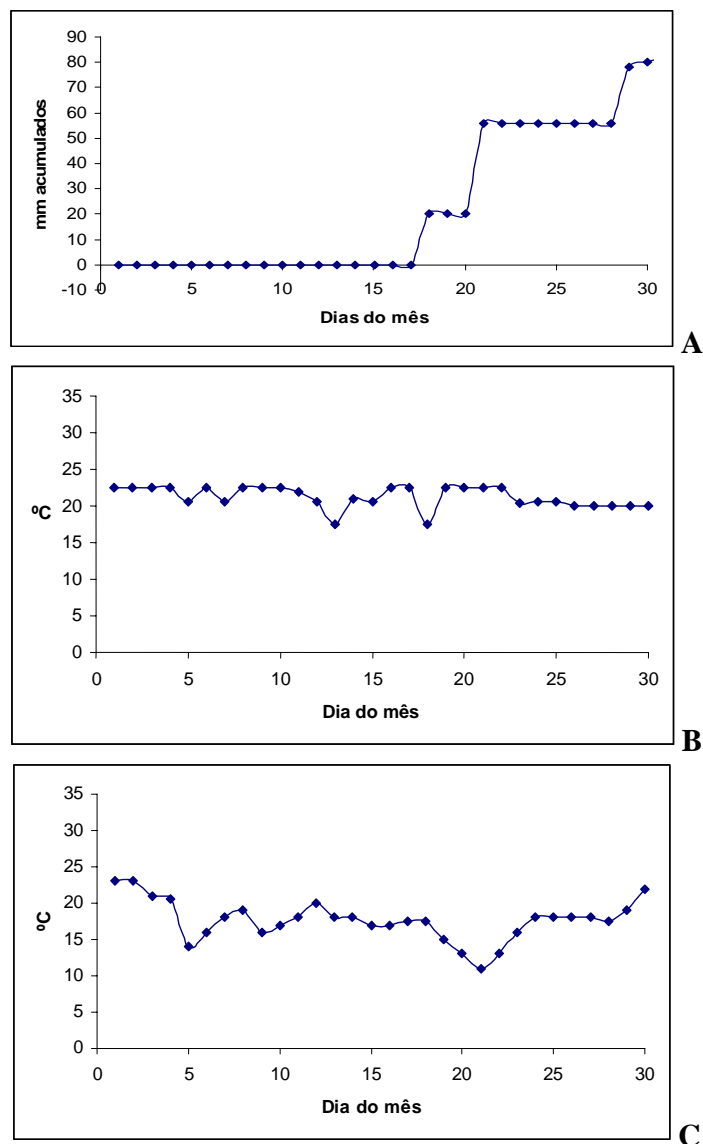


Figura 1. **A:** Precipitação pluviométrica acumulada; **B:** temperatura média do solo; **C:** Temperatura média do ar para o mês de Junho de 2005 na cidade de Garça – São Paulo (INPE, 2006).

## **Considerações Finais**

O crescente progresso na elaboração de métodos de produção massal e formulações adequadas para aplicação e armazenamento de nematóides entomopatogênicos, a descoberta de novos isolados e a constante busca de meios alternativos ao controle químico têm resultado num crescente interesse comercial e científico sobre estes agentes.

Neste trabalho foi possível observar que insetos de difícil controle, devido a seus hábitos crípticos, como a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, podem ter, nesses agentes, inimigos naturais, com bom potencial para utilização em programas de controle biológico.

Entretanto, ainda há muito a ser feito. Estudos para isolamento de isolados nativos são necessários, bem como testes de caracterização e identificação dos já existentes.

Com certeza, a maior dificuldade para o uso de nematóides entomopatogênicos, hoje, no Brasil, é a falta de tecnologia de produção, armazenamento e o desenvolvimento de formulações adequadas. Cabe a nós, comunidade científica envolvida, lutar por melhorias em nossas instituições e maiores investimentos em projetos de pesquisa científica para a mudança desse quadro, bem como estimular a iniciativa privada, para investimentos no desenvolvimento de produtos comerciais de qualidade.