

AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS À COCHONILHA DO ABACAXIZEIRO
Dysmicoccus brevipes, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

KARLA DAIANA DOS SANTOS FERREIRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO DE 2015

AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS À COCHONILHA DO ABACAXIZEIRO
Dysmicoccus brevipes, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

KARLA DAIANA DOS SANTOS FERREIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção vegetal.

Orientador: Ricardo Moreira de Souza.

CAMPOS DOS GOYTACAZES
FEVEREIRO DE 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 129/2015

Ferreira, Karla Daiana dos Santos

Avaliação da patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha do abacaxizeiro *Dysmicoccus brevipes*, em condições de laboratório / Karla Daiana dos Santos Ferreira. – 2015.

63 f. : il.

Orientador: Ricardo Moreira de Souza.

Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.

Bibliografia: f. 44 – 62.

1. Controle biológico 2. Suscetibilidade 3. Nematologia 4. *Dysmicoccus* 5. Abacaxi I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD– 634.774

AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS À COCHONILHA DO ABACAXIZEIRO
Dysmicoccus brevipes, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

KARLA DAIANA DOS SANTOS FERREIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção vegetal.

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr. Cláudia de Melo Dolinski (Ph.D. em Fitopatologia) - UENF

Dr^a. Liliana Parente Ribeiro (Doutora em Produção Vegetal) – UENF

Prof. Paulo Sérgio Torres Brioso (Doutor em Ciências) – UFRRJ

Dr. Vicente Martins Gomes (Doutor em Produção Vegetal) – UENF

**Prof. Dr. Ricardo Moreira de Souza (Ph.D. em Fitopatologia) - UENF
(Orientador)**

Dedico este trabalho à minha amada avó Lezira Luciano Pereira (*in memoriam*), que em vida era nosso grande exemplo de mulher, mãe, educadora e amiga, e que mesmo ausente, suas lembranças suprem nossas saudades.

AGRADECIMENTO

A Deus, que me deu saúde e forças para superar todas as dificuldades;

Ao meu esposo Thiago, por ser tão importante na minha vida, que com seu amor intenso e sereno esteve sempre a meu lado me fazendo acreditar que posso mais que imagino. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho!

Aos meus pais, Angela e Sebastião, pelo amor, incentivo e apoio incondicional;

À minha irmã Kamila e ao meu cunhado Welington, pela presença carinhosa;

Aos meus sogros, Ana e Cosme, e meus cunhados, Sabrine e Luíz, pelo carinho e respeito;

Aos meus afilhados, Gabriel, Laura, Francisco, Rafael e Felipe, e aos meus primos, Letícia, João, Aryelle e Aryadne, crianças que trouxeram mais alegria aos meus dias;

Aos meus padrinhos, Ana e José, pelo incentivo, apoio e estímulo para enfrentar as barreiras da vida;

Aos meus familiares e amigos, em especial aos meus primos, Luciana Lezira e Adilson, pela convivência e pelo amparo do dia-a-dia;

Aos professores, Cláudia e Ricardo, pela oportunidade, pelo apoio e pela confiança;

Aos meus amigos e companheiros de trabalho que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação;

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração pela oportunidade de realização do curso;

A Faperj e a Capes, pelo auxílio financeiro que muito contribuiu para o desenvolvimento dessa pesquisa;

Enfim, agradeço de coração a todos que de algum modo, nos momentos serenos e ou apreensivos, fizeram ou fazem parte da minha vida.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 O abacaxizeiro	4
2.1.1 Características e exigências para a produção	4
2.1.2 Aspectos econômicos	7
2.2 A cochonilha do abacaxizeiro	9
2.2.1 Biologia e caracterização	9
2.2.2 Danos e importância econômica	13
2.2.3 Medidas de controle	15
2.2.3.1 Controle cultural	15
2.2.3.2 Controle genético	16
2.2.3.3 Controle químico	17
2.2.3.4 Controle biológico	18
2.3 Nematoides entomopatogênicos	19
3.3.1 Caracterização e modo de ação	19
3.3.2 Utilização de NEPs no controle de pragas	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Criação de <i>Galleria mellonella</i> e multiplicação dos nematoides	25

4.2 Criação da cochonilha do abacaxizeiro	27
4.3 Avaliação da patogenicidade de NEPs à cochonilha do abacaxizeiro sob diferentes temperaturas	28
4.4 Quantificação da progênie dos NEPs na cochonilha do abacaxizeiro sob diferentes temperaturas	29
4.5 Efeito de diferentes concentrações de inóculo de NEPs sobre a cochonilha do abacaxizeiro	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1 Avaliação da patogenicidade de NEPs à cochonilha do abacaxizeiro sob diferentes temperaturas	33
5.2 Quantificação da progênie dos NEPs na cochonilha do abacaxizeiro sob diferentes temperaturas	40
5.3 Efeito de diferentes concentrações de inóculo de NEPs sobre a cochonilha do abacaxizeiro	42
6. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

RESUMO

FERREIRA, Karla Daiana dos Santos; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Janeiro de 2015. Avaliação da patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha do abacaxizeiro *Dysmicoccus brevipes*, em condições de laboratório. Orientador: Prof. Ricardo Moreira de Souza.

A cochonilha do abacaxizeiro (CA) *Dysmicoccus brevipes*, causa sérios prejuízos à abacaxicultura. Este patógeno, além de ocasionar danos pela sucção da seiva, está associado a uma doença de origem virótica, conhecida como “murcha do abacaxizeiro”. Nas últimas décadas essa praga vem sendo controlada com o uso de agroquímicos, mas seu controle alternativo vem ganhando importância diante da crescente busca por uma agricultura sustentável. Nesse sentido, os nematoides entomopatogênicos (NEPs) mostram-se promissores no controle biológico de vários insetos praga, e apresentam potencial para serem usados como agentes de controle de cochonilhas. O presente trabalho tem como objetivo avaliar diferentes isolados de NEPs quanto à ação patogênica e à capacidade reprodutiva quando inoculados na CA, bem como, avaliar a concentração letal máxima para os isolados que apresentem maior patogenicidade sobre esses insetos. Para avaliar a patogenicidade de oito isolados de NEPs sobre fêmeas adultas de *D. brevipes*, foram utilizados potes plásticos contendo areia autoclavada e substrato alimentar para os insetos, cada pote recebeu 10 cochonilhas adultas

sendo, posteriormente adicionado 1 mL de suspensão aquosa de NEPs contendo 1000 juvenis infectantes (JIs). Os potes foram mantidos em BOD (60% UR e 12L:12D) nas temperaturas de teste, 16, 25 ou 34 °C. Dez cochonilhas adultas também foram inoculadas individualmente com 100 JIs dos diferentes isolados para a obtenção e avaliação da progênie nas diferentes temperaturas. Para avaliar a concentração letal, CL_{50} , foram testadas as concentrações de 50, 100, 250, 500, 750, 1.000, 1.500 ou 2.000 JIs/mL, adicionadas em potes plásticos contendo 10 cochonilhas. Verificou-se que todos os isolados de NEPs causaram mortalidade à CA. No entanto, os mais patogênicos foram *Heterorhabditis* sp. LPP22 (100%), *H. indica* LPP30 (99%), *H. mexicana* Hmex (98%), *Heterorhabditis* sp. LPP35 (97%) e para a temperatura de 25 °C. Progênie a partir da CA foram recuperadas apenas para os isolados heterorhabditídeos à temperatura de 25°C. A CL_{50} estimada foi em 96,53 JIs/pote para LPP30, 143,38 JIs/pote para LPP22, 189,09 JIs/pote para Hmex e 295,26 JIs/pote para LPP35. Os resultados demonstram o potencial dos NEPs como alternativa para o controle de *D. brevipipes* e as diferenças encontradas entre espécies e isolados de NEPs evidenciam a importância dos testes de seleção a fim de potencializar o controle dessa praga a campo.

ABSTRACT

FERREIRA, Karla Daiana dos Santos; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. January, 2015. Pathogenicity of the Entomopathogenic nematodes against the mealybug wilt of pineapple *Dysmicoccus brevipes*, in laboratory conditions. Advisor: Prof. Ricardo Moreira de Souza.

The mealybug wilt of pineapple (MWP) *Dysmicoccus brevipes*, cause serious damage to pineapple. This pathogen, in addition to damage by sucking the sap, is associated with a viral origin of disease, known as "wilt of pineapple". In recent decades this pest has been controlled with the use of agrochemicals, but his alternative control is becoming increasingly important given the increasing search for sustainable agriculture. In this sense, the entomopathogenic nematodes (NEPs) show promise for biological control of various insect pests, and have potential to be used as mealybugs control agents. This study aims to evaluate different isolates of NEPs as the pathogenic action and reproductive capacity when inoculated in CA, as well as to assess the maximum lethal concentration for the isolated, with greater pathogenicity of these insects. To evaluate the pathogenicity of isolates of NEPs on eight adult females of *D. brevipes*, plastic pots containing autoclaved sand and satisfaction for the insects feed substrate were used, each pot received 10 adult mealybugs being

subsequently added 1 mL of aqueous suspension containing 1000 NEPs infective juveniles (IJs). The pots were kept in BOD (60% RH and 12L: 12D) on the test temperature, 16, 25 or 34 °C. Ten adult mealybugs were also individually inoculated with 100 different isolates of IJs for obtaining and evaluating the progeny at different temperatures. To assess the lethal concentration, LC₅₀ concentrations tested were 50, 100, 250, 500, 750, 1,000, 1,500 or 2,000 IJs/mL, added in plastic pots containing 10 Scale. It was found that all isolates of NEPs caused mortality to CA. However, were the most pathogenic *Heterorhabditis* sp. LPP22 (100%), *H. indica* LPP30 (99%), *H. mexicana* Hmex (98%) and *Heterorhabditis* sp. LPP35 (97%) to a temperature of 25 °C. Progeny from the CA were recovered only for *Heterorhabditis* spp. isolated to the 25 temperature. The estimated LC₅₀ was 96.53 IJs/pot to LPP30, 143.38 IJs/pot to LPP22, 189.09 IJs/pot to Hmex and 295.26 IJs/pot to LPP35. The results demonstrate the potential of NEPs as an alternative for the control of *D. brevipes* and the differences between species and isolates NEPs show the importance of screening tests in order to enhance the control of this pest in the field.

1. INTRODUÇÃO

O abacaxi (*Ananas comosus* L. var. *comosus* Merrill) é considerado uma das frutas tropicais mais importantes do mundo e apresenta crescente demanda e importância econômica no mercado frutícola nacional e internacional (Cabral et al., 2004). A produção brasileira está distribuída por todas as regiões e unidades da federação (Almeida et al., 2004), o que favorece o desenvolvimento econômico e social do Brasil. O país ocupa posição de destaque na produção mundial de abacaxi (FAO, 2012). No entanto, a produtividade brasileira é considerada baixa, principalmente pela ausência de mudas de qualidade, por falhas na irrigação e pelo ataque de pragas e doenças (Almeida et al., 2004).

A cultura do abacaxizeiro sofre com o ataque de vários grupos de organismos que foram encontrados associados ao abacaxizeiro, entre insetos, ácaros, nematoides e sífilos (Costa e Matos, 2000). Portanto, é preciso aumentar a produção e a produtividade da cultura por meio de pesquisas que visem aprimorar as técnicas de cultivo e, também, pelo conhecimento mais detalhado de como minimizar os problemas fitossanitários, principalmente aqueles causados pela cochonilha do abacaxizeiro, *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae), considerada a principal praga da cultura (Model, 2000).

A cochonilha do abacaxizeiro (CA) causa sérios prejuízos à abacaxicultura mundial e nacional, pois além de ocasionar danos decorrentes de

sua alimentação, ela está associada na etiologia de uma doença de origem virótica, conhecida como murcha do abacaxizeiro (MA) (Lacerda et al., 2009). A MA é um dos maiores entraves para o aumento da produtividade da cultura, ocasionando perdas na produção que podem ultrapassar 80% (Sanchez, 2005), podendo, ainda, promover o abandono de muitas áreas de cultivo (Celestino et al., 1991). Para o controle desta doença se faz necessário integrar várias técnicas com vistas à redução no uso de produtos químicos, evitando-se assim, não só seus efeitos negativos ao homem e ao ambiente, mas também o surgimento de resistência química nos insetos.

Ao longo dos anos, as pragas agrícolas vêm sendo controladas por diferentes métodos, mas o controle químico continua sendo mais empregado; porém há uma crescente conscientização contra o seu uso indevido, que pode causar sérios prejuízos ao homem e ao meio ambiente. Assim, o controle biológico de pragas vem ganhando importância frente aos outros métodos que compõem o manejo integrado de pragas, como o cultural, mecânico, por comportamento, físico, resistência e químico (Parra et al., 2002). Neste sentido, os nematoides entomopatogênicos (NEPs) mostram-se eficientes no controle de vários insetos praga (Kaya e Gaugler, 1993; Grewal et al., 1999; Shapiro-Ilan, 2004; Grewal et al., 2005; Georgis et al., 2006), uma vez que apresentam inúmeras vantagens quando comparados a outros agentes de controle biológico (Gaugler, 2002). Entre as principais características dos NEPs destacam-se: facilidade de serem produzidos *in vitro* ou *in vivo*, baixo custo de produção e de formulação, eficiência no controle de vários insetos praga (principalmente pragas de solo), persistência no ambiente, comportamento de busca pelo hospedeiro, inocuidade ao homem e aos animais de sangue quente e facilidade de serem aplicados com equipamentos convencionais de pulverização (Nardo et al., 2001; Grewal, 2002; Leite et al., 2006; Santos, 2009).

Uma vez que a CA possui hábito críptico, vivendo em colônias nas bases das folhas e nas raízes do abacaxizeiro, em constante contato com o solo, os NEPs mostram-se promissores no controle dessa praga. No entanto, devido à grande variabilidade existente de NEPs quanto à forma de ação, adaptação ao ambiente e faixa de hospedeiros, testes de patogenicidade devem ser realizados para que se determine a (s) espécie (s) ou isolado (s) que acarrete maior mortalidade em menor tempo a uma determinada praga. Sendo assim, o presente

trabalho teve como objetivo avaliar diferentes isolados de NEPs quanto à ação patogênica e à capacidade reprodutiva quando inoculados na CA, bem como, avaliar a concentração letal máxima para os isolados que apresentem maior patogenicidade sobre esses insetos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O abacaxizeiro

2.1.1 Características e exigências para produção

Os abacaxizeiros pertencem à família Bromeliaceae, cujas espécies são divididas em quatro grupos conforme seus hábitos de crescimento: as epífitas, que crescem sobre outras plantas, geralmente troncos de árvores; as terrestres, que crescem no solo; as saxícolas que crescem em solos pedregosos e as rupestres que crescem sobre pedras ou rochedos (Lima, 1996). Os abacaxizeiros são terrestres e pertencem aos gêneros *Ananas* e *Pseudananas*, sendo que todas as variedades de abacaxi de interesse comercial pertencem à espécie *A. comosus* L. (Merrill).

Estudos de distribuição do gênero *Ananas* indicam que o abacaxizeiro é originário da região amazônica compreendida entre 15° N e 30° S de latitude e 40° L e 60° W de longitude, o que inclui as zonas central e sul do Brasil, o nordeste da Argentina e o Paraguai. Seu centro de origem é a região compreendida entre 10° N e 10° S de latitude e entre 55° L e 75° W de longitude, por se encontrar nela o maior número de espécies consideradas válidas até o momento, sendo a região Norte do Brasil considerada um segundo centro de diversidade genética desse gênero (Reinhardt et al., 2000).

O abacaxizeiro é uma planta monocotiledônea, herbácea e perene, que apresenta caule curto e grosso, ao redor do qual crescem folhas e se inserem as raízes axilares. Seu sistema radicular fasciculado normalmente é frágil e superficial, concentrando-se nos primeiros 15 a 20 cm do solo. Suas folhas estreitas, compridas e resistentes, são classificadas segundo seu formato e sua posição na planta, da mais velha e externa para a mais nova e interna, em 6 categorias: A e B = senis; C = maduras; D = ativa, E e F = em via de crescimento (Figura 1A) (Malavolta, 1982). Com isso, a folha D é a mais importante do ponto de vista do manejo da cultura, sendo a mais jovem dentre as folhas adultas e, metabolicamente, a mais ativa de todas. A folha D, é, por conseguinte, usada na análise do crescimento e do estado nutricional da planta. Em geral, ela distingue-se das demais por formar um ângulo de 45° entre o nível de solo e um eixo imaginário que passa pelo centro da planta; apresenta maior comprimento com os bordos da parte inferior perpendiculares à base, e pode ser facilmente destacada da planta.

No caule também se insere o pedúnculo que sustenta a inflorescência e, posteriormente, o fruto. O fruto composto, chamado de sincarpo ou sorose, é formado pela coalescência dos frutos individuais, do tipo baga (Reinhardt et al., 2000). Vários tipos de mudas desenvolvem-se a partir da planta, tais como coroa (brotação do ápice do fruto), filhote (brotação do pedúnculo, que é a haste que sustenta o fruto), filhote-rebentão (brotação da região de inserção do pedúnculo no caule ou talo) e rebentão (brotação do caule) (Figura 1B).

O abacaxi é bastante apreciado em todo o mundo por suas propriedades organolépticas, terapêuticas e nutricionais, sendo fonte de cálcio, potássio e vitaminas A, B e C. O abacaxi pode ser consumido *in natura* ou industrializado na forma de calda, suco, pedaços cristalizados, geleias, licor, vinho, vinagre e aguardente. Do processo industrial pode-se obter álcool, ácido cítrico, málico e ascórbico, rações para animais e a bromelina, que é uma enzima de alto valor medicinal devido às suas características digestivas e anti-inflamatórias (Embrapa, 2005a).

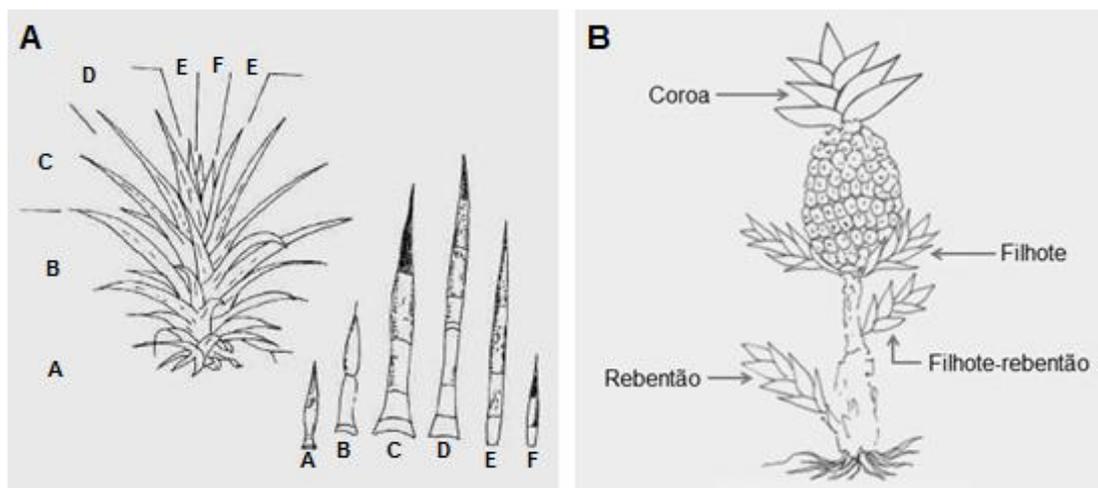


Figura 1. Representação para (A) a distribuição das folhas de abacaxizeiro de acordo com a idade (A- folha mais velha, F- mais jovem) e (B) os tipos de mudas convencionais do abacaxizeiro. Fonte: Py (1969) e Malavolta (1982).

Quanto ao cultivo do abacaxizeiro, Reinhardt et al. (2000) relatam que temperaturas na faixa de 22°C a 32 °C são ótimas para o crescimento e melhor qualidade do fruto, ao passo que seu melhor desenvolvimento ocorre em locais com alta incidência de radiação solar, de 2.500 a 3.000 horas (6,8 a 8,2 horas de luz solar por dia).

Os abacaxizeiros apresentam características de vegetais adaptados a clima seco, com capacidade de armazenar água tanto no tecido especial de suas folhas como nas axilas. No entanto, maiores rendimentos e frutos de qualidade são obtidos quando a cultura é bem suprida com chuvas, de 1.200 mm a 1.500 mm anuais, bem distribuídas. Ao passo que, a prática da irrigação torna-se indispensável para as regiões que apresentam períodos secos prolongados (Reinhardt et al., 2000).

Variações moderadas na umidade relativa do ar, até em torno de 70%, são suportadas pelo abacaxizeiro. Contudo, períodos de umidade muito inferiores a 50% podem causar fendilhamento e rachaduras em frutos durante a sua fase de maturação (Reinhardt et al., 2000).

A cultura apresenta pouca suscetibilidade a danos causados por ventos fortes e granizo devido ao porte baixo das plantas, ao plantio em altas densidades e à alta fibrosidade e resistência das folhas. No entanto, o abacaxizeiro é muito sensível ao encharcamento do solo, sendo que boas condições de aeração e de drenagem são requisitos básicos para o seu cultivo, por favorecerem o

desenvolvimento do seu sistema radicular e evitem o apodrecimento de raízes e o ataque das plantas por patógenos do solo. Com isso, solos leves de textura média a arenosa, sem impedimentos físicos para o crescimento radicular e a drenagem do excesso de água, são os mais adequados ao cultivo do abacaxizeiro (Reinhardt et al., 2000).

O abacaxizeiro é considerado uma planta bem adaptada aos solos ácidos, sendo a faixa de pH de 4,5 a 5,5 a mais recomendada para o seu cultivo. O abacaxizeiro é uma planta que exige altas quantidades de nutrientes, o que resulta na quase obrigatoriedade da prática de adubação nos plantios com fins econômicos (Reinhardt et al., 2000).

Diferentes tipos de mudas podem ser utilizados na propagação do abacaxizeiro, sendo que cada tipo possui características, vantajosas ou não, que devem ser consideradas no momento da escolha e do manejo do material de plantio. O plantio de abacaxi pode ser realizado, não só pela utilização das mudas convencionais, mas também pelo uso de mudas produzidas em viveiros a partir do seccionamento do caule ou da coroa, e produzidas *in vitro* em laboratório, por meio de técnicas de cultura de tecidos. A muda de boa qualidade é a base para o sucesso de qualquer cultura. Daí a importância da utilização de mudas de boa procedência, obtidas de plantios em bom estado fitossanitário, isto é, que sejam saudas (livres de pragas e doenças) e vigorosas (Guerra et al., 1999; Reinhardt et al., 2000).

Problemas fitossanitários são recorrentes na cultura do abacaxizeiro, uma vez que a abacaxicultura tem sido atacada por muitas espécies de insetos, ácaros, nematoides, sínfilos, bactérias, fungos e vírus (Costa e Matos, 2000; Reinhardt et al., 2000). Com isso, o controle de pragas e doenças é uma prática essencial que, quando associada aos demais manejos da cultura, promove aumentos de produção e qualidade dos frutos.

2.1.2 Aspectos econômicos

Conforme divulgado pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), em 2012, o Brasil foi o maior produtor mundial de frutas tropicais. Devido à sua diversidade de solo e de clima, é possível a produção de frutas de clima temperado, subtropical e tropical, sendo que muitos

produtos apresentam potencial para o mercado externo. Com isso, o Brasil destaca-se também na produção mundial de frutas ocupando a terceira posição, precedida pela China e Índia (FAO, 2012).

O abacaxi é uma das frutas tropicais mais importantes, apresentando crescente demanda e importância econômica no mercado frutícola nacional e internacional (Cabral et al., 2004). O Brasil é o 3º maior produtor de abacaxi, pois deteve 11,86% da produção mundial em 2012, atrás da Tailândia e Costa Rica (FAO, 2012). A maior parte da produção brasileira de abacaxi é direcionada para o mercado interno de frutas frescas (Reinhardt et al., 2000). No entanto, projeções da FAO indicam que a demanda de abacaxi e, conseqüentemente, sua exportação, vão crescer em 2014, na qual a produção de abacaxi responderá por 23% da colheita mundial de frutas tropicais. Aumentos nas exportações de abacaxi e outras frutas tropicais tendem a condicionar os produtores a fazerem investimentos de boas práticas agrícolas, fitossanitárias, de tratamentos pós-colheita, armazenamento, transporte e logística, o que favorecerá maior desenvolvimento do setor frutícola nacional.

O cultivo de abacaxi está distribuído ao longo de todo território brasileiro, sendo que a produção tem importância econômica em muitos Estados, com destaque para Pará, Paraíba e Minas Gerais, que são os maiores produtores nacionais (Tabela 1).

Tabela 1. Produção estadual de abacaxi (toneladas) nos anos de 2010 e 2012.

Estados	2010			2012		
	Pr (t)	RM (Kg/ha)	Pa (%)	Pr (t)	RM (Kg/ha)	Pa (%)
Pará	256.573	29,269	17,4	317.127	29,904	18,8
Paraíba	258.845	29,592	17,6	294.640	29,922	17,5
Minas gerais	222.154	29,385	15,1	250.576	29,259	14,9
Rio de Janeiro	64.442	22,460	4,4	133.093	29,174	7,9
Rio G. do Norte	85.165	25,529	5,8	125.551	26,781	7,4
Bahia	139.324	26,164	9,5	117.090	21,615	6,9
São Paulo	92.300	29,117	6,3	87.337	27,921	5,2
Total	1.470.391			1.687.196		

(Pr) produção, em mil toneladas de frutos, (RM) rendimento médio, (Pa) participação na produção nacional. Fonte: IBGE, (2014).

No Estado do Rio de Janeiro (RJ), a cultura do abacaxi firmou-se como uma alternativa à decadência canavieira observada a partir dos anos 90, e contribuiu para uma melhor distribuição de renda e fixação da população rural. O RJ vem ganhando destaque no cenário nacional. Segundo dados do IBGE (2014), em 2012 a produção nacional de abacaxi superou em mais de 14% a produção do ano de 2011, sendo que para o mesmo biênio o RJ mais que dobrou sua produção (de 64.442 para 133.093 frutos) passando a configurar-se como o quarto maior produtor nacional de abacaxi, respondendo por 7,9% da produção brasileira (Tabela 1) (IBGE, 2014). Os incrementos em área plantada e colhida, ocorridos nos últimos anos, foram os principais responsáveis pelo aumento na produção nacional de abacaxi. No entanto, outros fatores, como ausência de mudas de boa qualidade, deficiência na irrigação e perdas e danos ocasionados por pragas e doenças, vêm limitando a maior expansão das áreas de cultivo e os aumentos de produtividade (CODEVASF, 2008).

2.2 A cochonilha do abacaxizeiro

2.2.1 Biologia e caracterização

A cochonilha do abacaxizeiro (CA) é também conhecida por “cochonilha-da-raiz”, “piolho-branco”, “cochonilha pulverulenta do abacaxi”, “piolho farinhento”, “cochonilha farinhenta” e “pulgão branco”. Por causar sérios prejuízos, devidos aos danos diretos e indiretos ao cultivo do abacaxizeiro, ela é considerada uma das principais pragas da cultura, estando presente em todos os países onde o abacaxizeiro é cultivado.

Cochonilhas são insetos sugadores que se alimentam pela sucção da seiva, sendo normalmente encontradas vivendo em colônias, na base das folhas e nas raízes do abacaxizeiro (Figura 2A). No entanto, com o aumento populacional, elas também ocorrem nos frutos, nas cavidades florais e na parte superior das folhas e mudas (Giacomelli, 1981).

A fêmea apresenta coloração rósea e corpo no formato oval recoberto por uma secreção pulverulenta de cera branca. Essas fêmeas medem em torno de 1 mm de comprimento, mas com a secreção passam a medir cerca de 3 mm de comprimento, pois a partir dessa secreção são formados 17 pares de

filamentos cerosos ao redor do corpo do inseto, sendo que os quatro pares ao final do abdome são maiores e mais robustos (Figura 2B) (Santa-Cecília et al., 2007; Bertin, 2011). O macho, com exceção dos primeiros ínstaes, é diferente da fêmea, apresentando menor comprimento do corpo, asas, antenas, corpo distinto (cabeça, tórax e abdome) e um par de filamentos caudais longos e brancos (Beardsley, 1965; Bertin, 2011).

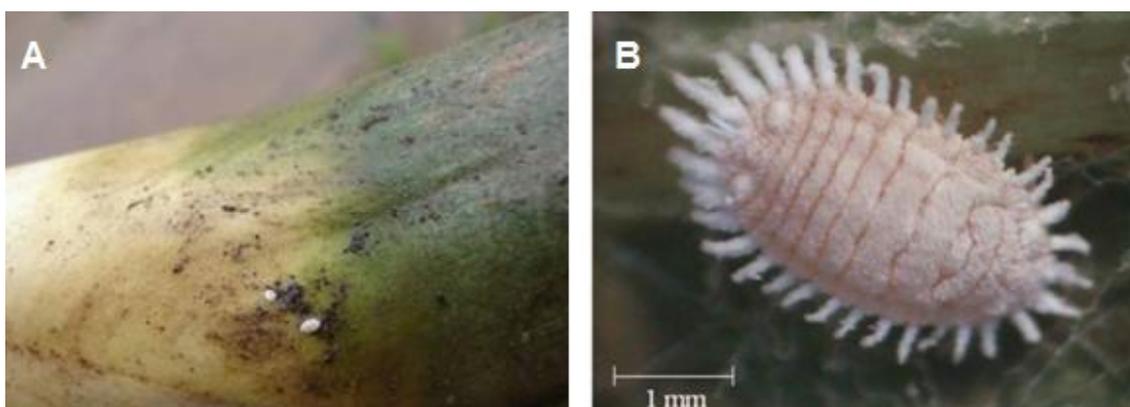


Figura 2. Axila da folha do abacaxizeiro parasitado por *D. brevipes* (A) e fêmea adulta de *Dysmicoccus brevipes* (B). Fonte: Bertin (2011) e Lacerda (2009).

Na fêmea, a metamorfose é incompleta com três ecdises, envolvendo três estádios ninfais e a fase adulta. A metamorfose do macho é completa, pois sofre quatro ecdises antes de se transformar em adulto, apresentando assim dois estádios ninfais, um pré-pupal, um pupal e um adulto (Figura 3) (Lim, 1973). No primeiro estágio ninfal, imediatamente após a emergência, a ninfa possui coloração marrom-avermelhada, passando para branco-acastanhado, por conta de um par de prolongamentos cerosos brancos e filiformes produzidos nas margens dos lobos anais, na extremidade do abdome (Ghose, 1983). As ninfas do segundo estágio apresentam seis pares de filamentos cerosos na extremidade abdominal, enquanto que as de terceiro estágio se assemelham às fêmeas adultas (Bertin, 2011). Formas jovens do primeiro estágio possuem grande atividade e se locomovem com maior rapidez, enquanto as formas dos estádios posteriores se locomovem mais lentamente ao contrário dos adultos que permanecem praticamente imóveis (Lacerda, 2009).

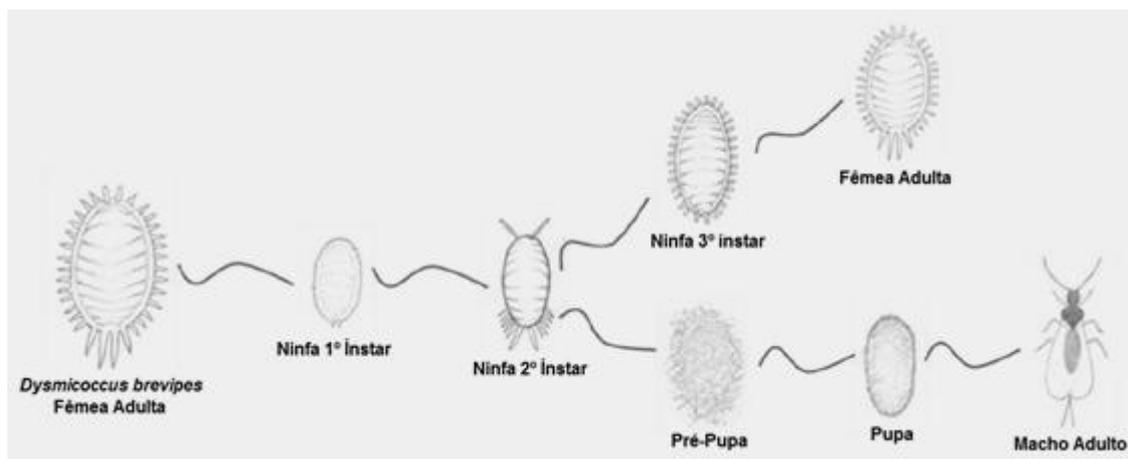


Figura 3. Ciclo biológico de *Dysmicoccus brevipes*. Fonte: Bertin (2011).

As fêmeas normalmente se alimentam durante os três estádios de vida, enquanto que a alimentação dos machos fica restrita ao primeiro e parte do segundo instar, ficando, após o terceiro estágio, apenas com o papel de fecundar a fêmea (Menezes, 1973). Lim (1973) ressalta ainda que, além desempenharem exclusivamente o papel de fecundar a fêmea, os machos têm vida curta, normalmente de dois a três dias, e fecundam em média duas fêmeas. Com isso, como os machos adultos não se alimentam, não são considerados de importância econômica (Bertin, 2011).

A CA é anfimítica. As fêmeas são ovovivíparas e logo após a ovoposição ocorre a eclosão das ninfas (Santa-Cecília et al., 2007). Os ovos são elípticos, com o cório liso e coloração amarelo-alaranjada e, logo após a postura, já têm em seu interior a forma jovem do inseto (Menezes, 1973). Com isso, entre 10 e 50 minutos após a postura as ninfas rompem a membrana envolvente e eclodem (Santa Cecília e Reis, 1985). Cada fêmea, quando alimentadas em abacaxi, coloca em média 295 ovos em uma secreção filamentosa, o ovissaco (Menezes, 1973). Porém, Ito (1938) e Ghose, (1983) ressaltam que esse número pode variar em função das condições ambientais e da alimentação.

Bertin (2011) analisou a velocidade de desenvolvimento de *D. brevipes*, concluindo que a faixa de temperatura entre 20 e 30 °C se mostra mais adequada para o desenvolvimento da espécie, o que confirma os dados apresentados por Souza e Santa-Cecília (2002), onde a maior longevidade de macho e fêmea, de 27 e 92 dias, respectivamente, é obtida para a temperatura de 25,5 °C.

A CA está presente durante todo o ciclo da cultura do abacaxizeiro, mas com variações na intensidade de infestação (Lacerda, 2009). Fatores climáticos podem afetar o desenvolvimento populacional dessa praga, sendo que períodos quentes e úmidos oferecem condições mais favoráveis ao seu desenvolvimento (Choairy, 1992). No entanto, Rocha (1960) cita a precipitação pluviométrica como o fator climático mais importante na redução da população de *D. brevipipes*, ao verificar que no período seco o índice populacional da cochonilha pode ser superior ao período das chuvas, pois ocorre arrastamento de boa parte dos indivíduos pela água após um período de elevada pluviosidade. Para Souza e Santa-Cecília (2002), a fecundidade e longevidade da cochonilha também são afetadas pelo clima. Além do clima, as condições fisiológicas das plantas e do solo, a presença de formigas e a procedência do material de plantio, contribuem para elevar o nível populacional da praga (Lacerda, 2009).

D. brevipipes vive em simbiose por protocooperação com várias espécies de formigas-doceiras, as quais se nutrem de uma substância adocicada produzida pelas cochonilhas. Em troca, as formigas protegem as colônias da CA das intempéries e dos inimigos naturais, cobrindo-as com terra e restos orgânicos e servindo-lhes de agentes de dispersão. Carter (1932) e Beardsley et al., (1982), consideram essas formigas como o principal agente na movimentação das cochonilhas de fora para o interior dos plantios. (Sanches e Matos, 1999). Assim, o deslocamento das cochonilhas é reduzido na ausência das formigas, ocorrendo, conseqüentemente, menor disseminação dessa praga em áreas com controle adequado das formigas doceiras (Souza e Santa Cecília, 2002).

Apesar de conhecida como CA, *D. brevipipes* é considerada polífaga, podendo ser encontrada em uma vasta variedade de vegetais em suas raízes ou até mesmo nas folhas e nos frutos (Santa-Cecília, 2007). Com isso, suas infestações vêm ganhando destaque por causar prejuízos em outras importantes culturas como café (*Coffea* sp.), soja (*Glycine max*), mandioca (*Manihot esculenta*), abóbora (*Cucurbita* sp.) e por sua capacidade de sobreviver em mais de 30 plantas hospedeiras, tais como algodoeiro, abacateiro, amendoim, amoreira, ananás, arroz, bananeira, batata, cajueiro, cana-de-açúcar, diversas gramíneas, sapé, caquizeiro, citrus, coqueiro-anão, coqueiro-da-baía, *Cyperus* spp., dendezeiro, fruteira-de-conde, *Hybiscus* spp., jabuticabeira, milho, sorgo,

palmeira, soja, bambu, jaca, cacau, tamareira, mangueira, entre outras (Silva et al., 1968).

2.2.2 Danos e importância econômica

A CA é uma praga de grande importância para a cultura, por ocasionar danos decorrentes de sua alimentação, alterando o metabolismo da planta e causando seu enfraquecimento por meio de sua atividade alimentar. Todavia, além de causar danos diretos à cultura, a CA causa elevados prejuízos por vetorial o *Pineapple mealybug wilt associated vírus* (PMWaV) e associar-se a este na etiologia da murcha do abacaxizeiro (MA) (Souza e Santa-Cecília, 2002; Lacerda et al., 2009). A CA, além de causar danos diretos ao sugar a seiva, é capaz de transmitir a MA mesmo em baixa densidade populacional (Colen et al., 2001).

A MA foi detectada primeiramente por Larsen (1910) em cultivos de abacaxi no Havaí. Somente no início da década de 30 a murcha passou a ser estudada como uma doença transmitida pela cochonilha após se alimentar de plantas doentes (Illingworth, 1931; Carter, 1933). Carter, em 1963, concluiu que um vírus é o agente etiológico transmissível no desenvolvimento da murcha, que ao interagir com a cochonilha, produz uma toxina responsável pela expressão dos sintomas da murcha. Estudos recentes constataram que a doença é causada por um complexo viral pertencente à família *Closteroviridae*, gênero *Ampelovirus* (*Pineapple mealybug wilt associated virus*, PMWaV 1, 2, 3, 4 e 5) (Sether et al., 2005).

A MA contribui para um baixo rendimento na produção de abacaxi. Os principais sintomas da MA são: seca e morte do sistema radicular; menor porte das plantas; e folhas avermelhadas, murchas e com pontas secas (Velame et al., 2004). Lim (1972) verificou que diferentes densidades de infestação da cochonilha durante o período vegetativo causam paralisação no crescimento das plantas e redução no número de folhas e comprimento das raízes, como também no peso seco da raiz e das folhas. Colen (2001) estudando o efeito de diferentes densidades durante todo o ciclo da cultura verificou que a fase de florescimento foi a mais afetada pela cochonilha, causando redução da altura e do peso verde da parte aérea, concordando com os resultados obtidos por Santa-Cecília (1990),

que demonstrou que as maiores infestações dessa cochonilha ocorreram na fase reprodutiva da cultura.

A MA tem como prejuízo a redução da colheita, seja pela morte de plantas antes de frutificarem, seja por impedir que as plantas frutifiquem e, quando o fazem, produzem elevado número de frutos atrofiados e murchos, impróprios para o consumo (Batista, 1947; Colen, 2001; Sanches, 2005). De acordo com Guerout (1972), esta praga associada à murcha pode causar perda na produção na ordem de 70%. Segundo Lacerda et al., (2009) e Sanches (2005), a murcha causa perdas na produção que podem ultrapassar os 80%, sobretudo para a cultivar Smooth Cayenne e outras cultivares suscetíveis. No entanto, Celestino et al., (1991) ressaltaram que as perdas causadas por essa cochonilha ao abacaxizeiro podem chegar a 100% da produção, promovendo o abandono de muitas áreas cultivadas.

Os danos ocasionados pela MA à cultura do abacaxizeiro podem ser agravados pela interação com outros patógenos. Estudos realizados por Ferreira et al., (2014a), verificaram que a interação entre a MA e o fitonematoide *Pratylenchus brachyurus* Filipjev e Stekhoven, 1941 causa maiores danos no desenvolvimento vegetativo das plantas e na produtividade quando comparado aos danos causados por cada um desses agentes isoladamente. Resultados semelhantes foram relatados por Ferreira et al., (2014b), que verificaram que a associação da MA com *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira 1940 ou *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 causou danos na parte aérea mais severos do que é atribuído a esses agentes etiológicos individualmente. Diversos estudos indicam ainda a similaridade entre os sintomas apresentados pela MA e o parasitismo por fitonematoides, o que pode dificultar a diagnose e reduzir a eficiência das medidas de controle ou manejo (Sipes, 2002; Lacerda et al., 2009; Ferreira et al., 2014a; Ferreira et al., 2014b).

2.2.3 Medidas de controle

O sucesso ou insucesso da abacaxicultura tem sido relacionado à incidência da cochonilha do abacaxizeiro. Assim, justifica-se o manejo adequado da cultura durante as fases pré e pós-colheita, visando reduzir a incidência dessa

praga durante os ciclos vegetativo e reprodutivo da cultura, através de um conjunto de práticas viáveis e ecologicamente corretas.

2.2.3.1 Controle cultural

O preparo do solo antes do plantio, principalmente em área com baixa infestação de formigas doceiras, é suficiente para controlar essas formigas e, conseqüentemente, reduzir a disseminação da cochonilha (Cunha, 1999; Sanches, 2005). Model e Sander (1999) observaram que a ocorrência e os prejuízos causados pela cochonilha no plantio direto e no cultivo mínimo foram maiores do que no plantio convencional, no qual o revolvimento do solo e a ausência de cobertura dificultam o desenvolvimento de formigas e cochonilhas.

A rotação de cultura é de uso limitado, uma vez que *D. brevipipes* possui um grande número de hospedeiros. Entretanto, a rotação com leguminosas, exceto o amendoim, pode ser eficaz na redução da população do inseto praga (Cunha, 1999).

Vários empreendimentos foram inviabilizados pela utilização de material de plantio (mudas) apresentando baixo padrão fitossanitário (Souza e Santa-Cecília, 2002). Com isso, as mudas a serem utilizadas em novos plantios devem ser obtidas de áreas que receberam bom tratamento fitossanitário, sendo descartadas as mudas infestadas com cochonilha (Cunha, 1999). Após a colheita, as cochonilhas presentes nas mudas podem ser eliminadas através do processo de “cura”, que consiste na exposição das mudas ao sol, com a base virada para cima, sobre as próprias plantas-mãe ou espalhando-as sobre o solo em local próximo ao do plantio, durante três a dez dias (Reinhardt et al., 2000). Além da redução na população de cochonilhas, a cura visa cicatrizar a ferida que ocorre quando a muda é destacada da planta e também eliminar o excesso de umidade das mudas, reduzindo a ocorrência de podridões, deixando as plantas mais saudáveis e menos propensas aos danos causados pela cochonilha (Reinhardt et al., 2000).

Os abacaxizeiros podem ser infestados pela cochonilha por meio do deslocamento desse inseto das raízes das gramíneas e de outras plantas hospedeiras que crescem às margens da cultura (Souza e Santa-Cecília, 2002). Por isso, eliminar as plantas daninhas, bem como os restos do cultivo anterior, é

de grande importância, uma vez que são excelentes fontes de infestação e alimento, que contribuem para a proliferação das pragas e seus disseminadores (Cunha, 1999).

O deslocamento das cochonilhas é sensivelmente menor na ausência das formigas e, conseqüentemente, a disseminação da doença será menor (Souza e Santa-Cecília, 2002). Nesse contexto, um método que já foi muito explorado no Havaí consistia no plantio de “filas bordaduras” contornando as lavouras de modo a reduzir a entrada das formigas doceiras no plantio, uma vez que as formigas tendem a mover-se no sentido das filas, e não as cortando (Rohrbach et al., 1988). Manter a cultura livre de plantas daninhas também impede a ação das formigas doceiras, não só por eliminar possíveis fontes de alimento, mas por dificultar a locomoção dessas formigas para o interior do talhão, uma vez que estas evitam caminhar sobre solos nus e deixam de formar novos ninhos (Rohrbach et al., 1988; Duodu e Thompson, 1992).

2.2.3.2 Controle genético

Existe uma considerável variação no grau de suscetibilidade das cultivares e espécies de abacaxi em relação à murcha. A transferência da resistência à murcha associada à cochonilha, encontrada em cultivares de abacaxi e espécies afins, para cultivares suscetíveis por meio de hibridação, bem como a utilização de material resistente na instalação de novos plantios, constituem medidas de controle dessa doença (Cunha, 1999).

As cultivares Smooth Cayenne e Monte-Lírio são altamente suscetíveis à cochonilha, enquanto que a ‘Red Spanish’, ‘Pérola’, ‘Queen’, ‘Quinari’ e as espécies *Ananas ananassoides*, *A. bracteatus* e *Pseudananas sagenarius*, apresentam certa tolerância a essa praga (Embrapa, 2005b).

2.2.3.3 Controle químico

O controle da CA vem sendo feito por meio de agrotóxicos. No entanto, seu emprego deve ser realizado com cautela, pois os produtos químicos afetam os organismos benéficos (predadores, abelhas e outros polinizadores), contaminam o solo e a água e, além disso, pode propiciar à praga resistência,

passando a exigir doses mais altas ou produtos distintos para um efetivo controle (Pallini, 2009).

O controle químico da CA é realizado em duas etapas: antes e durante o ciclo da cultura. Antes do plantio recomenda-se o tratamento de mudas por imersão completa. Contudo, essa recomendação é apenas para os casos de altas infestações, uma vez que trata-se de uma prática exigente em mão de obra, com risco de contaminação para o operador, de custo elevado e que, frequentemente, é mal realizada (Cunha, 1999). Para tratar menores quantidades de mudas recomenda-se a imersão parcial das mudas com o uso de menor quantidade de calda do inseticida (Model, 2000). Outras recomendações são a pulverização das mudas ainda sobre a planta-mãe, após a colheita dos frutos (Model, 2000) e a utilização de fosfato de alumínio (Cunha, 1999).

Durante o ciclo vegetativo o controle da CA pode ser efetuado mediante pulverizações de toda a planta, desde o centro da roseta até a base das folhas. A solução deve atingir todas as colônias para que o tratamento tenha efeito (Cunha, 1999). Para um bom tratamento, Py (1969) recomenda que a quantidade de solução a ser empregada seja de 2.000 a 3.000 litros por hectare.

Como as formigas são um importante fator de dispersão da CA, o controle das formigas com produtos químicos vem sendo realizado pelo uso de formulações contendo atrativos, sempre dando preferência a produtos de ação mais lenta para que uma maior quantidade de ingrediente ativo possa ser introduzida no ninho (Cunha, 1999). Preferencialmente, o produto deve ser colocado próximo aos ninhos localizados após o preparo do solo, mas outras aplicações poderão ser efetuadas no decorrer da fase vegetativa (Py et al., 1984).

2.2.3.4 Controle biológico

Trabalhos pioneiros visando o controle biológico da CA empreenderam o levantamento de agentes de controle biológico associados a esta praga. Relatou-se seu parasitismo por parasitoides, como *Anagyrus* sp. (Hymenoptera; Encyrtidae), *Anagyrus coccidivorus* Dozier, *A. pseudococci* Girault, 1915, *A. ananatis* Gahan, 1949, *Anastatus anonatis* Gahan, 1949 (Hymenoptera: Eupelmidae), *Hambletonia pseudococcina* Compere, 1936 (Hymenoptera; Encyrtidae), *Procheiloneurus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) e *Signiphora* sp.

(Hymenoptera: Signiphoridae). Relatou-se também sua predação por larvas de *Pseudiastata brasiliensis* Lima, 1937 (Diptera: Drosophilidae), *P. nebulosa* Coquillett, 1908 e *Ceratobaeus* sp. (Hymenoptera: Scelionidae) e por larvas e adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1853 (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysoperla externa* Hagen, 1861 (Neuroptera: Chrysopidae), *Hyperapsis quinquenotata* Mulsant, 1850 e *Scymnus* sp. (Coleoptera: Coccinellidae) (Barlet, 1939; Plank, 1940; Silva et al., 1968; Pizza Junior, 1969; Menezes, 1973; Santa Cecília e Reis, 1985; Sanches, 1993).

As primeiras tentativas de controle biológico da CA ocorreram no Havaí, em 1894, com a introdução de predadores e parasitoides vindos de outros países (Bartlett, 1978; González-Hernández et al., 1999). Atualmente, sabe-se da importância e ação dos parasitoides e predadores para a redução da população de CA. No entanto, poucos estudos mostraram resultados quanto ao seu emprego (Gonçalves-Gervásio e Santa-Cecília, 2001).

Outros estudos de controle biológico de cochonilhas pertencentes à família Pseudococcidae, e a outros grupos de cochonilhas, servem de base para futuras pesquisas de controle biológico da CA (Andaló et al., 2004; Andaló et al., 2009a; Vieux e Malan, 2013). Assim, diferentes agentes de controle biológico, como fungos e NEPs, e metodologias poderão ser utilizados contra a CA, visando à melhoria fitossanitária dos cultivos e a redução do uso de inseticidas. Santos et al., (2013) verificaram que o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* apresenta potencial para o controle biológico da CA em mudas de abacaxi, sendo mais eficiente no controle das ninfas do que adultos.

2.3 Nematoides entomopatogênicos

2.3.1 Caracterização e modo de ação

A grande diversidade do filo Nematoda está intimamente relacionada às características biológicas e ecológicas (De Ley, 2006). Composto esta variabilidade estão as espécies de nematoides nocivas a artrópodes, os nematoides entomopatogênicos (NEPs), que por serem úteis e eficazes no controle de certos tipos de insetos praga vêm sendo explorados comercialmente no controle biológico (Almenara et al., 2012).

Os NEPs pertencem à ordem Rhabditida e estão reunidos nas famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae. Atualmente são conhecidos três gêneros de NEPs: *Heterorhabditis* Poinar, 1976, *Steinernema* Travassos, 1927 e *Neosteinernema* Nguyen e Smart, 1994 (Burnell e Stock, 2000). Entretanto, os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* são os mais intensivamente pesquisados (Ferraz et al., 2008).

De maneira geral, os NEPs possuem seis estádios de desenvolvimento (ovo, J₁, J₂, J₃, J₄ e adulto), sendo o modo de reprodução a diferença marcante entre os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*. Os heterorhabdítideos apresentam dois modos de reprodução: o hermafroditismo e a anfimixia (heterogônico). Na primeira geração ocorrem fêmeas hermafroditas que se autofecundam e produzem os demais estádios, que irão se diferenciar em machos e fêmeas anfimíticas da segunda geração, podendo também ocorrer nas próximas gerações do nematoide. No entanto, para o gênero *Steinernema*, o modo de reprodução é apenas por anfimixia, onde a primeira e a segunda geração são formadas por machos e fêmeas; que pela fecundação haverá o desenvolvimento dos demais estádios, reiniciando o ciclo (Figura 4) (Poinar, 1990; Ferraz, 1998; Forst e Clarke, 2002; Lewis et al., 2006).

A particularidade dos NEPs é sua relação simbiótica mutualística com bactérias entomopatogênicas dos gêneros *Xenorhabdus* Thomas & Poinar, 1979 e *Photorhabdus* Boemare, Louise & Kuhl, 1983, que estão associadas aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, respectivamente. Essas bactérias são altamente patogênicas a certos grupos de insetos e após serem liberadas na hemolinfa, causam septicemia, sendo o complexo nematoide e bactéria o responsável pela rápida morte do hospedeiro, entre 24 e 72 horas após a infecção pelo nematoide (Ferraz, 1998; Dowds e Peters, 2002).

Apesar dos NEPs serem patogênicos a um grande número de insetos, algumas características comportamentais, tanto dos nematoides quanto do inseto hospedeiro, influenciam a taxa de mortalidade, gerando assim uma especificidade entre patógeno e hospedeiro (Lewis et al., 2006). Tal especificidade é caracterizada como um conjunto de comportamentos que o isolado apresenta diante de determinado hospedeiro, e está diretamente relacionada com a eficiência em alcançar, reconhecer, penetrar e causar doença, além de driblar o sistema imunológico do inseto, para que este não seja capaz de combatê-lo

(Byers e Poinar, 1982; Van Tol et al., 2001; Lewis et al., 2006; Alves et al., 2009a). No entanto, as condições ambientais podem causar variações nas características e adaptações dos diferentes isolados de NEPs em relação ao ambiente e ao hospedeiro (Gaugler et al., 1997).

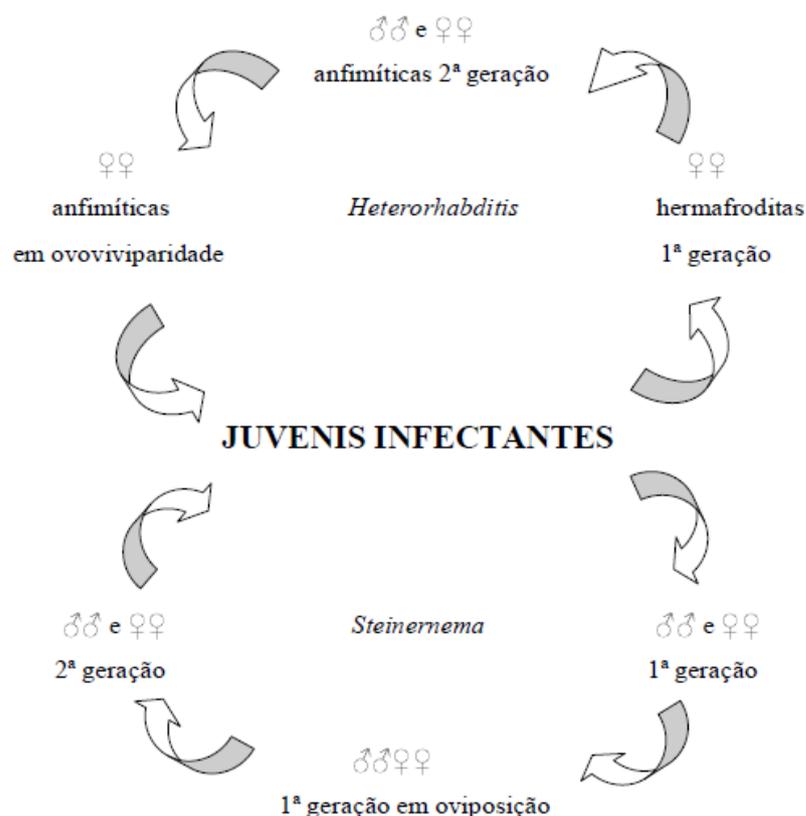


Figura 4. Ciclo biológico dos nematoides entomopatogênicos. Fonte: Ferraz (1998) adaptado por Silva (2007).

Para os NEPs a infecção do inseto hospedeiro só é iniciada com a penetração dos juvenis infectantes (JIs) de terceiro estágio (J_3), os quais carregam consigo as bactérias simbiotes. A penetração dos JIs acontece por meio das aberturas naturais (boca, ânus e/ou espiráculos) ou também através da cutícula no caso dos heterorhabditídeos, que utilizam uma projeção quitinosa para penetrá-la. Após a penetração, os JIs vão até a hemolinfa, onde liberam as bactérias, que se multiplicam e produzem toxinas que matam o inseto. Os nematoides se alimentam das bactérias, se multiplicam e, após completar duas ou

três gerações, abandonam o cadáver e vão para o solo em busca de um novo hospedeiro (Woodring e Kaya, 1988; Grewal e Georgis, 1998) (Figura 4).

Os NEPs se destacam dos demais agentes de controle microbiano devido ao seu comportamento de busca pelo hospedeiro, sendo este comportamento dependente da espécie de nematoide (Ramos-Rodríguez et al., 2007). De acordo com as estratégias de busca pelo hospedeiro, os NEPs podem ser classificados como “ambusher” ou “cruiser” (Lewis et al., 1992; Lewis et al., 1993).

NEPs com comportamento “cruiser” são aqueles que buscam ativamente seu hospedeiro. *H. bacteriophora* Poinar, 1976 e *S. glaseri* Steiner, 1929 são nematoides com estratégia de busca “cruiser”, que buscam o hospedeiro ativamente no ambiente, respondendo aos seus voláteis e deslocando-se até localizá-lo (Ishibashi e Kondo, 1990). As espécies “ambushers” locomovem-se pouco no ambiente e exibem o comportamento de nictação, onde suspendem o corpo sustentando-o sobre a ponta da cauda. Ficando a parte anterior do corpo livre, o nematoide aguarda a aproximação do hospedeiro e, ao perceber sua proximidade, salta na direção deste (Lewis et al., 2006). *S. carpocapsae* Weiser, 1955 e *S. scapterisci* Nguyen e Smart, 1990 são exemplos de NEPs que fazem nictação (Lewis et al., 1992). Mas, existem indivíduos que são classificados como intermediários, uma vez que podem combinar as duas estratégias, dependendo da proximidade do hospedeiro, intercalando as buscas pelo hospedeiro com paradas para nictar, como é o caso de *S. feltiae* Filipjev, 1934 (Grewal et al., 1994).

A utilização da estratégia apropriada de busca do inseto é essencial para o sucesso de encontro com o hospedeiro. Os NEPs com estratégia “cruiser” apresentam alta probabilidade de sucesso no controle de insetos praga com hábito sedentário ou críptico, que se movem lentamente abaixo da superfície do solo. Em contrapartida, os “ambusher” são mais indicados para o controle de insetos ativos, que se movimentam na região mais superficial do solo (Lewis, 2002; Lewis et al., 2006).

Os NEPs apresentam vantagens quanto aos outros agentes de controle biológico, uma vez que: i) possuem ampla gama de hospedeiro que são pragas de diferentes cultivos; ii) são inócuos ao ambiente; iii) apresentam comportamento de busca pelo hospedeiro; iv) provocam morte rápida dos insetos praga que lhes servem de hospedeiros (24 a 48 horas); v) são facilmente produzidos em larga

escala, apresentando baixo custo de produção e de formulação; e vi) são facilmente aplicados com equipamentos convencionais de pulverização ou de outras formas (Nardo et al., 2001; Leite et al., 2006; Santos, 2009). No entanto, Gaugler (2002) afirma que os custos de produção e a forma de aplicação são os principais fatores que limitam seu uso em diversas culturas e, ainda, associado a esses fatores limitantes estão a carência de produtos à base de NEPs e a escassez de trabalhos realizados a campo.

2.3.2 Utilização de NEPs no controle de pragas

O controle biológico de pragas vem assumindo maior importância nos programas de manejo integrado de pragas (MIP) devido à intensa busca por uma agricultura sustentável com altas produtividades (Parra et al., 2002). Para Gaugler et al., (2002), a redução do emprego de agroquímicos é um dos mais importantes argumentos a favor do emprego dos NEPs no controle biológico. Com isso, diversos trabalhos testando a eficiência dos NEPs contra insetos praga vêm sendo realizados, sendo que muitos apresentaram controle satisfatório, causando elevada mortalidade tanto em condições de laboratório, quanto no campo (Santos, 2009).

Os NEPs encontram-se amplamente distribuídos em diversas áreas geográficas, solos e ambientes, e estão adaptados a grande número de insetos hospedeiros (Woodring e Kaya, 1988). Cada espécie de NEP pode apresentar uma faixa de hospedeiros estreita ou até mesmo específica e, por não causar mortalidade indiscriminada, é necessária e recomendada a escolha do NEP mais adequado ao controle de determinada praga (Peters, 1996). Portanto, Dolinski e Moino (2006) recomendam primeiramente a realização de uma amostragem local ou de maior amplitude visando obter-se a maior variabilidade de NEPs nativos possível. Uma vez que estes, já estão adaptados às condições climáticas e à entomofauna local e, por não se saber, em um primeiro instante, quais impactos a introdução de NEPs exóticos causariam aos nematoides nativos e aos inimigos naturais.

No Brasil, os NEPs avaliados se mostraram eficientes no controle de várias pragas, sendo esta eficiência variável conforme a ordem de insetos considerada. Havendo resultados promissores para o controle de importantes

pragas, como para *Conotrachelus psidii* Marshall, 1922, *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794, *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797, *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824, entre outros (Dolinski et al., 2006; Bellini, 2011; Giometti et al., 2011; Souza et al., 2012; Rohde et al., 2012). Trabalhos visando o controle de cochonilhas pelo uso de NEPs vêm sendo realizados em condições de campo e laboratório. Vieux e Malan (2013) caracterizaram os NEPs como potenciais agentes de *Planococcus ficus* Signoret, 1875, importante praga dos vinhedos no Sul da África. Estudos para o controle da cochonilha da raiz do cafeeiro, *D. texensis* Tinsley, 1900, foram conduzidos por Andaló et al., (2004) e Alves et al., (2009a). Esses autores verificaram em laboratório que os NEPs são virulentos a *D. texensis*, e causaram altas taxas de mortalidade. Alves et al., (2009b), em condições de casa de vegetação e campo, demonstraram que o nematoide *Heterorhabditis* sp. (isolado JPM3), aplicado pelo método de suspensão aquosa, se mostra eficiente no controle de *D. texensis*. Outros estudos apontam os NEPs sendo eficientes no controle de *Planococcus* sp. e *Dysmicoccus vacinii* (Rodríguez et al., 1997; Stuart et al., 1997).

Muitas espécies de NEPs já fazem parte do MIP de várias culturas. No entanto, apesar das inúmeras vantagens que os NEPs apresentam seu uso apresenta limitações, pois atualmente os produtos registrados são comercializados principalmente nos Estados Unidos e em países da Europa (Gaugler et al., 2000). Ferraz (1998) afirma que os custos elevados e o tempo necessário para o desenvolvimento de produtos à base de NEPs representam o maior entrave do setor.

Ainda que os NEPS se mostrem eficientes no controle de pragas em condições de laboratório, trabalhos a campo devem ser realizados para se examinar não apenas a eficiência dos NEPS em matar o inseto praga, mas também as metodologias de aplicação e a persistência dos nematoides no ambiente. Andaló et al. (2004), ressaltam que barreiras comportamentais, tanto do inseto quanto do nematoide, principalmente quanto à mobilidade e o hábito de vida do hospedeiro, podem não ser discriminadas em testes de laboratório. Com isso, em condições de campo, o contato do NEP com os insetos que não vão para o solo em nenhuma fase do seu desenvolvimento, ou que não vivam em ambiente favorável para o desenvolvimento do nematoide, é inviabilizado, e conseqüentemente, a eficiência do controle é afetada. Para Alves (2009), insetos

com hábitos crípticos, ou que passam pelo menos uma fase de sua vida no solo, potencializam a chance do encontro com os NEPs e, conseqüentemente, o sucesso do controle. Com isso, o sucesso de controle da CA tende a aumentar, uma vez que possui hábito de vida críptico, vivendo em colônias nas bases das folhas (microclima de elevada umidade) e nas raízes do abacaxizeiro, em contato com o solo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Criação de *Galleria mellonella* e multiplicação dos NEPs

Para a multiplicação dos NEPs foram utilizadas lagartas de último instar de *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Pyralidae), uma vez que estas apresentam alta suscetibilidade aos NEPs e permitem alta taxa de multiplicação destes. Adultos de *G. mellonella* foram mantidos em potes cilíndricos de vidro de 20 cm de altura e 14 cm de diâmetro, com tampa plástica perfurada. Em cada pote, abaixo da tampa, foi posicionada metade de uma folha de papel A4, onde as fêmeas realizaram a ovoposição. Os papéis contendo ovos foram recortados e transferidos para potes de plástico com capacidade para 2000 mL, forrados com papel A4 e contendo dieta artificial (Apêndice A). Após atingirem o segundo instar de desenvolvimento, as lagartas foram transferidas para potes maiores, de 20 cm de comprimento, 10 cm de altura e 18 cm de largura, forrados com papel A4 e contendo dieta artificial, até completarem o seu desenvolvimento ou serem utilizadas para a multiplicação dos NEPs. Os adultos emergidos foram recolhidos e transferidos para potes de vidro para a manutenção da criação.

Os diferentes isolados de NEPs utilizados nos testes (Tabela 2) foram obtidos do Banco de NEPs do Grupo de Pesquisa em Nematologia da UENF. De acordo com a necessidade, lagartas de *G. mellonella* foram infectadas com JIs

por meio do sistema de infecção tópica, conforme descrito por Poinar (1979): seis lagartas foram transferidas para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, que continham no fundo uma folha de papel filtro. Sobre o papel aplicou-se 1 mL de suspensão aquosa contendo aproximadamente 500 JIs. Após a infecção, as lagartas foram incubadas em BOD à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$, no escuro.

Tabela 2. Relação dos NEPs selecionados do Banco de NEPs do Grupo de Pesquisa em Nematologia da UENF.

Isolados	Espécie ou Gênero	Origem
HP88	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Estados Unidos
Hmex	<i>H. mexicana</i>	Estados Unidos
LPP22	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Alagoas, Brasil
LPP30	<i>H. indica</i>	Rio de Janeiro, Brasil
LPP35	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Rio de Janeiro, Brasil
NCAII	<i>Steinernema carpocapsae</i>	Estados Unidos
SJH	<i>S. rarum</i>	Rio Grande do Sul, Brasil
SN	<i>S. feltiae</i>	França

Uma semana após a morte das lagartas os cadáveres foram transferidos para armadilhas de White modificadas (White, 1927), que consistiu em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo um círculo de cano de PVC no centro da placa. Sobre este se colocou uma tira de papel filtro, onde os cadáveres ficaram apoiados. As armadilhas foram mantidas sob as mesmas condições da infecção, sendo adicionados 10 mL de água destilada/placa, na qual os nematoides ficaram concentrados após abandonarem o cadáver. Conforme a necessidade, a suspensão de nematoides foi recolhida e transferida para garrafas de cultura de células de 40 mL de capacidade. Posteriormente, os JIs foram quantificados para

serem utilizados na montagem do experimento ou, quando necessário, foram armazenados em BOD sob temperatura de $16 \pm 2^\circ\text{C}$, no escuro.

3.2 Criação da Cochonilha do Abacaxizeiro

Para a produção *in vivo* da CA foram utilizadas abóboras híbridas 'Tetsukabuto' (*Cucurbita maxima* X *Cucurbita moschata*) como substrato alimentar para os insetos (Figura 5). As abóboras foram inoculadas pela transferência de fêmeas adultas obtidas de abacaxizeiros infestados em lavouras comerciais no município de São Francisco do Itabapoana - RJ. Antes da inoculação, as abóboras passaram por um processo de limpeza por imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio em 0,5% por 15 minutos, com posterior lavagem em água corrente. Após a inoculação, as abóboras foram mantidas em BOD sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

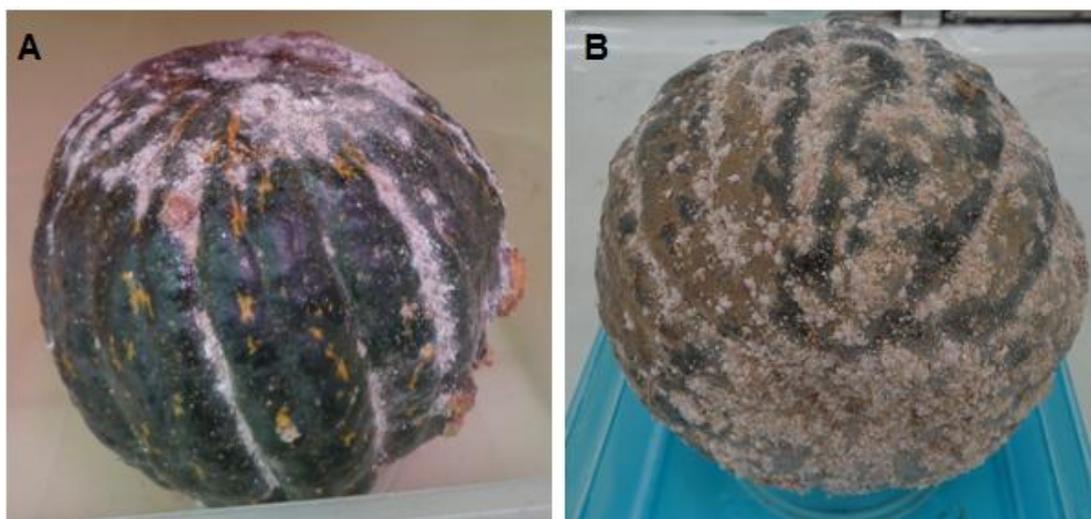


Figura 5. Abóbora colonizada com *Dysmicoccus brevipes*. (A) dois meses após a inoculação e (B) cinco meses após.

3.3 Avaliação da patogenicidade de NEPs à CA sob diferentes temperaturas

A avaliação foi realizada utilizando-se os isolados listados na Tabela 2. Os tratamentos (T) foram: T1: controle, ausência de NEPs; T2: inoculação com LPP30; T3: inoculação com HP88; T4: inoculação com LPP22; T5: inoculação

com LPP35; T6: inoculação com Hmex; T7: inoculação com SN; T8: inoculação com SJH e T9: inoculação com Ncall. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dez repetições por tratamento. Cada repetição constou de um recipiente plástico de 145 mL de capacidade com tampa, contendo 15 g de areia autoclavada e umedecida com água destilada em 10% p/v. Para esses recipientes foram transferidas dez fêmeas adultas da CA.

A inoculação foi realizada aplicando-se, com o auxílio de uma pipeta, 1 mL de suspensão aquosa contendo 1000 JIs. Ao tratamento controle foi adicionado 1 mL de água destilada. Após a inoculação, colocou-se em cada recipiente um fragmento (c.a. 5 mg) da região proximal de folhas de abacaxizeiro, para servir de substrato alimentar para os insetos (Figura 6). Os recipientes foram mantidos à temperatura de 16, 25 ou $34 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Avaliou-se a patogenicidade dos NEPs pela contagem do número de insetos mortos, do 1^o ao 7^o dia após a inoculação (DAI). Considerou-se insetos mortos aqueles que tiveram seus movimentos paralisados e apresentavam coloração marrom que, posteriormente, modificava-se para cinza-escuro. A causa da morte foi confirmada pela dissecação e observação, em microscópio estereoscópico, da presença de NEPs no interior dos insetos.

A patogenicidade dos NEPs foi expressa a) pela porcentagem de mortalidade das CA ao 7^o DAI e b) pela porcentagem de mortalidade acumulada das CA ao longo das épocas de avaliação (1^o ao 7^o DAI). Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade de Lilliefors e de homocedasticidade das variâncias de Cochran & Bartlett, identificando-se algumas restrições. Portanto, para as análises estatísticas (Teste F, $P \leq 0,05$), os dados foram transformados por $\sqrt{x+0,5}$. Nas tabelas e nos gráficos (veja Resultados e Discussões) os dados são, entretanto, apresentados sem transformação. Para a comparação da patogenicidade dos NEPs ao 7^o DAI, nas diferentes temperaturas, utilizou-se o teste de Tukey ($P \leq 0,05$). A correlação entre a mortalidade acumulada da CA e a época de avaliação, para os NEPs mais patogênicos, foi submetida à análise da variância para regressão. Para estas análises, utilizou-se o programa Sistema para Análises Estatísticas - SAEG (Ribeiro, 2001). Este experimento foi repetido uma vez.

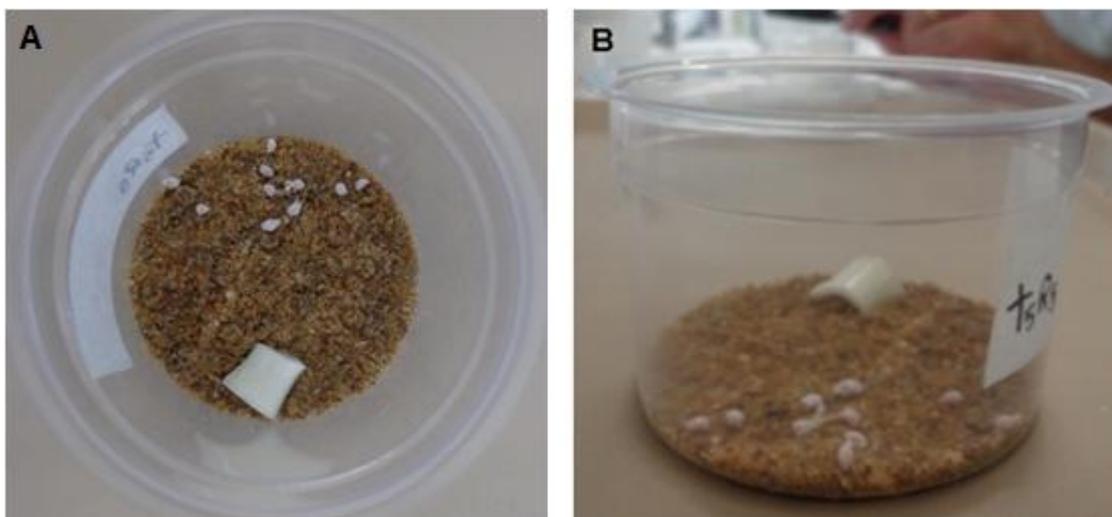


Figura 6. Vista (A) superior e (B) lateral de recipientes plásticos utilizados no teste de patogenicidade dos NEPs, contendo areia autoclavada, pedaço de folha de abacaxizeiro e fêmeas adultas da CA.

3.4 Quantificação da progênie dos NEPs na CA sob diferentes temperaturas

Fêmeas adultas da CA foram depositadas individualmente em poços de placas para cultura de células, marca TPP[®], que continham o fundo coberto com um círculo de papel filtro de 25 mm de diâmetro. Aplicou-se em cada poço 0,2 mL de suspensão aquosa contendo 100 JIs, sendo realizadas dez repetições (poços) para cada NEP. Os tratamentos (T) foram: T1: inoculação com LPP30; T2: inoculação com HP88; T3: inoculação com LPP22; T4: inoculação com LPP35; T5: inoculação com Hmex; T6: inoculação com SN; T7: inoculação com SJH e T8: inoculação com Ncall. Posteriormente, as placas foram transferidas para BOD e mantidas à temperatura de 16, 25 ou 34 ± 2°C, umidade relativa de 60± 10%, na ausência de luz.

Uma semana após a morte das CA os cadáveres foram transferidos individualmente para armadilhas de White adaptadas para as cochonilhas (Figura 7A). Placas para cultura de células, marca TPP[®], foram utilizadas na montagem das armadilhas. Cada poço continha um anel de polietileno de 10 mm de altura que continha um recorte de papel filtro (5 mm x 25 mm), sobre o qual foi depositado uma cochonilha morta. Posteriormente, foi adicionado 1 mL de água

destilada a cada poço, sendo esta água recolhida para um tubo de ensaio à medida que o JIs emergiam, repondo-se a água.

Para certificar-se que os NEPs utilizados nas inoculações apresentavam viabilidade, realizou-se em paralelo testes de progênie utilizando-se lagartas de *G. mellonella*, nas mesmas condições do teste com a CA. As lagartas utilizadas, com massa de aproximadamente 300 mg, foram depositadas individualmente sobre papel filtro contido em placas de cultura de polietileno de 60 mm de diâmetro e 15 mm de altura. Em seguida, foi aplicado sobre o papel 0,7 mL de suspensão aquosa contendo 100 JIs, sendo realizadas dez repetições (placas) para cada NEP. Sete dias após a morte das lagartas, os cadáveres foram colocados individualmente em armadilha de White modificada (Figura 7B). Os JIs foram coletados a cada 24 horas e colocados em garrafas de cultura de células de 500 mL.

As placas contendo as armadilhas de White com CA e lagartas de *G. mellonella* mortas foram mantidas nas respectivas condições da infecção (16, 25 ou 34° C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e ausência de luz), até a completa emergência dos JIs.

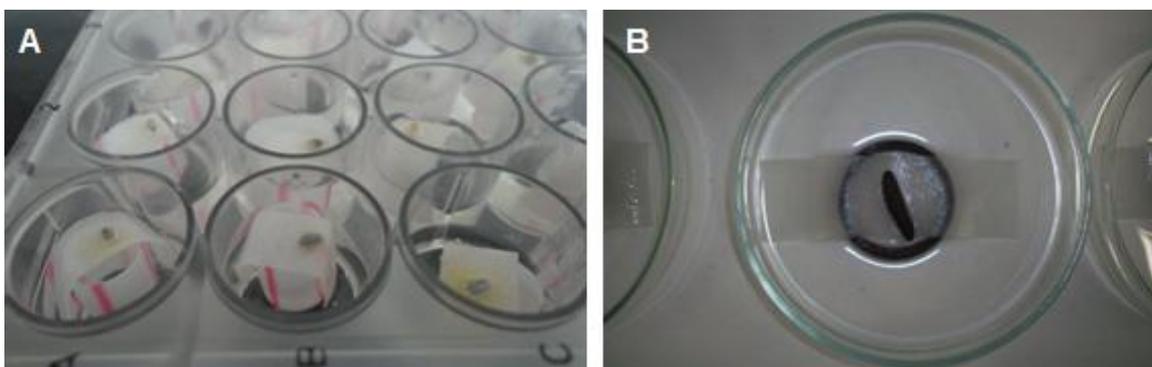


Figura 7. Armadilhas de White modificada contendo (A) fêmeas adultas da cochonilha do abacaxizeiro e (B) lagartas de *G. mellonella*, para obtenção dos JIs.

Ao final da emergência, os JIs obtidos das CA foram contados pelo método volumétrico, utilizando-se quatro alíquotas de 0,5 mL da suspensão de 5 mL contida no tubo de ensaio. Das suspensões de 200 mL que continham os JIs

obtidos de cada lagarta de *G. mellonella*, foram coletadas 4 alíquotas de 1 mL para a contagem dos JIs. A contagem da progênie foi realizada em câmaras de Peters utilizando-se lupa estereoscópica, estimando-se a progênie média de cada isolado de NEPs. Este experimento foi repetido uma vez.

3.5 Efeito de diferentes concentrações de inóculo de NEPs sobre a CA

Após avaliar-se a patogenicidade dos diferentes isolados de NEPs à CA, os quatro isolados que causaram maior mortalidade foram inoculados em fêmeas adultas para se determinar a CL_{50} , que corresponde à concentração letal capaz de matar 50% da população testada.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 32 tratamentos e dez repetições. Os tratamentos foram representados pela inoculação dos NEPs LPP30, LPP22, LPP35 e Hmex, nas concentrações de 50, 100, 250, 500, 750, 1.000, 1.500 ou 2.000 JIs/arena. Cada repetição foi constituída por um recipiente plástico (145 mL) com tampa contendo 15 g de areia autoclavada e umedecida com água destilada em 10% p/v, formando uma arena experimental de 28,26 cm². Para estes recipientes foram transferidas dez fêmeas adultas da CA. A inoculação foi realizada adicionando-se os JIs em 1 mL de água destilada, ao passo que no controle foi adicionado 1 mL de água destilada. Ao final da inoculação, um fragmento (c.a. 5 mg) da região proximal de folhas de abacaxizeiro foi adicionado a cada recipiente para servir de substrato alimentar para os insetos. Os recipientes foram mantidos em BOD a 25 ± 2°C, umidade relativa de 60 ± 10% e fotofase de 12 horas.

A avaliação foi realizada contando-se o número de insetos mortos ao 3^o DAI, correspondente ao dia em que ocorreu maior mortalidade no experimento 3.3. A causa da morte foi confirmada pela dissecação e observação, em microscópio estereoscópico, da presença de NEPs no interior dos insetos.

A CL_{50} para os diferentes NEPs foi obtida por meio de análise Probit em função da porcentagem de mortalidade da CA, utilizando-se para essa análise o programa Sistema para Análises Estatísticas - SAEG (Ribeiro, 2001). Este experimento foi repetido uma vez.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da patogenicidade de NEPs à CA sob diferentes temperaturas

Todos os NEPs testados foram patogênicos à CA. Os insetos mortos foram identificados pela coloração marrom, modificando-se posteriormente para cinza-escuro (Figura 8A) e pela presença de NEPs em seu interior (Figura 8B).

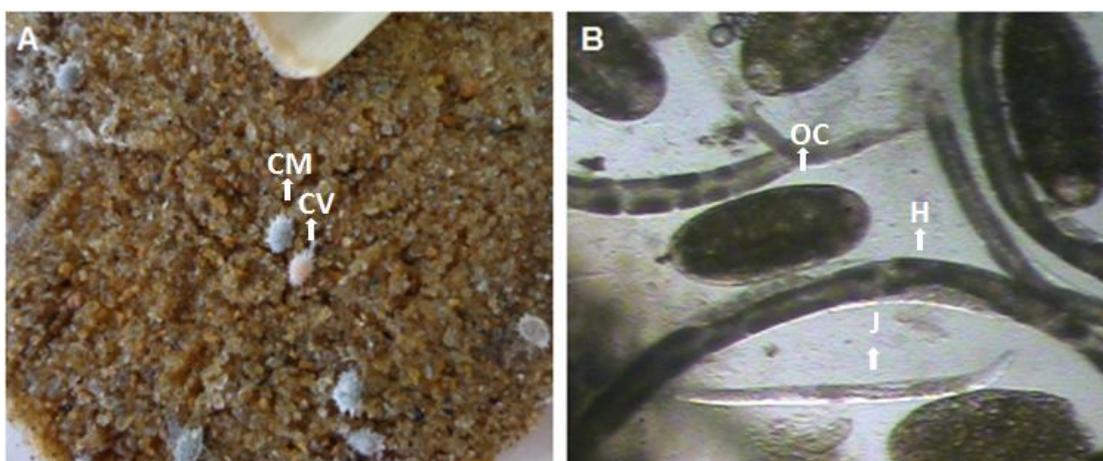


Figura 8. (A) CA vivas (CV) e mortas (CM), 48 horas após a inoculação e (B) adultos e juvenis de NEPs retirados de CA mortas, 72 horas após a inoculação (H- hermafrodita, J- juvenil, OC- ovo da CA).

A análise de variância dos dados de mortalidade revelou efeito significativo ($P \leq 0,05$) para os diferentes isolados de NEPs e para as três temperaturas testadas, em ambos os experimentos (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância dos dados de mortalidade da CA sete dias após a inoculação com diferentes isolados de NEPs, sob diferentes temperaturas experimentais.

FV	GL	Mortalidade (%)			
		EXP1*		EXP2	
		QM	F	QM	F
Isolados	8	14014,81	37,35**	14298,33	42,81**
Temperatura	2	59877,04	159,58**	65947,78	197,45**
Resíduo	567	375,22		333,99	
C.V.(%) =		29,57		26,78	

* EXP1: primeiro experimento; EXP2: repetição do experimento.

** Efeito significativo em 5%, segundo o Teste F.

A temperatura influenciou a patogenicidade dos NEPs (Tabela 4). Todos os NEPs se mostraram menos patogênicos à CA a 16 e 34 °C, em comparação a 25 °C, apresentando taxas de mortalidade inferiores a 60% ao 7º DAI. De maneira similar, vários autores já relataram maior patogenicidade de NEPs em temperaturas intermediárias, de 20 e 32 °C (Lacey e Unruh, 1998; Long et al., 2000; Hazir et al., 2001; El-Sadawy, 2001; Yul et al., 2002; Chen et al., 2003; Hussaini et al., 2005; Rohde et al., 2010).

Tabela 4. Média (\pm desvio padrão) da porcentagem de mortalidade de fêmeas adultas da CA causada por diferentes isolados de NEPs, sete dias após a inoculação, sob diferentes temperaturas.

Isolados	Temperatura (°C)					
	16		25		34	
	EXP1*	EXP2	EXP1	EXP2	EXP1	EXP2
LPP22	3 B (\pm 6,7)	9 B (\pm 9,9)	100 A (\pm 0,0)	99 A (\pm 3,1)	19 BC (\pm 12,8)	29 B (\pm 26,8)
LPP30	32 A (\pm 20,9)	32 A (\pm 15,4)	99 A (\pm 3,1)	100 A (\pm 0,0)	59 A (\pm 27,6)	44 AB (\pm 19,5)
Hmex	17 AB (\pm 10,5)	15 B (\pm 12,6)	98 A (\pm 4,2)	99 A (\pm 3,1)	34 B (\pm 11,7)	55 A (\pm 23,2)
LPP35	32 A (\pm 16,1)	34 A (\pm 16,4)	97 A (\pm 4,8)	91 AB (\pm 12,8)	10 CD (\pm 9,4)	30 B (\pm 13,3)
HP88	12 B (\pm 13,9)	8 B (\pm 7,8)	77 B (\pm 16,3)	81 B (\pm 16,2)	21 BC (\pm 12,8)	32 B (\pm 18,7)
SN	6 B (\pm 9,6)	5 B (\pm 8,4)	30 C (\pm 9,4)	45 C (\pm 22,7)	3 CD (\pm 6,7)	1 C (\pm 3,1)
SJH	9 B (\pm 8,7)	6 B (\pm 8,4)	22 CD (\pm 13,9)	29 C (\pm 11,0)	6 CD (\pm 5,1)	4 C (\pm 5,1)
Ncall	12 B (\pm 10,3)	8 B (\pm 11,3)	15 DE (\pm 8,4)	31 C (\pm 11,0)	5 CD (\pm 7,0)	6 C (\pm 8,4)
Controle	0 B (\pm 0,0)	0 B (\pm 0,0)	3 E (\pm 6,7)	0 D (\pm 0,0)	0 D (\pm 0,0)	1 C (\pm 3,1)

* EXP1: primeiro experimento; EXP2: repetição do experimento.

Valores são médias de 10 CA/recipiente, utilizando-se 10 recipientes por isolado.

Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na coluna diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A 16 °C apenas os isolados LPP30 e LPP35 se destacaram, o que sugere certa adaptação desses isolados para infectarem a temperaturas amenas. A 34 °C os isolados LPP30 e Hmex também se destacaram, pois são isolados originários de áreas quentes e secas, supostamente sendo mais adaptados a

altas temperaturas. A 25 °C a taxa de mortalidade foi superior a 90% para os isolados LPP22, LPP30, Hmex e LPP35.

Possivelmente, as temperaturas de 16 e 34 °C afetaram as características comportamentais dos NEPs testados e a especificidade entre patógeno e hospedeiro, prejudicando a infecção dos insetos, como relatado por Gaugler et al. (1997), Dowds e Peters (2002) e Lewis et al. (2006). De acordo com Molyneux (1985), baixas temperaturas podem reduzir a movimentação dos NEPs e, conseqüentemente, a sua capacidade de infecção, o que pode justificar a menor patogenicidade verificada neste trabalho a 16 °C. Por outro lado, Kaya (1990) sugere que altas temperaturas podem intensificar a movimentação de alguns isolados de NEPs, proporcionando maior gasto energético, o que pode resultar em menor patogenicidade, como foi observado na temperatura de 34 °C. Os NEPs movem-se baseados em gradientes químicos e no calor liberados pelo inseto (Gaugler et al. 1980; Byers e Poinar, 1982). Nesse sentido, Gouge et al. (1999) ressaltam que mudanças comportamentais do inseto provocadas pela alteração da temperatura, tais como interrupção da liberação de dióxido de carbono quando em estado de repouso em baixas temperaturas e aumento da atividade locomotora em temperaturas elevadas, também podem atuar reduzindo a infecção por NEPs.

Ao avaliar a interação entre a época de avaliação e a patogenicidade dos isolados LPP30, LPP35, LPP22 e Hmex a 16, 25 e 34 °C, por meio da análise de variância para regressão, foi possível observar significância para a maioria dos isolados, sendo os dados ajustados para regressão polinomial de segunda ordem (Figura 9; Tabela 5). Os isolados testados apresentaram diferenças de agressividade (aqui definida como a “velocidade” da septicemia e morte da CA). Tais diferenças de agressividade podem ocorrer em função da espécie de NEP, de distintos hospedeiros, do estágio de vida em que o hospedeiro se encontra e da especificidade do complexo nematoide e bactéria (Ferraz, 1998; Dowds e Peters, 2002).

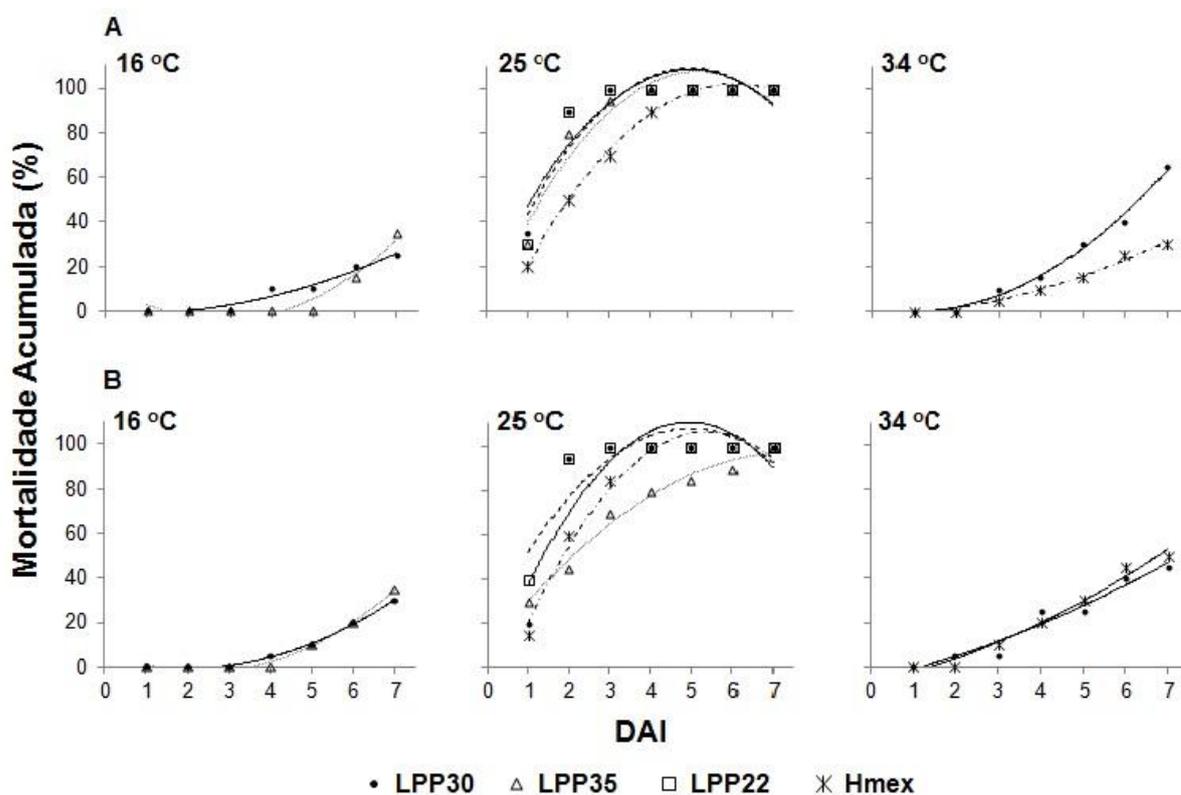


Figura 9. Curvas de regressão da porcentagem de mortalidade acumulada ao longo de sete dias após a inoculação (DAI) com isolados de NEPs, sob diferentes temperaturas ambientais. (A) primeiro experimento; (B) repetição do experimento. Valores são médias de 10 CA/recipiente, utilizando-se 10 recipientes por isolado.

Esta análise sugere que os isolados heterorhabditídeos LPP30, LPP22, LPP35 e Hmex são mais virulentos à CA à temperatura de 25°C, causando maior mortalidade a partir do 2º DAI, semelhante ao relatado por Rodríguez et al. (1997) e Minas (2012) em estudos com cochonilha (*Planococcus* sp. Migula, 1894) e gorgulho da goiaba (*Conotrachelus psidii* Marshall), respectivamente. Os isolados LPP30, LPP22, LPP35 e Hmex apresentam mais potencial para o controle da CA em função da temperatura ambiental, uma vez que as temperaturas do local de origem estão situadas dentro da faixa de temperatura em que o abacaxizeiro é cultivado, como relatado por Reinhardt et al. (2000) e Bertin (2011).

Tabela 5. Equações de regressão relativas às curvas apresentadas na Figura 9.

Isolados	EXP1		EXP2	
	Equação	R ²	Equação	R ²
16 °C				
LPP30	$y = 0,6548x^2 - 0,7738x - 0,7143$	0,95*	$y = 1,1905x^2 - 4,5238x + 3,5714$	0,99*
LPP35	$y = 2,0833x^2 - 11,845x + 12,857$	0,92*	$y = 1,7262x^2 - 8,2738x + 7,8571$	0,98*
25 °C				
LPP22	$y = -4,1667x^2 + 41,548x + 5,7143$	0,81*	$y = -3,5714x^2 + 35,357x + 20,714$	0,78*
LPP30	$y = -3,869x^2 + 38,631x + 12,143$	0,82*	$y = -4,7619x^2 + 47,024x - 5$	0,76*
Hmex	$y = -3,2143x^2 + 38,929x - 15,714$	0,99*	$y = -4,5238x^2 + 48,69x - 24,286$	0,97*
LPP35	$y = -3,9881x^2 + 41,012x + 2,1429$	0,90*	$y = -1,6071x^2 + 24,107x + 7,1429$	0,98*
34 °C				
LPP30	$y = 1,7262x^2 - 3,2738x + 1,4286$	0,98*	$y = 0,4167x^2 + 4,7024x - 6,4286$	0,94*
Hmex	$y = 0,5952x^2 + 0,5952x - 2,1429$	0,98*	$y = 0,5952x^2 + 4,5238x - 7,8571$	0,98*

* EXP1: primeiro experimento; EXP2: repetição do experimento.

** Efeito significativo ($P \leq 0,05$) para o coeficiente de regressão (R^2), segundo o Teste F.

Estudos com cochonilhas já haviam indicado maior patogenicidade de *Heterorhabditis* sp. quando comparado a *Steinernema* sp. (Rodríguez et al., 1997; Stuart et al., 1997; Alves et al., 2009a; Alves et al., 2009b). Entretanto, estudos avaliando a patogenicidade de isolados de NEPs especificamente sobre *Dysmicoccus texensis* revelaram maior patogenicidade de *Steinernema* sp. (Andaló et al., 2004).

O fato dos isolados LPP22, LPP30, LPP35, Hmex e HP88, que apresentam estratégia “cruiser”, terem causado maior mortalidade à CA e, em contrapartida, o isolado NCall (“ambusher”) ter apresentado as piores taxas de mortalidade, sugere que isolados “cruiser” têm maior potencial no controle de fêmeas adultas de CA no campo, de forma semelhante ao verificado por Lewis (2002), Lewis et al. (2006) e Alves e Moino Junior (2009) para outros hospedeiros com hábitos crípticos.

Além de serem “cruisers”, os isolados heterorhabditídeos apresentam menor tamanho e projeção quitinosa na região cefálica, que lhes permite perfurar a cutícula do inseto. Esses fatores poderiam permitir a esses NEPs maior sucesso nas etapas de busca pelo hospedeiro, infecção e morte da CA. Segundo Stuart et al. (1997), os esteinernematídeos podem encontrar maiores dificuldades para penetrar as aberturas naturais (boca e ânus) de insetos menores, como é o caso da CA, sendo que para os JIs de *Heterorhabditis* spp. essa limitação é superada pela penetração da cutícula com o auxílio da projeção quitinosa. Estas características podem explicar a maior patogenicidade de *Heterorhabditis* spp. sobre a CA, verificada no presente estudo.

4.2 Quantificação da progênie dos NEPs na CA sob diferentes temperaturas

Temperaturas de 16 e 34 °C influenciaram negativamente a prolificidade dos NEPs, pois progênies na CA foram recuperadas apenas para a temperatura de 25 °C. Em contrapartida, progênies em *G. mellonella* foram recuperadas para as temperaturas de 16 e 25 °C (Tabela 6).

Apesar dos isolados heterorhabditídeos infectarem e causarem mortalidade da CA a 16 e 34 °C, estes não se multiplicaram sob estas condições, isso porque a infecção por nematoides ocorre sobre uma maior amplitude de temperatura, diferente da reprodução e do desenvolvimento dos NEPs (Grewal et

al., 1996; Henneberry et al., 1996; Gouge et al., 1999). Molyneux (1986) e Grewal et al. (1994) ressaltam que a temperatura afeta tanto a produção quanto a emergência dos JIs e que as temperaturas ótimas variam de 18 a 28 °C. Del Valle et al. (2005) verificaram que aumentos de temperatura causam queda na produção de JIs de *H. baujardi* LPP7 em *G. mellonella* e que temperaturas superiores a 30 °C impedem a obtenção de progênes. Entretanto, outros fatores além da temperatura, como a espécie do NEP, a massa e espécie do hospedeiro e a quantidade de inóculo, comprometem a produção de JIs (Boff et al. 2000; Glaser, 2002; Shapiro e Gaugler, 2002), o que pode ter afetado negativamente a produção de JIs pelos isolados SN, SJH e Ncall, no presente estudo.

Tabela 6. Progênie média de diferentes isolados de NEPs em fêmeas adultas da CA e em lagartas de *Galleria mellonella*, nas temperaturas ambientes de 16 e 25°C.

Isolados de NEPs	Progênie (JIs/cadáver)					
	16 °C			25 °C		
	EXP1*	EXP2		EXP1	EXP2	
	<i>G. mellonella</i>	<i>G. mellonella</i>	CA	<i>G. mellonella</i>	CA	<i>G. mellonella</i>
HP88	16,2	19,8	0,2	290,7	0,3	234,9
Hmex	0	0	1,0	437,4	1,3	498,1
LPP22	0	0	1,2	373,3	0,9	486,4
LPP30	0	0	1,8	607,8	2,9	507,8
LPP35	0	0	1,2	338,5	1,7	250,3
NCall	12,8	8,0	0	360,7	0	565,0
SJH	3,5**	0	0	263,2	0	239,3
SN	2,1	9,4	0	89,2	0	103,6

* EXP1: primeiro experimento; EXP2: repetição do experimento.

Valores são médias da produção, em mil JIs, obtidas de 10 cadáveres por isolado.

** Produção média, em mil JIs, obtida a partir de três cadáveres.

Gouge et al. (1999), estudando a progênie de três espécies de NEPs em quatro hospedeiros distintos e diferentes temperaturas, verificaram que não só a temperatura teria efeito sobre a produção de JIs, mas que, sob as mesmas condições de teste, a progênie varia consideravelmente em função das espécies de nematoides e hospedeiros. Não obstante, para o presente trabalho, as progênies dos diferentes isolados na CA e em *G. mellonella* apresentaram variação, e as maiores produções foram obtidas a partir de *G. mellonella*. Estas possuem maior volume de hemolinfa, disponibilizando mais nutrientes para o desenvolvimento dos nematoides. Em contrapartida, o tamanho reduzido da CA limita o desenvolvimento dos nematoides devido à maior competição intraespecífica, estando a menor produção de JIs relacionada ao tamanho reduzido do hospedeiro e não com a perda de virulência após a manutenção dos nematoides em laboratório.

Adams e Nguyen (2002) afirmam que a produção de NEPs é dependente da quantidade de reservas alimentares do hospedeiro. Fuga et al. (2012) ressaltam ainda que se a oferta de alimento é limitada, os ovos produzidos pela primeira geração de fêmeas desenvolvem-se diretamente em JIs, acarretando menor progênie. Nesse contexto, muitos autores relatam que a produção de JIs é diretamente proporcional ao tamanho do hospedeiro (Acevedo e Lopez, 2002; Acevedo et al., 2004; Del Valle et al. 2005). Estudos realizados por Flanders et al. (1996) e Dias et al. (2008) demonstraram que, em *G. mellonella*, a massa das lagartas influencia a produção de JIs, sendo as maiores produções obtidas a partir de lagartas maiores, com massa de 200 a 400 mg. Não obstante, Hatab e Gaugler (2001) e Wring e Perry (2002a) ressaltam que não só a quantidade, mas também a qualidade dos lipídios presentes na dieta dos NEPs afetam a produção, viabilidade e infectividade dos JIs.

Ainda que a produção de JIs tenha sido influenciada pelas condições de temperatura, pelo tamanho do hospedeiro e pelas diferentes espécies de NEPs, a obtenção de progênie em CA destaca a possibilidade do uso eficiente dos NEPs no controle dessa praga. Ao utilizar NEPs que completam seu ciclo, com a progênie retornando ao solo, espera-se que haja ciclagem dos NEPs no ambiente, pela manutenção e persistência dos NEPs no solo. Com isso, o número de aplicações de NEPs a campo seria reduzido tendo, conseqüentemente, menor gasto com aplicação e controle.

4.3 Efeito de diferentes concentrações de inóculo de NEPs sobre a CA

Após a constatação da maior patogenicidade à CA, os isolados LPP30, LPP22, LPP35 e Hmex foram selecionados para testes subsequentes de concentração. A análise Probit revelou efeito significativo pelo teste Qui-quadrado ($P \leq 0,05$; $GL=78$), mostrando relação direta entre a concentração de JIs e a mortalidade da CA. Este efeito também foi constatado na repetição do experimento. Com base nesta análise, o isolado LPP30 se destaca dos demais por apresentar menores valores de CL_{50} e intervalos de confiança ($P \leq 0,05$). O mesmo foi constatado quando o experimento foi repetido no tempo (Tabela 7).

Tabela 7. Concentração letal e intervalos de confiança para a mortalidade de CA por diferentes isolados de NEPs

Isolados de NEPs	EXP1*	EXP2
	ICi CL50 ICs**	ICi CL50 ICs
LPP30	90,73 96,53 102,38	34,42 39,79 45,35
LPP22	134,23 143,38 152,67	83,93 91,41 98,99
Hmex	180,09 189,09 198,24	135,85 143,80 151,86
LPP35	282,91 295,26 307,86	294,75 309,85 325,35

* EXP: primeiro experimento; EXP2: repetição do experimento.

** ICi – limite inferior do intervalo de confiança ($P \leq 0,05$); ICs – limite superior do intervalo de confiança; CL50 – concentração letal 50.

Estimando-se a concentração de JIs/área, os valores obtidos foram de 3, 5, 6 e 10 JIs/cm² para os isolados LPP30, LPP22, Hmex e LPP35, respectivamente. Estas concentrações são até 60 vezes menores que as concentrações utilizadas por Lezama-Gutiérrez et al. (1996), Gazit et al. (2000), Wang et al. (2002), Toledo et al. (2005) e Sabino et al. (2014) para o controle de *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797, *Ceratitidis capitata* Wied, 1824, *Cornitermes cumulans* Kollar, 1832, *Anastrepha ludens* Loew, 1873 e *Rhynchophorus palmarum* Linnaeus, 1758,

respectivamente, e cinco vezes menores que as concentrações utilizadas por Stuart *et al.* (1997) e Alves *et al.* (2009a) sobre *Dysmicoccus* sp. Isto mostra a eficiência dos isolados LPP30, LPP22, LPP35 e Hmex para causar mortalidade da CA. O uso de NEPs tende a ser viável quando concentrações menores são requeridas, gerando menor custo final de produção e aplicação (Alves et al., 2009a). Assim, estes isolados apresentam potencial para serem utilizados em estudos que visem à utilização de NEPs em projetos de manejo integrado da CA.

4. CONCLUSÕES

Todos os isolados de NEPs testados são patogênicos à CA. No entanto, a CA apresentou maior suscetibilidade aos nematoides pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*, que se destacaram por causarem alta taxa de mortalidade e por apresentarem produção de progênie em condições controladas.

Os isolados *H. indica* LPP30, *Heterorhabditis* sp. LPP22, *Heterorhabditis* sp., LPP35 e *H. mexicana* Hmex apresentam potencial para serem utilizados no controle da CA, pois: 1) provocaram maior taxa de mortalidade em um menor período de avaliação, 2) apresentaram maiores valores de progênie e 3) se mostraram mais eficientes, pois causaram mortalidade em menores concentrações de JIs.

O isolado LPP30 se destacou dentre todos ao provocar maior taxa de mortalidade nas temperaturas de 16, 25 e 34 °C, além de ter produzido a maior progênie e ter a menor CL₅₀.

Nesse sentido, os NEPs apresentam potencial para o controle da CA, com destaque para os isolados nativos brasileiros que causaram alta taxa de mortalidade à CA. No entanto, testes em casa de vegetação e a campo devem ser realizados para comprovar a eficiência do seu uso, visando uma nova alternativa para, não só diminuir os danos e prejuízos causados por essa praga, mas também diminuir os impactos ambientais, econômicos e sociais causados pelo uso indiscriminado de inseticidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, J.P.M., Moino Junior, A., Cavalcanti, R.S. (2004) Produção *in vivo* de nematoides entomopatogênicos em diferentes insetos hospedeiros. *Arquivos do Instituto Biológico*, 71:347-354.
- Acevedo, J.P.M, Lopez, N.J.C. (2002) Producción *in vivo* de tres entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista Colombiana Entomológica*, 27:73-78.
- Adams, B.J., Nguyen, K.B. (2002). Taxonomy and systematics. *In*: Gaugler, R. (org). *Entomopathogenic nematology*. New York, CABI Publishing, p. 1-33.
- Almeida, C.O., Vilar, L.C., Silva, L.F.S., Reinhart, D.H., Macedo, C.M. (2004) Peso médio do abacaxi no Brasil: um tema em discussão. *Bahia Agrícola*, Salvador, 6(3):41-46.
- Almenara, D.P., Rossi, C., Neves, M.R.C., Winter, C.E. (2012) Nematoides Entomopatogênicos. *In*: INCT-EM (org.) *Tópicos Avançados em Entomologia Molecular*. INCTEM: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, p. 1-40.

- Alves, V.S., Moino Junior, A., Santa-Ceilia, L.V.C., Andaló, V., Souza, G.C. (2009a) Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à colchonilha da raiz do cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 76(1):67-73.
- Alves, V.S., Moino Junior, A., Santa-Ceilia, L.V.C., Rohde, C., Silva, M.A.T. (2009b) Testes em condições para o controle de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera, Pseudococcidae) em cafeeiro com nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* (Rhabditida, Heterorhabditidae). *Revista Brasileira da Entomologia*, 53(1):139-143.
- Alves, V.S., Moino Junior, A. (2009) Deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae) na busca por *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório e casa-de-vegetação. *Ciência e Agrotecnologia*, 33(4):971-976.
- Andaló, V., Moino Junior, A., Santa-Cecilia, L.V.C., Souza, G.C. (2004a) Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-daraiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 71(2):181-187.
- Barlet, K.A. (1939) Introduction and colonization of two parasites of the pineapple mealybug. *Journal of Agriculture*, Porto Rico, 23(2):67-72.
- Bartlett, B.R. (1978). Pseudococcidae. In: Clausen, C.P. (ed) *Introduced Parasites and Predators of Arthropod Pest and Weeds: a World Review*. Washington, U.S.D.A.: Agriculture Handbook 480, p. 137-170.
- Batista, A.C. (1947) A murcha de *Pseudococcus*: ameaça permanente das plantações de abacaxi. *Boletim da Secretaria de Agricultura, Indústria e Comércio do Estado de Pernambuco*, Recife, 14(3):279-284.

- Beardsley, J. W., Su T. H., McLewen, F. L., Gerling, D. (1982). Field investigations on the interrelationships of the big-headed ant, the gray pineapple mealybug and pineapple mealybug wilt disease in Hawaii. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 24:51-67.
- Beardsley, J.W. (1965) Notes on the pineapple mealybug complex, with descriptions of two new species (Homoptera: Pseudococcidae). *Hawaiian Entomological society Proceedings*, Honolulu, 19(1):55-68.
- Bellini, L.L. (2011) avaliação de nematóides entomopatogênicos (RHABDITIDA: Steinernematidae e Heterorhabditidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* Fabr. e de fitonematóides em cana-de-açúcar. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, p. 83.
- Ben-Dov, Y. (1994) A systematic catalogue of the mealybugs of the world (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoidae) with data on geographical distribution, host plants, biology and economic importance. Intercept Limited, Andover, UK, p. 686.
- Bento, J.M.S. (1999) Perdas por insetos na agricultura. *Ação Ambiental*, Viçosa, 2(4):19-21.
- Bertin, A. (2011) Bioecologia de *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) e *Pseudococcus viburni* (Signoret, 1875) (Hemiptera: Pseudococcidae) em videira. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Piracicaba – SP, Escola Superior de agricultura “Luis de Queiroz” – ESALQ, 72 p.
- Burnell, A.M., Stock, S.P. (2000) *Heterorhabdits*, *Steinernema* and their bacterial symbionts - lethal pathogens of insect. *Nematology*, 2:31-42.
- Boff, M.I.C., Wieggers, G.L., Gerritsen, L.J.M., Smits, P.H. (2000) Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NLH-E 87.3 in *Galleria mellonella*. *Nematology*, 2:303-308.

- Byers, J.A, Poinar, G.O. (1982) Location of insect hosts by the nematode, *Neoaplectana carpocapsae*, in response to temperature. *Behaviour*, 79:1-10.
- Cabral, J.R.S., Castellen, M.S., Souza, F.V.D., Matos, A.P., Ferreira, F.R. (2004) Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi: http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/documentos/documento_146 em 15/04/12 página mantida pelo CNPMF:Embrapa.
- Carter, W. (1963) Mealybug wilt of pineapple: a reappraisal. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 105, New York: Wiley Online Library, p.741-764.
- Carter, W. (1933) The pineapple mealybug, *Pseudococcus brevipes* and wilt of pineapples. *Phytopathology*, Lancaster, 23(3):207-242.
- Carter, W. (1932) Studies of population of *Pseudococcus brevipes* (CKII) occurring on pineapple plants. *Ecology*, 13(3):296-304.
- Celestino, R.C.A. Gadelha, R.S.S., Vieira, A. (1991) Diferenças entre os sintomas do ataque de cochonilha e da deficiência de cobre em plantas de abacaxi. Niterói: PESAGRO-RIO, 2p (Boletim, 209).
- Chen, S., Li, J., Han, X., Moens, M. (2003) Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. *BioControl*, Dordrecht, 48(6):713-724.
- Choairy, S.A. (1992) O abacaxizeiro: conhecimentos básicos, práticas de cultivo e uso. Fortaleza: EMEPA/BNB, p. 140 (Documentos, 16).
- Climate-Data (2014) Temperaturas medias locais: <http://pt.climate-data.org/location/853/> em 26/11/14 página mantida pela Climate-Data.Org.

- CODEVASF, Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (2008) Cadeia produtiva de fruticultura (abacaxi): oportunidade de investimento em abacaxi nos vales do São Francisco e do Parnaíba. Brasília, p. 35.
- Colen, K.G.F., Moraes, J.C., Santa-Cecília, L.V.C., Bonetti Filho, R.Z., Carnevale, A.B. (2001) Determinação de injúrias e danos da cochonilha pulverulenta *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae) ao abacaxizeiro. *Ciência Agrotécnica*, 25(3):525-532.
- Costa, D.C., Matos, A.P. (2000) Nematoses. Embrapa: Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas – BA.
- Cunha, G.A.P, Cabral, J.R.S. (1999) Taxonomia, espécies, cultivares e morfologia. 1999. In: Cunha, G.A.P; Cabral, J.R.S; Souza, L.F.S. (eds) *O Abacaxizeiro – Cultivo, Agroindústria e Economia*. Brasília: Embrapa, p. 17-51.
- De Ley, P. (2006) A quick tour of nematode diversity and the backbone of nematode phylogeny. In: WormBook (org) *The C. elegans Research Community*: http://www.wormbook.org/chapters/www_quicktourdiversity/quicktourdiversity.html em 28/03/2013 página mantida pela Wormbook.
- Del Valle, E.E., Dolinski, C.M., Souza, R.M., Samuels, R.I. (2005) Avaliação de Metodologias de Seleção para Tolerância a Elevadas Temperaturas em *Heterorhabditis beujardi* (Nematoda: Rhabditida). *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, 29(2):139-149.
- Dias, P.V.C., Dolinski, C.M., Acevedo, J.P.M. (2008) Influência da Dose de Juvenis Infectantes e da Massa de Larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) na Produção in Vivo de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, 32(4):317-321.

- Dolinski, C., A. Moino Junior. (2006) Utilização de nematoides entomopatogênicos nativos ou exóticos: O perigo das introduções. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, 30:139-149.
- Dolinsk, C., Del Valle, E., Stuart, R.J. (2006) Virulence of entomopathogenic nematodes to larvae of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae), in laboratory and greenhouse experiments. *Biological Control*, 38:422-427.
- Dowds, B.C.A, Peters, A. (2002) Virulence Mechanisms. *In*: Gaugler, R. (org). *Entomopathogenic Nematology*. New York: CABI Publishing, p. 79-98.
- Duodu, Y.A., Thompson W. (1992) Management of ant-mealybug complex in pineapple fields in Guyana. *FAO Plant Protection Bulletin*, 40:82-88.
- Ebssa, L.; Borgemeister, C.; Poehling, H-M. (2004) 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*, 29:145-154.
- Eidt, D.C., Thurston, G.S. (1995) Physical deterrents to infection by entomopathogenic nematodes in wireworm (Coleoptera: Elateridae) and other soil pests. *Canadian Entomologist*, 127:423-429.
- El-Sadawy, H.A. (2001) Effect of temperature and soil moisture on the infectivity of some entomopathogenic nematodes against larvae of the rice moth and flesh fly. *International Journal of Nematology*, 11:58-62.
- EMBRAPA (2005a) Cultivo do abacaxi em Rondônia: Importância dos produtos: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Abacaxi/Cultivo doAbacaxiRO/index.htm> em 23/03/13 página mantida pela EMBRAPA: Sistemas de Produção.

- EMBRAPA (2005b) Cultivo do abacaxi em Rondônia: Cultivares (variedades): <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Abacaxi/Cultivo doAbacaxiRO/cultivares.htm> em 23/03/13 página mantida pela EMBRAPA: Sistemas de Produção.
- FAO, Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2012) FAOSTAT-Countries by commodity: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> em 13/08/14 página mantida pela FAOSTAT.
- Ferraz, L.C.C.B., Leite, L.G., Lopes, R.B., Moino Júnior, A., Dolinski, C. (2008) Utilização de nematoides para o controle de pragas agrícolas e urbanas. *In: Alves, S.B.; Lopes, R.B. (eds) Controle microbiano de pragas na América latina*. Piracicaba: FEALQ, p. 171-202.
- Ferraz, L.C.C.B. (1998) Nematoides entomopatogênicos. *In: Alves, S.B. (org) Controle Microbiano de Insetos*. Piracicaba: FEALQ-USP, p. 551-567.
- Ferreira, T.F., Souza, R.M., Idalino, W.S.S., Ferreira, K.D.S., Brioso, P.S.T. (2014) Interaction of *Pratylenchus brachyurus* and *Helicotylenchus* sp. with mealybug wilt of pineapple in microplots. *Nematropica*, 44:181-189.
- Ferreira, T.F., Souza, R.M., Ferreira, K.D.S., Idalino, W.S.S. (2015) Interaction of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica* with mealybug wilt of pineapple, in microplots. *European Journal of Plant Pathology*, 1-8.
- Flanders, K.L., Miller, J.M., Shields, E.J. (1996) *In vivo* production of *Heterorhabditis bacteriophora* Oswego (Rhabditida: Heterorhabditidae), a potential biological control agent for soil-inhabiting insects in temperate regions. *Journal of Economic Entomology*, 89:373-380.
- Forst, S., Clarke, D. (2002) Bacteria-nematode symbiosis. *In: Gaugler R, (ed) Entomopathogenic Nematology*. New York: CABI Publishing, p. 57–77.

- Fuga, C.A.G., Fernandes, R.H., Lopes, E.A. (2012) Nematoides Entomopatogênicos *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*, 6(3):56-75.
- Gaugler, R (2002) Entomopathogenic Nematology. New York: CABI Publishing, p. 402.
- Gaugler, R., Grewal, P., Kaya, H., Smith-Fiola, D. (2000) Quality assessment of commercially produced entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, San Diego, 17(1):100-109.
- Gaugler, R., Lewis, E., Stuart, R.J. (1997) Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia*, 109:483-489.
- Gaugler, R., LeBeck, L., Nakagaki, B., Boush, G.M. (1980) Orientation of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* to carbon dioxide. *Environmental Entomology*, 9:649-652.
- Gazit Y., Rösler, Y., Glazer, I. (2000) Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science & Technology*, 10:157-164.
- 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. (2006) Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control*, San Diego, 38:103-123.
- Ghose, S.K. (1983) Biology of parthenogenetic of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell-Pseudococcidae, Homoptera). *Indian Journal of Agricultural Science*, New Delhe, 53(11):939-942.
- Giacomelli, E.J., Py, C. (1981) O abacaxi no Brasil. Campinas: Fundação Cargill, 101 p.

- Giometti, F.H.C., Leite, L.G., Tavares, F.M., Schmit, F.S., Batista Filho, A., Dell'Acqua, R. (2011) Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). *Bragantia*, Campinas, 70:81-86.
- Glazer, I. (2002) Survival biology. In: Gaugler, R. (ed) *Entomopathogenic Nematology*. New York: CABI Publishing, p. 169-188.
- Gonçalves-Gervásio, R.C.R, Santa-Cecília, L.V.C (2001) Consumo alimentar de *Chrysoperla externa* sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *Dysmicoccus brevipes*, em laboratório. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 36(2):387-391.
- González-Hernández, H., Reimer, N.J., Johnson, M.W. (1999) Survey of the natural enemies of *Dysmicoccus* mealybugs on pineapple in Hawaii. *Biological Control*, 44:47–58.
- Gouge, D.H., Lee, L.L., Henneberry, T.J. (1999) Effect of Temperature and Lepidopteran Host Species on Entomopathogenic Nematode (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) Infection. *Environmental Entomology*, 28(5):876-883.
- Grewal, P.S., Ehlers R.U., Shapiro-Ilan D.J. (2005) Nematodes as Biocontrol Agents. Wallingford: CABI, p. 528.
- Grewal, L.P.S. (2002) Formulation and application technology. In: Gaugler, R. (ed.). *Entomopathogenic Nematology*. New York: CABI Publishing, p. 266-284.
- Grewal, P.S., Converse S., Georgis R. (1999) Influence of production and bioassay methods on infectivity of two ambush foragers (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 73:40-44.

- Grewal, P.S., Georgis, R. (1998) Entomopathogenic nematodes. *In*: Hall, F.R., Menn, J.J. (Eds.) *Biopesticides: Use and Delivery*. USA: Humana Press, Totowa, NJ, p. 271-299.
- Grewal, P.S., Lewis, E.E., Gaugler, R., Campbell, J.F. (1994) Host finding behaviour as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. *Parasitology*, 108:207-215.
- Guerout, R. (1972) Répercussions de wilt sur la production de l'ananas en côte d'Ivoire. *Fruits*, Paris, 27(3):179-183.
- Guerra, M.P., Dal Vesco, L.L., Pescador, R., Schuelter, A.R., Nodari, R.O. (1999) Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, 34(9):1557-1563.
- Hatab, M.A., Gaugler, R. (2001) Diet Composition and Lipids of *In Vitro*-Produced *Heterorhabditis bacteriophora*. *Biological Control*, 20:1-7.
- Hazir, S., Stock, S.P., Kaya, H.K., Koppenhofer, A.M, Keskin, N. (2001) Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, San Diego, 77(4): 243-250.
- Henneberry, T.J., Jech, L.F., Burke R.A., Lindegren, J.E. (1996) Temperature effects on infection and mortality of *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae) larvae by two entomopathogenic nematode species. *Environmental Entomology*, 25:179-183.
- Hussaini, S.S., Shakeela, V., Dar, M.H. (2005) Influence of temperature on infectivity of entomopathogenic nematodes against black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel and greater wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus) larvae. *Journal of Biological Control*, Pequim, 19:51-57.

- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2014) Produção Agrícola Estadual: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/> em 03/08/14 página mantida pelo IBGE.
- Illingworth, J.F. (1931) Preliminary report on evidence that mealy bugs are an important factor in pineapple wilt. *Journal of Economic Entomology*, 24:877-889.
- Ishibashi, N., Kondo, E. (1990) Behavior of infective nematodes. In: Gaugler, R., Kaya, H.K (eds.) *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Florida: CRC Press, Boca Raton, p. 139-150.
- Ito, K. (1938) Studies on the life history of the pineapple mealybug *Pseudococcus brevipes* (Ckll). *Journal of Economic Entomology*, 51(2):291-298.
- Kaya, H.K., Gaugler, R. (1993) Entomopathogenic nematodes. *Annual Reviews of Entomology*, Palto Alto, 38:181-206.
- Kaya, H.K. (1990) Soil Ecology. In: Gaugler, R.; Kaya, H.K. (eds.) *Entomopathogenic nematodes in biological control*. CRC Press: Boca Raton, p. 93-116.
- Lacerda, J.T., Carvalho R.A., Oliveira E.F. (2009) Cochonilha *Dysmicoccus brevipes*: a praga cosmopolita da abacaxicultura. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, João Pessoa, 3(2):15-21.
- Lacey, L.A., Unruh T.R. (1998) Entomopathogenic nematodes for control of codling moth: effect of nematode species, dosage, temperature and humidity under laboratory and simulated field conditions. *Biological Control*, 13: 190-197.
- Larsen, L.D. (1910) Diseases of Pineapple. Hawaii Sugar Planters Association Pathology & Physiology Series, Experiment Station Bulletin, 10:1-72.

- Leite, L.G., Tavares, F.M., Ginarte, C.M.A., Carregari, L.C., Batista Filho, A. (2006) Nematóides entomopatogênicos no controle de pragas. *In*: Pinto, A.S., Nava, D.E., Rossi, M.M., Malerbo-Souza, D.T. (Org.) *Controle Biológico de Pragas na Prática*. Piracicaba: CP2, p. 45-53.
- Lezama-Gutiérrez, R., Altorre-Rosas, R., Bojalil-Jaber, L.F., Molina-Ochoa, J., Arenas-Vargas, M., González-Ramírez, M., Rebolledo-Domínguez, O. (1996) Virulence of Five entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and neonate larvae. *Vedalia*, 3:35-39.
- Lewis, E.E., Campbell, J., Griffin, C., Kaya, H., Peters, A. (2006) Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 38:66-79.
- Lewis, E.E. (2002) Behavioural ecology.. *In*: Gaugler, R. *Entomopathogenic nematology*. New York: CABI Publishing, p. 205-223.
- Lewis, E.E., Gaugler, R., Harrison, R. (1993) Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) in host volatile cues. *Canadian Journal of Zoology*, 71:765-769.
- Lewis, E.E., Gaugler, R., Harrison R. (1992) Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology*, 105:309-319.
- Lim, W.H. (1973) Studies on the biscaval race of *Dysmicoccus brevipes* Ckll.: its bionomics and economic importance. *Melayasian Agricultural Journal*, Kuala Lumpur, 49(2):254-267.
- Lim, W.H. (1972) Wilting and green spotting of pineapple by the bisexual race of *Dysmicoccus brevipes* Ckll. in west Malaysia. *Malaysian Pineapple*, Malayan, 2:15-21.

- Lima, S.C. (1996) As veredas do Ribeirão Panga no Triângulo Mineiro e a evolução da paisagem. Tese (Doutorado em Geografia Física) - São Paulo – SP, Universidade de São Paulo - USP, 283p.
- Long, S.J., Richardson, P.N, Fenlon, j.S. (2000) Influence of temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes (*steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to larvae and pupae of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematology*, Leiden, 2(3):309-317.
- Malavolta, E. (1982) Nutrição mineral e adubação do abacaxizeiro. *Anais do Simpósio Brasileiro de Abacaxicultura*, 1, Jaboticabal: Anais do Simpósio, p. 121-153.
- Menezes, E.B. (1973) Bioecologia e controle da cochonilha farinhenta do abacaxi *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell,1893) (Homoptera-Pseudococcidae). Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Piracicaba – SP, Escola Superior de agricultura “Luis de Queiroz” – ESALQ, p. 77.
- Minas, R.S. (2012) Caracterização biológica de uma linhagem de nematoide entomopatogênico visando o controle do gorgulho da goiaba (*Conotrachelus psidii*) em dois sistemas de cultivo. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, p. 138.
- Model, N.S. (2000) Controle da cochonilha do abacaxizeiro (*Dysmicoccus brevipes*) (Cockerell,1893) (Hemiptera; Sternorrhyncha; Pseudococcidae) no Rio Grande Do Sul, Brasil. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, Porto Alegre, 6(2):289-302.
- Model, N.S., Sander, G.R. (1999) Produtividade e características do fruto de abacaxizeiro em função do preparo do solo e técnicas de plantio. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, Porto Alegre, 5(2):209-216.

- Molyneux, A.S. (1985) Survival of infective juveniles *Heterorhabditis* spp., and *Steinernema* spp. (Nematoda: Rhabditida) at various temperatures and their subsequent infectivity for insects. *Revue Nematology*, 8(2):165-170.
- Nardo, E.A.B., Aguilera, M.M., Grewal, P.S. (2001) Pragas Brasileiras de solo com potencial de serem controladas com nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Steinernematidae e Heterorhabditidae). *Reunião Sul-Brasileira de pragas de solo*, 8, Londrina: Embrapa Soja (Documentos, 172), p. 273-278.
- Pallini, A. (2009) Controle biológico de pragas e seu uso em cultivos protegidos: <https://www2.cead.ufv.br/espacoProdutor/scripts/verArtigo.php?codigo=21&acao=exibir> em 13/08/13 página mantida pela UFV.
- Parra, J.R.P., Botelho, P.S.M., Correa-Ferreira, B.S., Bento, J.M. (2002) Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: Parra, J.R.P., Botelho, P.S.M., Correa-Ferreira, B.S., Bento, J.M.S. (eds.), *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo: Editora Manole, p. 125-142.
- Peters, A. (1996) The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and their impact on insect populations. *Biocontrol Science and Technology*, 6:389-402.
- Pizza Junior; C.T. (1969) Cultura do abacaxi. Campinas: CATI, p. 25.
- Plank, H.K. (1940) A survey of the pineapple mealy bug in Puerto Rico and preliminary studies of its control. *Jornal de Agricultura*, Porto Rico, 24:49-75.
- Poinar, G.O. (1990) Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R., Kaya, H.K. (eds) *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. CRC Press: Boca Raton, p. 23-60.

- Poinar, G.O. (1979) *Nematodes for Biological Control of Insects*. CRC Press: Boca Raton, 277 p.
- Py, C., Lacoeyilhe, J.J., Teisson C. (1984) *L'ananas, as culture, ses produits*. Paris: Maisonneuve & Larose et ACCT, p. 562.
- Py, C. (1969) *La Piñ Tropical*. Barcelona: Editorial Blume, p. 278.
- Ramos-Rodríguez, O., Christen, J. M., Ramaswamy, S. B., Campbell, J. F., Shapiro-Ilan, D. I., Lewis, E. E. (2007) Attraction behaviour of three entomopathogenic nematode species towards infected and uninfected hosts. *Parasitology*, 134:729-738.
- Reinhardt, D.H., Souza, L.F.S., Cabral, J.R.S. (2000) *Abacaxi: Produção e Aspectos Técnicos*. Brasília, EMBRAPA: Mandioca e Fruticultura, p. 76.
- Ribeiro Junior, J.I. (2001) *Análises Estatísticas no SAEG*. Viçosa: UFV, p. 301.
- Rocha, J.M. (1960) Combate às pragas do abacaxi. *São Paulo Agrícola*, São Paulo, 2(17):12.
- Rodríguez, M.G., Sánchez, L., Martínez, M. De Los A. (1997) Efectividad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditidae: Heterorhabditidae) sobre chinches harinosas del café (Homoptera: Pseudococcidae). *Revista de Protección Vegetal*, 12(2):119-122.
- Rohde, C., Moino Junior, A., Carvalho, F.D., Silva, M.A.T. (2012) Selection of entomopathogenic nematodes for the control of the fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, 7:797-802.
- Rohde, C., Moino Junior, A., Silva, M.A.T., Carvalho, F.D., Ferreira, C.S. (2010) Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) e

Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, 39(4):608- 611.

Rohrbach, K.G., Beardsley J.W., German T.L., Reimer N., Sanford W.G. (1988) Mealybug wilt, mealybugs and ants on pineapple. *Plant Disease*, 72:558-565.

Sabino, A.R, Negrisoli Junior, A., Santos, S., Maciel, A.G.S., Santos, M.D., Trindade, R.C.P., Duarte, A.G. (2014) Determinação da virulência de nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) no controle de *Rhynchophorus palmarum* L., 1764 (Coleoptera: Curculionidae). Anais do Congresso Brasileiro de Entomologia, 25, Goiânia: Resumos.

Sanches, N.F. (2005) Manejo integrado da cochonilha do abacaxi. Cruz das Almas: CNPMF-EMBRAPA, 2p. (Abacaxi em Foco, 35).

Sanches, N. F., Matos, A. P. (1999) Murcha associada à cochonilha *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell,1893). In: cnpmf:EMBRAPA (org) *O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia*. Brasília:EMBRAPA, p. 343-366.

Sanches, N.F. (1993) Ocorrência de microhimenópteros parasitóides da cochonilha do abacaxi em condição de casa de vegetação. Anais do Congresso Brasileiro de Entomologia, 14, Piracicaba: Resumos, p. 288.

Santa-Cecília, L.V.C, Souza, B., Souza, J.C, Prado, E., Moino Junior, R.A., Fornazier, M.J, Carvalho, G.A (2007) Cochonilhas-farinentas em cafeeiros: bioecologia, danos e métodos de controle. Belo Horizonte: EPAMIG, p. 37 (Boletim Técnico, 79).

Santa-Cecília, L.V.C. (1990) Efeitos de fatores climáticos e da época de plantio do abacaxizeiro sobre a cochonilha pulverulenta *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Homoptera: Pseudococcidae) nas principais regiões produtoras do Estado de Minas Gerais. Dissertação (Mestrado em

Entomologia) – Lavras – MG, Escola Superior de agricultura “Luis de Queiroz” – ESALQ, p. 114.

Santa-Cecília, L.V.C., Reis, P.R. (1985) A cochonilha e a murcha-do-abacaxizeiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 11(130):37-41.

Santos, L.H., Sanches, N.F, Carvalho, R.S (2013) Controle biológico da cochonilha do abacaxi *Dysmicoccus brevipes* pelo uso do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. *Anais da Jornada Científica Embrapa Mandioca e Fruticultura*, 7, Cruz das Almas: Resumos.

Santos, V. (2009) *Potencial de nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: steinernematidae e Heterorhabditidae) para o controle de Diabrotica speciosa Germar, 1824 (Coleoptera: Chrysomelidae)*. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 46 p.

Sether, D.M., Melzer, M.J., Busto, J. (2005) Diversity and mealybug transmissibility of ampeloviruses in pineapple. *Plant Disease*, 89:450-456.

Shapiro-Ilan, D.I. (2004) Entomopathogenic nematodes and insect management. *In: Capinera J.L. (org). Encyclopedia of entomology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishing, p. 781-784.

Silva, M.A.T. (2007) *Avaliação de nematoides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-cafeeiro*. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA, p. 42.

Silva, A.G.A., Gonçalves, C.R., Galvão, R.M., Gonçalves, A.J.L., Gomes, J., Silva, M.N., Simoni, L. (1968) *Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitas e predadores*. Rio de Janeiro: Ministério de Agricultura - Serviço da Defesa Sanitária Vegetal, p. 622.

- Sipes, B.S., Sether, D.M., Hu, J.S. (2002) Interactions between *Rotylenchus reniformis* and pineapple mealybug wilt associated virus-1 in pineapple. *Plant Disease*, 86:933-938.
- Souza, L.M, Moino Junior, A., Mertz, N.R., Silva, M.A.T, Soares, F.M., Bonete Filho, R.Z. (2012) Nematoides Entomopatogênicos e Compatibilidade com Imidaclopride Visando ao Controle de *Spodoptera frugiperda* em Viveiro Florestal. *Nematologia Brasileira*, 38: 32-41.
- Souza, S.M.C, Santa-Cecília, L.V.C. (2002) Duplo dano ao abacaxi in Revista Cultivar Hortaliças e Frutas: <http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=424> em 16/10/14 página mantida pelo Grupo Cultivar.
- Stuart, R.J., Polavarapu, E., Lewis, E., Gaugler, R. (1997) Differential susceptibility of *Dysmicoccus vacinni* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Journal of Economic Entomology*, Lanham, 90(4):925-932.
- Toledo, J., Rasgado, M.A., Ibarra, J.E., Gómez, A., Liedo, P., willians, T. (2005) Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophaga* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, Abingdon, 15(6):627-634.
- Van Tol, R.W.H.M., Van Der Sommen, A.T.C.M., Boff, I.C., Van Bezooijen, J., Sabelis, M.W., Smits, P.H. (2001) Plants protect their roots by alerting the enemies of grubs. *Ecologic Letter*, 4:292-294.
- Velame, K.V.C., Meissner Filho, P.E., Santos, L.S., Portugal, A.M. (2004) Produção de anti-soro contra o vírus associado com a murcha do abacaxizeiro (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*). *Summa Phytopathologica*, 30(3):346-349.

- Vieux, A.P., Malan, P.D. (2013) An Overview of the Vine Mealybug (*Planococcus ficus*) in South African Vineyards and the Use of Entomopathogenic Nematodes as Potential Biocontrol Agent. *South African Journal of Entology and Viticulture*, 34(1):108-118.
- Wang, C., Powell, J.E., Nguyen, K. (2002) Laboratory evaluations of four entomopathogenic nematodes for control of subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *Environmental Entomology*, Lanham, 31(2):381-387.
- White, G.F. (1927) A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66:302-303.
- Woodring, J.I., Kaya H.K. (1988) Sternematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of techniques Southern cooperative. Arkansas: Arkansas Agricultural experimental Station Fayetteville, p. 88 (Series Bulletin 331).
- Wright, D.J., Perry, R.N. (2002) Physiology and biochemistry. In: Gaugler R. (ed) *Entomopathogenic Nematology*. New York: CABI Publishing, p. 145-168.
- Yul, C., Wonn, L., Sook, Y., Myeong, L., Thi, H. (2002) Effects of temperature and nematode concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematode: Steinernematidae). *Korean Journal of Applied Entomology*, Seoul, 41(4):269-277.

APÊNDICE

Composição da dieta artificial utilizada na criação de lagartas de *G. mellonella* em laboratório

Ingredientes	Quantidade
Farelo de trigo	200 g
Leite em pó desnatado	200 g
Levedo de cerveja	120 g
Gérmem de trigo	200 g
Mel	153 mL
Glicerina	82 mL

Fonte: Cláudia Dolinski, UENF (comunicação pessoal).