

# SELEÇÃO DE ISOLADOS DE FUNGOS E NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA A COCHONILHA-DA-RAIZ-DO-CAFEEIRO *DYSMICOCOCUS TEXENSIS* (TINSLEY)

V. Andalo<sup>1</sup>, A. Moino Junior<sup>1</sup>, L.V.C. Santa-Cecilia<sup>2</sup>, G.C. Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Departament. de Entomologia, CP 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: vanessa.andalo@prpg.ufla.br

## RESUMO

A grande variabilidade existente entre espécies e isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos, tanto na forma de ação como na adaptação ao ambiente, demonstram a importância da realização de uma fase de seleção, visando o controle de determinada praga. Assim, o objetivo desse trabalho foi selecionar um fungo e um nematóide, do total de 81 isolados fúngicos e quatro espécies de nematóides, considerados mais virulentos para *Dysmicoccus texensis*. Suspensões fúngicas foram aplicadas sobre o inseto na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios/mL, em placas de Petri de 9 cm contendo 20 g de areia esterilizada e um broto de batata. As placas foram dispostas em caixas plásticas e mantidas em condições controladas de temperatura e umidade. A avaliação da mortalidade foi feita sete dias após a inoculação. Deste bioensaio foram selecionados 10 isolados que causaram maior mortalidade e feito um novo bioensaio para determinação dos  $TL_{50}$ . Foram também avaliadas quatro espécies de nematóides, utilizando-se as concentrações de 25, 50 e 100 IJ/cochonilha. As avaliações foram feitas diariamente até oito dias após a inoculação. O isolado UEL 114 do fungo *Beauveria bassiana* e o nematóide *Steinernema carpocapsae* foram selecionados por causarem maior mortalidade em menor tempo em fêmeas adultas desta cochonilha.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, *Coffea* spp., Insecta, praga subterrânea.

## ABSTRACT

SELECTION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND NEMATODES TO THE COFFEE ROOT MEALYBUG *DYSMICOCOCUS TEXENSIS* (TINSLEY). There are some differences between fungi and nematodes infecting insects, such as in their mode of action or in their adaptation to the environment, that demonstrate the importance of a selection phase before using them to control a certain pest. The objective of this work was to select a fungus strain and a nematode species (total tested: 81 fungi and four nematodes) with high virulence to *Dysmicoccus texensis*. The fungi were applied on *D. texensis* at the concentration of  $1 \times 10^8$  conidia/mL, in 9 cm diameter Petri dishes containing 20 g of sterilized sand and a potato sprout, in which the insects were placed. The dishes were maintained in closed plastic boxes and kept in controlled conditions of temperature and humidity. The mortality evaluation was made at seven days after inoculation. Ten fungi strains were selected by causing higher mortality levels and submitted to a new bioassay to determine  $TL_{50}$ . Four nematode species were evaluated at the concentrations 25, 50 and 100 IJ/mealybug. The mortality evaluation was made daily until eight days after inoculation. The fungus *Beauveria bassiana* (UEL 114) and the nematode *Steinernema carpocapsae* were selected by causing high mortality in short time periods in adult females of this mealybug.

KEY WORDS: Biological control, *Coffea* spp., Insecta, subterranean pest.

## INTRODUÇÃO

A cultura do cafeeiro é suscetível à ocorrência de um grande número de artrópodes-pragas, entre eles as chamadas cochonilhas-da-raiz, importantes pragas subterrâneas. Isso se dá principalmente devido à longa permanência da planta no campo (perenidade),

ocorrendo efeitos diretos sobre o seu desenvolvimento, a produção e a qualidade do fruto. Os estudos para uso do controle microbiano de pragas nesta cultura têm se fortalecido atualmente, principalmente, devido à maior procura pelo café orgânico e de qualidade, com regulação no uso de produtos fitossanitários (MARTINEZ & SURIS, 2000).

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

Os fungos apresentam grande variabilidade genética, o que possibilita selecionar isolados com alta virulência, objetivando o controle de várias pragas. Desta forma, pode-se selecionar os melhores fungos, adequados às condições existentes, tornando-os viáveis em um programa de controle microbiano de pragas (ALVES, 1998).

De acordo com PACOLLA-MEIRELLES & AZEVEDO (1990), as linhagens usadas devem ser as mais apropriadas, que tenham qualidades satisfatórias, para que um programa de controle biológico seja o mais eficiente possível. As diferenças de mortalidade observadas em bioensaios com fungos mostram a importância da realização da fase de seleção de isolados, sendo esta fase indispensável para a escolha dos isolados mais eficientes (MOINO JUNIOR *et al.*, 1998).

Com relação aos nematóides, estes possuem boa capacidade de adaptação a novos ambientes e algumas espécies conseguem se difundir no ambiente, podendo buscar um hospedeiro quando preciso, facilitando seu uso em programas de manejo integrado. A alta adaptação entre o complexo nematóide/bactéria simbiótica mata rapidamente o inseto, permitindo que estes tenham um espectro de hospedeiros superior aos dos demais organismos entomopatogênicos (FERRAZ, 1998). O objetivo deste trabalho foi selecionar um isolado fúngico e um nematóide com alta virulência à cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Criação de *Dysmicoccus texensis*

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

As cochonilhas foram mantidas em condições controladas de temperatura ( $27 \pm 1^\circ \text{C}$ ), com umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas, em sala climatizada. Foram utilizadas batatas com brotações, colocando-se pelo menos duas fêmeas adultas por brotação, e estas colocadas em recipientes plásticos. Verificações semanais foram realizadas a fim de transferir as cochonilhas para batatas novas e infestar novo material, incrementando a criação. Para transferência dos insetos de uma batata para outra, foi usado um pincel fino e um estilete. As batatas infestadas com as cochonilhas foram colocadas em recipientes plásticos e estes cobertos com filme plástico de PVC. O plástico foi perfurado várias vezes com estilete para facilitar a aeração.

### Obtenção dos nematóides e isolados de fungos

Os fungos e nematóides foram obtidos no Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da UFLA, provenientes da UNESP, Campus de Jaboticabal, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), da Universidade Estadual de Londrina (UEL), da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, do Instituto Biológico de São Paulo (CEIB/Campinas), da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar, Araras, SP) e da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF, Campos dos Goytacazes, RJ), estando os fungos armazenados em tubos plásticos do tipo Eppendorf e os nematóides, em frascos Erlenmeyer em suspensão aquosa.

Os fungos foram mantidos em freezer, com temperatura de  $-10^\circ \text{C}$  e, quando necessário, repicados em placas de Petri em meio de cultura artificial para produção de esporos (ME) (ALVES *et al.*, 1998). Estas placas foram mantidas em câmara climatizada B.O.D., temperatura de  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  por cerca de 7 dias, quando os conídios foram transferidos para o freezer e armazenados em tubos plásticos do tipo Eppendorf.

O cultivo de nematóides também foi realizado no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA. Os nematóides foram mantidos em frascos Erlenmeyer na geladeira com temperatura de  $8 \text{ a } 10^\circ \text{C}$ , em suspensão aquosa com 500 JI/mL (juvenis infectivos/mL).

Para a multiplicação foram usadas lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), criadas no Laboratório de Patologia de Insetos de acordo com metodologia adaptada de PARRA (1998), sendo que foi colocado um macho para 3 fêmeas do inseto adulto em potes de plástico contendo papéis sanfonados para oviposição e dieta artificial contendo mel e água (1:1). Estes potes foram fechados com tecido tipo filó e a cada dois dias retirados os ovos e transferidos para recipientes plásticos também fechados com filó, contendo cera alveolada e dieta artificial para criação de larvas de *G. mellonella*.

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

Após esta fase foi montada a armadilha de White, que consiste em uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro, colocando-se no seu interior a tampa ou o

fundo de uma placa de 9 cm virada para baixo. Sobre esta foi posta uma folha de papel filtro cortada conforme o diâmetro da placa maior, onde foram colocadas cinco lagartas mortas por nematóides e cerca de 3 mL de água no fundo da placa. As armadilhas foram colocadas em B.O.D. por um período de 3 a 7 dias. Após este prazo a água foi recolhida e a suspensão passou por um processo de filtragem e decantação. Para a filtragem foi usado um funil, uma proveta, uma peneira de malha 350 para *Steinernema glaseri* e uma de 150 para os demais nematóides, já que *S. glaseri* é maior e fica preso na peneira de malha maior. Na proveta foram adicionados 750 mL de água destilada mais espalhante adesivo Tween 80 a 0,1% e a suspensão de nematóides foi filtrada, deixando decantar por 1 dia. Depois de realizado esse processo de purificação dos nematóides, foi retirada uma alíquota de 1 mL para realizar a sua quantificação em placa de Petri de 5 cm. Foram feitas as diluições e as suspensões armazenadas em geladeira.

### Bioensaios para seleção de fungos e nematóides

#### Fungos

Vários isolados dos fungos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. farinosus*, *P. lilacinus* e *Verticillium lecanii* foram testados com a finalidade de selecionar aqueles que causassem maior taxa de mortalidade a uma mesma concentração em *D. texensis*.

Os fungos foram inoculados através de pulverização com aspersor manual sobre a cochonilha, no volume de 1 mL, na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios/mL em placas de Petri de 5 cm contendo 20g de areia esterilizada e um broto de batata, onde foi colocada apenas uma fêmea adulta, por se tratar de uma fase de seleção inicial com um grande número de isolados a serem testados. As placas foram colocadas em caixas plásticas fechadas, com esponja umedecida e acondicionadas em condições controladas em B.O.D., com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ .

As avaliações foram feitas dez dias após a inoculação, verificando-se a quantidade de insetos mortos. Após a avaliação, estes foram colocados em câmara úmida para confirmação da mortalidade pelo fungo. Com os resultados obtidos foram escolhidos os isolados que causaram maior mortalidade.

Com os 10 isolados selecionados foi feito um bioensaio para determinar os  $TL_{50}$ . Foram usadas cinco repetições com 10 cochonilhas por placa, nas mesmas condições do bioensaio anterior. Para a testemunha foi pulverizada água destilada esterilizada + Tween 80 (0,1%), sendo as avaliações feitas diariamente até dez dias após a inoculação.

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

#### Nematóides

Os nematóides utilizados foram *Heterorhabditis* sp., *Steinernema arenarium*, *Steinernema carpocapsae* e *S. glaseri* (Tabela 1).

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

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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Seleção de fungos entomopatogênicos

Foram selecionados 10 isolados fúngicos que causaram maior mortalidade, entre 56 e 64%, sendo nove isolados de *B. bassiana* e um de *M. anisopliae* (Tabelas 2, 3).

Tabela 1 - Procedência, hospedeiro e identificação dos nematóides utilizados.

Identificação	Procedência	Hospedeiro
<i>Heterorhabditis</i> sp.	UFSCAR, Araras, SP	Solo de cana-de-açúcar
<i>Steinernema arenarium</i>	Flórida	-
<i>Steinernema carpocapsae</i>	Flórida	-
<i>Steinernema glaseri</i>	S <sup>ta</sup> Rosa de Viterbo, SP	Solo de cana-de-açúcar

Tabela 2 - Procedência, hospedeiros e identificação dos 10 isolados de fungos selecionados.

Isolado	Procedência	Hospedeiro	Identificação
UEL 114	Londrina, PR	-	<i>B. bassiana</i>
UEL 108	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>B. bassiana</i>
CB 480	Campinas, SP	Solo de viveiro	<i>M. anisopliae</i>
CB 498	São Paulo, SP	<i>Rincophorus palmarum</i>	<i>B. bassiana</i>
UFLA 9	Lavras, MG	Solo	<i>B. bassiana</i>
UEL 82	Londrina, PR	-	<i>B. bassiana</i>
CB 17	Cosmópolis, SP	<i>Anthonomus grandis</i>	<i>B. bassiana</i>
UEL 67	Londrina, PR	-	<i>B. bassiana</i>
UEL 22	Londrina, PR	<i>Hypothenemus hampei</i>	<i>B. bassiana</i>
CB 28	Miracatu, SP	<i>Cosmopolites sordidus</i>	<i>B. bassiana</i>

Tabela 3 - Porcentagem de mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *Dysmicoccus texensis* inoculadas com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

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

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

<sup>1</sup>Média ± Erro Padrão da Média.

Foi encontrada uma grande variação entre as porcentagens de mortalidade obtidas, tanto para fungos diferentes como para os isolados do mesmo fungo. Cerca de 58% dos isolados de *B. bassiana* causaram mortalidade de 50 a 65%, enquanto que a maioria dos isolados de *M. anisopliae* (62,5%) causou mortalidade entre 30 e 50% (Fig. 1).

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

Estudos realizados por WRAIGHT et al. (1998) mostram resultados em que 14 de 22 isolados de *B. bassiana* e quatro de 13 isolados de *P. fumosoroseus*, causando mortalidade em ninfas de *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae), foram considerados com potencial para controle deste inseto.

Essas diferenças também foram apresentadas por MOINO JUNIOR et al. (1998) em uma seleção de isolados, tendo ocorrido uma grande diferença entre a suscetibilidade de *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae), a isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo que o primeiro fungo mostrou maior virulência que o segundo. Estes resultados mostram a importância de se realizar uma fase de seleção de isolados, pois a variabilidade encontrada entre fungos diferentes ou até mesmo entre isolados do mesmo fungo é considerável; assim, é possível encontrar materiais com diferenças na virulência, que tenham as qualidades adequadas para que o entomopatogêneo selecionado seja o mais eficiente possível.

### Determinação dos TL<sub>50</sub> para fungos

Não foram verificadas diferenças significativas entre as porcentagens de mortalidade, apesar destas terem sido maiores para os isolados UEL 114 e UEL 108 (Tabela 4).

A maior parte destes isolados causou mortalidade em *D. texensis* entre o sétimo e o oitavo dia após a sua aplicação, mostrando que ocorre um pico de mortalidade nesses pontos, já que com seis dias houve no máximo 20% de mortalidade e com nove dias, no máximo 10% de mortalidade, sendo que com sete dias ocorreu até 35% de mortalidade e com oito dias, 30% de mortalidade (Fig. 2). Antes de seis dias não foi observada mortalidade em *D. texensis*, podendo ser devido à dificuldade de penetração do fungo, pela presença de uma secreção pulverulenta sobre o inseto. Após dez dias da inoculação, também não foi observada ocorrência de mortalidade de *D. texensis*.

Tabela 4 - Tempos letais médios (TL<sub>50</sub>) em dias, intervalos de confiança (IC) (P < 0,05), equações de regressão linear e valores de  $\chi^2$  obtidos pela análise de Probit para os fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre *Dysmicoccus texensis*.

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

Tabela 5 - Porcentagem de mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *Dysmicoccus texensis* inoculadas com nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*.

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

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

<sup>1</sup>Média ± Erro Padrão da Média.

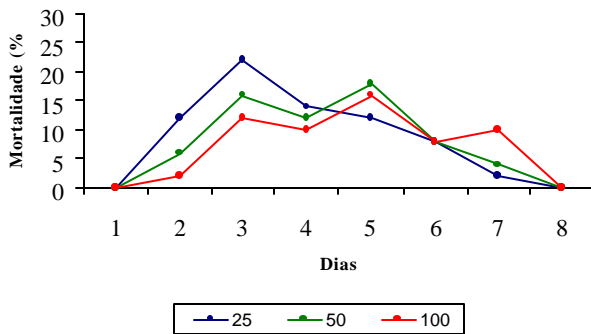


Fig. 3 - Porcentagem de mortalidade diária de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Steinernema carpocapsae*.

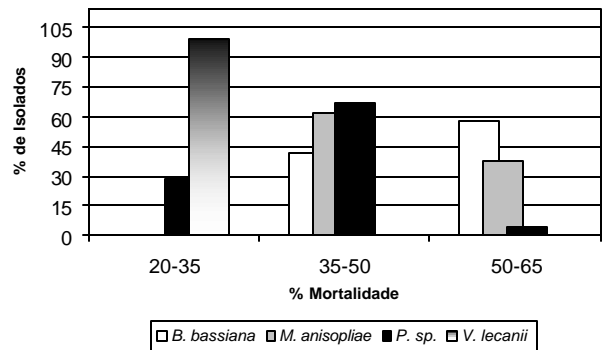


Fig. 1 - Frequência de distribuição de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces* sp. e *Verticillium lecanii*, de acordo com a mortalidade causada em *Dysmicoccus texensis*.

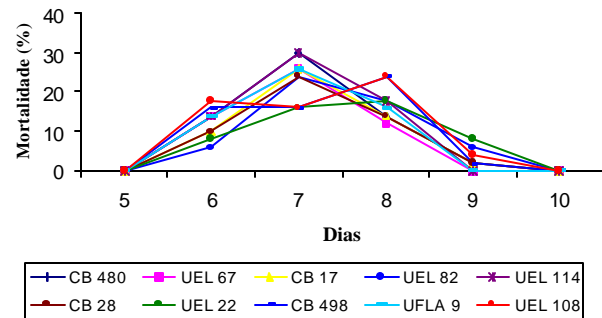


Fig. 2 - Porcentagem de mortalidade diária de *Dysmicoccus texensis* causada por isolados de fungos entomopatogênicos.

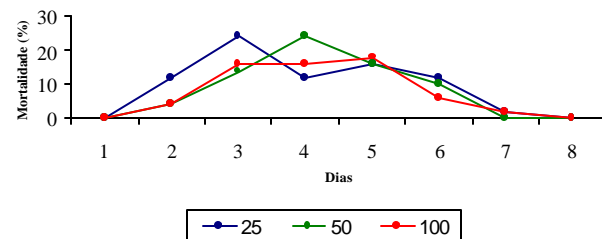


Fig. 4 - Porcentagem de mortalidade diária de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Steinernema glaseri*.

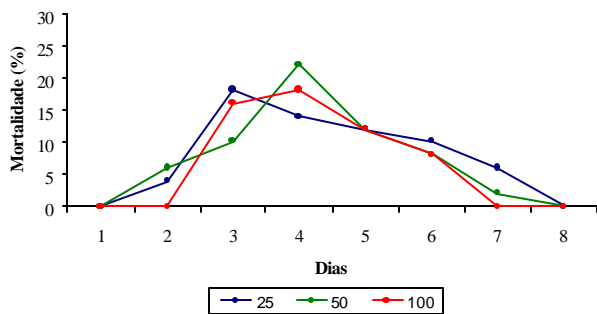


Fig. 5 - Porcentagem de mortalidade diária de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Steinernema arenarium*.

De acordo com a análise de Probit para os tempos letais médios ( $TL_{50}$ ) de mortalidade da cochonilha para os diferentes fungos, observa-se um menor  $TL_{50}$  para o isolado UEL 114, seguido pelo isolado CB480 e depois, UEL 108 (Tabela 4). Assim, o isolado UEL 114 foi selecionado, pois apresentou os melhores resultados, tanto de mortalidade como de tempo letal ( $TL_{50}$ ).

#### Bioensaios com nematóides entomopatogênicos

Com relação à mortalidade confirmada de fêmeas adultas de *D. texensis*, o nematóide *S. carpocapsae*, com concentração de 25 JI/cochonilha, apresentou diferença em relação às porcentagens de mortalidade causadas pelos demais nematóides. Mesmo nas outras concentrações (50 e 100 JI/cochonilha), *S. carpocapsae* causou maior mortalidade que os demais. Já *S. arenarium* foi o que apresentou menor virulência quando comparado aos outros nematóides em todas as concentrações. Outros tratamentos causaram alta mortalidade, estando na maioria dos casos acima das taxas de mortalidade causadas pelos fungos entomopatogênicos; porém, o nematóide selecionado foi *S. carpocapsae*, devido à sua maior porcentagem de mortalidade quando comparado aos demais nematóides (Tabela 5).

Para o nematóide *S. carpocapsae*, os maiores índices de mortalidade ocorreram entre o terceiro e o quinto dia após a aplicação do nematóide na cochonilha, sendo que a concentração de 25 JI/cochonilha causou maior mortalidade no terceiro dia, já a concentração 100 JI/cochonilha no quinto dia. Ao final dos oito dias de avaliação observou-se que as concentrações mais baixas causaram maior mortalidade em *D. texensis* (Figura III). Para os demais nematóides os resultados foram semelhantes; no entanto, não houve um pico de mortalidade tão aparente quanto o de *S. carpocapsae*, sendo que as mortalidades se distribuíram mais uniformemente pelos oito dias de avaliação do bioensaio (Figs. 4, 5 e 6).

A diferença observada entre fungos e nematóides, tanto para a porcentagem de mortalidade como para

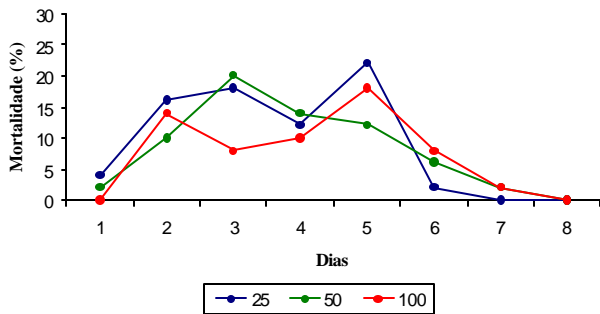


Fig. 6 - Porcentagem de mortalidade diária de *Dysmicoccus texensis* causada pelo nematóide *Heterorhabditis sp.*

o  $TL_{50}$ , pode ser explicada tanto pelo comportamento dos dois entomopatogênicos como pela forma de penetração. O fungo penetra principalmente pelo tegumento do inseto, enquanto o nematóide penetra pelas suas aberturas naturais, como boca, ânus e espiráculos. Assim, o nematóide terá maior facilidade, já que essa cochonilha possui uma camada farinenta que envolve e protege o seu corpo. A condição em que a cochonilha foi mantida, também favoreceu o nematóide, que se manteve a certa profundidade na areia, sem sofrer com condições ambientais extremas. A alta adaptação do complexo entre nematóide e bactéria possibilita matar rapidamente o inseto (FERRAZ, 1998); assim, este é outro fator que diferencia nematóide e fungo.

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

Testes realizados por POINAR (1975) mostraram que os nematóides atacam um grande número de insetos, mais de 250 espécies de 75 famílias e 11 ordens, mostrando seu grande espectro de hospedeiros, o que não é tão comum para fungos. Existem diferenças no desenvolvimento do nematóide em função do inseto hospedeiro, devido às diferenças fisiológicas encontradas em cada ordem de inseto (DOUCET et al., 1999).

O nematóide *S. carpocapsae* foi mais eficaz quando inoculado em *D. texensis*, que tem fêmeas praticamente imóveis. De acordo com GREWAL et al. (2001), este nematóide é considerado do tipo "ambusher", que procura pelo hospedeiro em maiores profundidades, esperando que este se movimente. As características comportamentais tanto do nematóide como da cochonilha podem influenciar na eficiência do nematóide, porém como este estudo foi realizado em condições de laboratório, onde a cochonilha não se

aprofunda no solo, as barreiras comportamentais podem não ter o mesmo efeito do que em condições de campo.

## CONCLUSÕES

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

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor, e à Dra. Antônia do Carmo Barcelos Correia (Unesp/Jaboticabal) e ao Dr. Júlio César de Souza (Epamig/CTSM/ Ecocentro) pela valiosa contribuição para este trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap.11, p.289-380.
- ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M.; MOINO JUNIOR, A.; ALVES, L.F.A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap.20, p.637-711.

- DOUCET, M.M.A.DE; BERTELOTTI, M.A.; GIAYETTO, A.L.; MIRANDA, M.B. Host Range, specificity, virulence of *Steinernema feltiae*, *Steinernema rarum*, and *Heterorhabditis bacteriophora* (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Argentina. *J. Invertebr. Pathol.*, v.73, n.3, p.237-242, 1999.
- FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap.16, p.541-569.
- GREWAL, P. S.; NARDO, E. A. B. DE; AGUILLERA, M. Entomopathogenic nematodes: Potencial for exploration and use in South America. *Neotrop. Entomol.*, v.30, n.2, p.191-205, 2001.
- MARTÍNEZ, M. DE LOS A.; SURIS, M. Bases bioecológicas para el manejo de chinches harinosas en el cultivo del café en Cuba. *Manejo Integrado de Plagas*, Costa Rica, n.57, p.58-64, 2000.
- MOINO JUNIOR, A.; ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored-grain pests. *J. Appl. Entomol.*, v.122, n.6, p.301-305, 1998.
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D. & AZEVEDO, J.L. Natural variability in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Arq. Biol. Tecnol.*, n.33, p.657-672, 1990.
- PARRA, J.R.P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap.35, p.1015-1037.
- POINAR JUNIOR, G.O. *A manual and host list of insects nematode associations*. New York: Ed. Brill, 1975. 317p.
- RODRÍGUEZ, M.G.; SÁNCHEZ, L.; MARTÍNEZ, M. DE LOS A. Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heterorhabditidae) sobre chinches harinosas del cafeto (Homoptera: Pseudococcidae). *Rev. Prot. Veg.*, v.12, n.2, p.119-122, 1997.
- WRAIGHT, S.P.; CARRUTHERS, R.I.; BRADLEY, C.A.; JARONSKI, S.T.; LACEY, L.A.; WOOD, P.; GALAINI-WRAIGHT, S. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolli*. *J. Invertebr. Pathol.*, v.71, n.3, p.217-226, 1998.

Recebido em 23/1/04

Aceito em 23/8/04