

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

LILIAN BORTOLUZZI

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA
O CONTROLE DA BROCA-DA-BANANEIRA *Cosmopolites sordidus* (GERMAR,
1824)**

Marechal Cândido Rondon

2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

LILIAN BORTOLUZZI

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA
O CONTROLE DA BROCA-DA-BANANEIRA *Cosmopolites sordidus* (GERMAR,
1824)**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Nível Mestrado, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves

Marechal Cândido Rondon

2009

Aos meus pais, Neri e Zaneide,
os inquestionáveis mercedores...

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves, pela orientação, confiança, comprometimento e exemplo de profissionalismo.

À Prof. Dra. Viviane Sandra Alves, pela co-orientação, paciência e apoio.

À Prof. MSc.Tânia Mari Vicentini Prestes da UTFPR, pelos conselhos e primeiro incentivo para a realização deste mestrado.

A todos os professores do curso de Pós-graduação em Agronomia da Unioeste pela transferência do conhecimento, especialmente à Dra. Vanda Pietrowski pela disponibilidade em ouvir e ajudar em várias situações.

À estagiária Nicole Holz, por seu fundamental auxílio na realização dos experimentos, além de outros de natureza logística.

Ao Dr. Luis Garrigós Leite e Dr. Alcides Moino Júnior, pesquisadores do Instituto Biológico e Universidade Federal de Lavras respectivamente, por viabilizar o fornecimento dos isolados dos NEPs.

Aos senhores Joacir Rosso e Luis Mattias, por disponibilizar a propriedade para coleta dos insetos.

À Andréa Bonini e todos os estagiários do Laboratório de Zoologia de Invertebrados da Unioeste em Cascavel, que de alguma maneira contribuíram para tornar possível este trabalho.

Aos colegas de turma, especialmente César e João, pelo companheirismo, cooperação e momentos inusitados.

À Andréa, Marcelo, Viviane, Ildemar, César, Alice e os demais integrantes do grupo da “dinâmica” pelas dicas, incentivo e amizade.

Às minhas grandes amigas, Franciane, Sandra e Virgínia, pela constante torcida e apoio psicológico, independente da distância.

Ao Tio “Dhima”, Marcellly e Rafael por auxílios diversos.

Ao meu querido irmão Leandro, meu grande parceiro, por sua presença e apoio em vários momentos previstos e imprevistos!

Aos meus amados pais, pela preocupação, cuidado e incansável dedicação em ajudar-me.

À família e amigos como um todo, pela compreensão em momentos que não pude estar presente.

À “Força Maior”, pelo trabalho realizado e por ter esta lista de agradecimentos.

RESUMO

A broca-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*) é a principal praga dos cultivos de banana em várias regiões do mundo, acarretando perdas significativas na produtividade da cultura. As larvas constroem galerias no rizoma ou base do pseudocaule, afetando o desenvolvimento da planta e dos frutos, além de favorecer a instalação de microrganismos patogênicos. O uso de nematóides para o controle da praga pode ser uma alternativa, principalmente devido aos hábitos do inseto que os tornam um potencial alvo dos nematóides entomopatogênicos. Assim, este trabalho teve como objetivos avaliar isolados de nematóides entomopatogênicos em condições de laboratório visando sua utilização no controle da broca. Foram testados 16 isolados pertencentes às famílias Sterinernematidae e Heterorhabditidae, aplicados sobre pseudocaule (100JIs/cm²). A avaliação foi realizada 7 dias após a aplicação. Os isolados mais eficientes foram comparados entre si quanto à produção de nematóides em cadáveres da traça dos favos (*Galleria mellonella*) e também quanto a sua compatibilidade com o inseticida carbofurano. Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado. Verificou-se que exceto o isolado SC (*Steinernema carpocapsae*), todos os demais foram patogênicos aos adultos de *C. sordidus*. Os isolados mais virulentos foram o CB24 e CB40, os quais provocaram respectivamente 33,3% e 36,7% de mortalidade, ambos da família Heterorhabditidae. Os dois isolados apresentaram alta produção de JIs, não diferindo estatisticamente entre si. O inseticida foi compatível com o isolado CB40 e incompatível com CB24, mesmo assim, CB24 apresentou melhor desempenho em associação com carbofurano.

Palavras-chave: *Heterorhabditis*, *Steinernema*, controle biológico, inseticida químico, banana.

ABSTRACT

Evaluation of Entomopathogenic Nematodes to Control of Black Weevil *Cosmopolites sordidus* (GERMAR, 1824)

The black weevil (*Cosmopolites sordidus*) is the main pest of banana crops in several regions of the world, causing significant losses in productivity of the culture. The larvae build galleries in the rhizome or pseudostem base, affecting the development of the plant and the fruits, beside favoring the installation of pathogenic microorganisms. The use of nematodes to control of the pest can be an alternative, mainly because the insect's habits make them a potential target of entomopathogenic nematodes. So, this study had the objectives to evaluate isolates of entomopathogenic nematodes in laboratory conditions to their use in controlling the borer. Sixteen isolates *Sterinernematidae* and *Heterorhabditidae* were tested, applied on pseudostem (100JIs/cm²). The evaluation was performed 7 days after application. After, the most virulent isolates were compared with each other for production of nematodes in cadavers of wax moth (*Galleria mellonella*) and also about his compatibility with the insecticide carbofuran. All isolates were pathogenic to the adults of *C. sordidus*, except the isolate SC (*Steinernema carpocapsae*). The most virulent isolates were CB24 and CB40 (both of the *Heterorhabditidae*), which caused respectively 33,3% and 36,7% of mortality. The two isolates showed high production of JIs. The insecticide was compatible with isolated CB40 and incompatible with CB24, nevertheless, CB24 showed better performance in combination with carbofuran.

Key words: *Heterorhabditis*, *Steinernema*, biological control, chemical insecticide, banana.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Potes com areia umedecida e adultos de <i>C. sordidus</i>	31
FIGURA 2 – Aplicação da suspensão de NEPs sobre pedaço de pseudocaulé de bananeira.....	31
FIGURA 3 – Disposição do pseudocaulé de bananeira com a face tratada com nematóides voltada para o substrato.....	31
FIGURA 4 – Recipientes fechados com tampas perfuradas mantidos em câmara incubadora.....	32
FIGURA 5 – Emergência de JIs dos isolados CB24 e CB40 por um período de 10 dias.....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Isolados de nematóides Steinernematidae e Heterorhabditidae utilizados nos bioensaios, e, respectivo local de origem..... 29

TABELA 2: Porcentagem média de mortalidade de adultos de *C. sordidus* por nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae..... 35

TABELA 3: Comparação entre a produção de JIs dos isolados CB24 e CB40, pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*..... 39

TABELA 4: Porcentagem de viabilidade e infectividade dos isolados CB24 e CB40 de *Heterorhabditis sp.* sobre larvas de *Galleria mellonella*, em teste de compatibilidade com o inseticida carbofurano..... 42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 PRODUÇÃO E EXPORTAÇÃO DE BANANA NO BRASIL.....	13
2.2 <i>Cosmopolites sordidus</i>	14
2.2.1 Aspectos biológicos	14
2.2.2 Danos causados à cultura e importância econômica.....	14
2.2.3 Monitoramento.....	15
2.2.4 Métodos de controle.....	16
2.3 NEMATÓIDES ENTOMOPATOGENICOS.....	18
2.3.1 Importância.....	18
2.3.2 Nematóides entomopatogênicos no controle de <i>Cosmopolites sordidus</i>	19
2.3.3 Aspectos biológicos.....	22
2.3.4 Forrageamento.....	23
2.3.5 Produção de nematóides entomopatogênicos.....	24
2.3.6 Compatibilidade de nematóides entomopatogênicos com produtos fitossanitários.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 OBTENÇÃO DOS INSETOS.....	28
3.2 CRIAÇÃO DE <i>Galleria mellonella</i>	28
3.3 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DOS NEMATÓIDES.....	29
3.4 SELEÇÃO DE ISOLADOS.....	30
3.4.1 Atividade inseticida.....	31
3.4.2 Produção de nematóides <i>in vivo</i>	32
3.5 COMPATIBILIDADE COM INSETICIDA.....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 SELEÇÃO DE ISOLADOS.....	35
4.1.1 Atividade Inseticida.....	35
4.1.2 Produção de nematóides <i>in vivo</i>	39
4.2 COMPATIBILIDADE.....	41
5 CONCLUSÕES.....	45
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

A cultura de banana ocupa um notável grau de importância para as populações que vivem nas regiões tropicais, onde diversas variedades são cultivadas. No Brasil, além de ser um item alimentar vinculado à subsistência de populações rurais, é também produto de exportação, sendo cultivada em todos os estados do país (PRESTES et al., 2006; IBGE, 2008).

Segundo a FAO (2005), o Brasil é o segundo produtor mundial de banana. As regiões nordeste e sudeste são as que concentram a maior produção brasileira. No entanto, a produção na região Sul vem ganhando força devido à proximidade com o mercado existente no Mercosul, já que os países que mais importam a fruta produzida no Brasil são a Argentina e o Uruguai (MATTHIESEN e BOTEON, 2003; IBGE, 2008).

Contudo, mesmo sendo uma das principais frutas brasileiras destinadas à exportação e que vem aumentando gradativamente sua participação neste sentido, o Brasil ainda ocupa uma baixa representatividade em mercados mais exigentes, especialmente nos países do hemisfério Norte. Esta realidade deve-se principalmente ao baixo nível tecnológico na cadeia produtiva de banana no Brasil, resultando em perda de qualidades organolépticas e baixa produtividade (MATTHIESEN e BOTEON, 2003).

Dentre os fatores que resultam em uma produtividade insatisfatória e perdas na cultura estão os problemas fitossanitários, como a ocorrência de pragas (BATISTA FILHO et al., 2002).

Pertencente à família das Musáceas, em várias partes do mundo as bananeiras tem como principal praga o coleóptero curculionídeo *Cosmopolites sordidus* (GERMAR, 1824), popularmente conhecido como broca-da-bananeira, entre outros, o qual causa danos à planta, afetando a produtividade da cultura (ARLEU et al., 1984; BATISTA FILHO et al., 2002).

Entre os métodos disponíveis para o controle da praga encontram-se o cultural, químico, biológico e comportamental. Para o controle biológico, a utilização de microorganismos é considerada mais promissora, incluindo basicamente a aplicação de fungos e nematóides entomatogênicos (GOLD et al., 2001).

O interesse no estudo dos nematóides entomopatogênicos (NEPs) tem aumentado nos últimos anos, pois, apresentam um conjunto de atributos que os tornam viáveis como medida de controle, podendo ser inseridos em programas de manejo integrado de pragas (MIP), destacando-se, por exemplo: i) Possibilidade de criação massal “in vivo” e “in vitro” sem altos custos; ii) Compatibilidade com defensivos químicos e outros agentes biológicos; iii) Parasitas específicos de insetos e eficiência comprovada no controle de certas espécies que passam parte do ciclo de vida no solo ou em ambientes crípticos; iv) Em muitos casos há comportamento de busca do hospedeiro; v) Persistência por longos períodos no solo; vi) São inócuos ao homem e animais domésticos e de interesse zootécnico (GREWAL et al., 2001; LEITE, 2006).

O inseto adulto de *C. sordidus* apresenta susceptibilidade aos NEPs, fator que em virtude dos seus hábitos, possibilita a associação destes agentes com iscas atrativas (TREVERROW et al., 1991; SCHIMITT et al., 1992; TREVERROW e BEDDING, 1993; ROSALES e SUÁREZ, 1998; SEPÚLVEDA-CANO et al., 2008).

Assim sendo, procurando contribuir com a definição de estratégias que permitam inserir o uso de nematóides entomopatogênicos no MIP, visando o controle do inseto *C. sordidus*, os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliar a patogenicidade de isolados nativos e exóticos de nematóides entomopatogênicos sobre adultos de *C. sordidus* em condições de laboratório;
- Verificar a produção *in vivo* de JIs de isolados patogênicos ao *C. sordidus* em larvas de *Galleria mellonella*.
- Analisar a compatibilidade entre isolados patogênicos ao *C. sordidus* e um produto fitossanitário indicado para o controle químico do inseto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO E EXPORTAÇÃO DE BANANA NO BRASIL

Segundo a FAO (2005), o Brasil produziu 6,7 milhões de toneladas de banana, o que representa 9% da produção mundial, perdendo apenas para a Índia, que produz mais que o dobro desse valor. No ano de 2008 a produção no país aumentou para 6,9 milhões de toneladas (IBGE, 2008), e a exportação foi de aproximadamente 130 mil toneladas (MDIC, 2008). Os números demonstram que quase toda a produção é consumida no próprio país, tendo uma quantidade relativamente pequena destinada à exportação. Segundo a FAO (2007a), em 2006 o país contribui com apenas 2% da exportação mundial, muito abaixo do líder em exportações de banana, o Equador (33%).

Contudo, a tímida participação do Brasil no mercado externo de bananas frescas ou secas vem aumentando gradativamente. Em 1996, o Brasil exportou menos de 30 mil toneladas, cerca de 100 mil toneladas a menos que em 2008. Esta elevação é decorrente do aumento das exportações para Argentina e Uruguai, bem como para a Itália que passou a comprar a fruta brasileira a partir de 1998 e o Reino Unido a partir de 1999 (MDIC, 2005; FAO, 2005; MDIC, 2008).

O Brasil encontra dificuldades para comercializar a fruta em mercados mais exigentes, como os europeus e norte-americanos, devido ao baixo nível tecnológico da cadeia produtiva, que além de interferir nas qualidades organolépticas da fruta, afeta também os níveis de produtividade (MATTHIESEN e BOTEON, 2003). Entretanto, a produtividade média do país vem aumentando expressivamente. Até o ano 2000, a produtividade não chegava a 2,0 t/ha, já em 2007, a média de produtividade no país foi 13,7 t/ha (IBGE, 2007). No entanto, ainda é um número baixo se comparado a grandes exportadores como o Equador (29,1 t/ha), Colômbia (27,6 t/ha) e Costa Rica (52,0 t/ha) (FAO, 2007b).

Dentre os fatores que afetam a produtividade da cultura, estão os problemas fitossanitários. Em relação às pragas, em todo o mundo destaca-se o *Cosmopolites sordidus* (GERMAR, 1928) (Coleoptera: Curculionidae) (ARLEU et al., 1984; GOLD et al., 2001; BATISTA FILHO et al., 2002).

2.2 *Cosmopolites sordidus*

2.2.1. Aspectos biológicos

O inseto adulto é um besouro que mede cerca de 11 mm de comprimento, possui coloração pardo-escuro e apresenta um rostro prolongado. Pode viver até 2 anos, têm hábito noturno, movimentos lentos, abrigando-se da luz solar nas touceiras, bainhas das folhas e restos de cultura (SUPLICY e SAMPAIO, 1982; MANICA, 1997; BATISTA FILHO et al., 2002; MESQUITA, 2003).

Com o auxílio das mandíbulas, as fêmeas abrem pequenas cavidades no rizoma ou na base do pseudocaule ou ainda em restos culturais, onde depositam seus ovos, um em cada orifício (GALLO et al., 2002). O número médio de ovos colocados pelas fêmeas é de 5 ao mês, podendo variar no decorrer do ano em função da temperatura e alimentação, atingindo um total geralmente não superior a 100 ovos por ano (ARLEU et al., 1985; BATISTA FILHO et al., 2002).

A eclosão das larvas ocorre 5 a 8 dias após a postura, as quais são ápodas, apresentam o corpo com coloração clara contrastando com a cabeça vermelha brilhante e podem alcançar 12 mm de comprimento (BATISTA FILHO et al., 2002; GALLO et al., 2002). O período larval é constituído de 6 a 7 ínstars (ARLEU et al., 1985) e oscila entre 14 a 48 dias (BATISTA FILHO et al., 2002). Ao final deste período, as larvas dirigem-se para as extremidades das galerias próximas da superfície externa do rizoma ou pseudocaule e preparam câmaras ovais, onde se transformam em pupas e assim permanecem por 7 a 10 dias. De maneira geral, o ciclo evolutivo completo oscila entre 23 a 70 dias, conforme as condições climáticas (SUPLICY e SAMPAIO, 1982; BATISTA FILHO et al., 2002)

C. sordidus é considerado um estrategista k por possuir um prolongado período de vida e baixa fecundidade, além de poder sobreviver sem se alimentar em substratos úmidos por vários meses (GOLD e MESSIAEN, 2000).

2.2.2. Danos causados à cultura e importância econômica

A broca-da-bananeira é nativa da Ásia, com provável centro de origem na região Malásia-Java-Bornéu e se distribui em todas as regiões de cultivo, tendo sido constatada no Brasil, em 1885 (ARLEU et al., 1984; SCHIMITT, 1992; GOLD et al., 2001; BATISTA FILHO et al., 2002; MESSIAEN, 2002; CASTRILLÓN, 2003).

Com relação à planta hospedeira, a broca é considerada uma praga específica do gênero *Musa*, ainda que tenha sido constatada sua presença em outros gêneros (BATISTA FILHO et al., 2002). No Brasil, foi observado que o cultivar Maçã é mais atrativo e atacado que Prata, Nanica e Nanicão (SARGO, 1994; LARA et al., 2000; BATISTA FILHO et al., 2002).

As larvas de *C. sordidus* se alimentam do rizoma e base do pseudocaule, perfurando os mesmos com o auxílio de seu aparelho bucal mastigador, resultando na construção de galerias em todas as direções, o que dificulta a translocação da seiva e provoca sintomas como amarelecimento e secamento de folhas e formação de cachos pequenos (ARLEU et al., 1984; BATISTA FILHO et al., 2002). As plantas debilitadas tornam-se mais sensíveis ao tombamento, principalmente àquelas que se encontram na fase de frutificação (MESQUITA, 2003). Outros danos também são causados devido à entrada de microrganismos fitopatogênicos pelas aberturas das galerias, destacando-se o fungo causador do “Mal do Panamá”, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (SUPLICY e SAMPAIO, 1982; BATISTA FILHO et al., 2002; GALLO et al., 2002).

Foi constatado que uma bananeira atacada por 12 larvas sofre perda quase total, sendo comuns quebras de 20 a 50% na produção (GALLO et al., 2002). Além disso, Messiaen (2002) destacou que plantas atacadas pela broca se apresentaram 15% mais baixas, cachos 33% menores e necessitaram 8% a mais de tempo para a colheita. No Brasil, Arleu et al. (1984) estimaram uma redução média de 30% na produção de banana devido ao ataque deste inseto.

2.2.3. Monitoramento

A estimativa da população de *C. sordidus* é feita normalmente com a utilização de iscas atrativas construídas a partir de pedaços de pseudocaule de bananeira que já produziram cachos (SUPLICY e SAMPAIO, 1982; ARLEU et al.,

1984). Há duas formas principais, um tipo chamado “telha”, e outro chamado “queijo” (BATISTA FILHO et al., 2002).

Na forma “telha” é retirada uma porção de pseudocaule com aproximadamente 50 cm de comprimento, a qual é partida no sentido longitudinal, e, ambas as partes são colocadas ao lado das touceiras com a face seccionada voltada para o solo e distribuídas periodicamente no bananal. A isca tipo “queijo” consiste de um pedaço de pseudocaule com 5 a 10 cm de altura, cortado transversalmente e colocado sobre a base do pseudocaule que ficou no solo e do qual a isca foi retirada (SUPLICY e SAMPAIO, 1982; ARLEU et al., 1984; MANICA, 1997; GALLO et al., 2002; MESQUITA, 2003).

Ambas as iscas têm um período de atratividade de 14 dias (GALLO et al., 2002), e, a isca do tipo “queijo” geralmente atrai mais insetos, porém, sua disponibilidade é menor e a distribuição pode ser irregular (BATISTA FILHO et al., 2002).

São utilizadas cerca de 20 destas iscas/ha para monitoramento da população e cerca de 100 a 150 iscas para controle, sendo que o nível de dano é atingido quando for encontrada a média de 5 adultos/isca/mês (ARLEU et al., 1984; BATISTA FILHO et al., 2002; GALLO et al., 2002).

2.2.4. Métodos de controle

Entre os métodos disponíveis para o controle da broca-da-bananeira encontram-se o cultural, comportamental, químico, biológico (BATISTA FILHO et al., 2002; GALLO et al., 2002) e uso de variedades resistentes (GOLD et al., 2001; MESSIAEN, 2002).

O controle cultural se baseia na destruição de restos da cultura onde o inseto se abriga e se alimenta, além da seleção de mudas para evitar a entrada do mesmo na plantação. O método comportamental pode ser realizado através de iscas atrativas de pseudocaule, podendo ainda ser incrementado com o uso de feromônio de agregação, que também pode ser utilizado em outros tipos de armadilhas. No entanto, uma eficiência muito maior tem sido observada quando o uso do feromônio está associado a iscas atrativas confeccionadas com partes da planta (BATISTA FILHO et al., 2002).

Em relação ao controle químico, existem alguns produtos registrados para *C. sordidus*, com diferentes modos de ação, como carbofurano, terbufós, tiacloprido, óleo mineral entre outros (AGROFIT, 2009). Segundo Raga e Oliveira (1996) os inseticidas clorados foram amplamente utilizados no controle da broca em várias regiões produtoras no mundo e frente ao uso indiscriminado, Suplicy e Sampaio (1982) chamaram a atenção para o desenvolvimento de resistência da broca ao Aldrin e provavelmente a outros inseticidas clorados. Nesse sentido, Raga e Oliveira (1996) destacaram a compatibilidade dos inseticidas do grupo químico fenil pirazol com o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* e a importância da utilização alternada de diferentes princípios ativos para evitar a resistência da praga.

O controle biológico natural é exercido por alguns artrópodes e entomopatógenos, que podem ser utilizados como ferramentas para o controle biológico do *C. sordidus*, como é o caso da introdução do predador *Plaesius javanicus* (Herichon) (Coleoptera: Histeridae) nas ilhas Fiji e Tahiti, que se apresentou razoavelmente efetivo no controle da broca (SUPLICY e SAMPAIO, 1982). Há outros registros de predadores, como aranhas e insetos coccinelídeos, reduvídeos e formigas que ocorrem naturalmente nas plantações de banana (HASYM e GOLD, 1998). Prestes et al. (2006) registraram em uma plantação em São Miguel do Iguazu, região oeste do Paraná, a presença de Coleoptera (Carabidae), Dermaptera (Forficulidae), Hemiptera (Reduviidae), Hymenoptera (Formicidae, subfamília Ponerinae) e Aranae (Ctenidae, Clubionidae, Lycosidae), caracterizados por serem predadores. No entanto, segundo Gold et al. (2001), os artrópodes podem apresentar comportamento oportunista ou generalista, o que limita sua eficácia como agentes de controle. Destaca ainda que o controle microbiano, utilizando fungos e nematóides entomopatogênicos tende a ser mais promissor.

Neste sentido, os fungos entomopatogênicos mais comumente encontrados infectando *C. sordidus*, em trabalhos realizados na África e nas Américas são *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (AYALA e MONZON, 1977; DELATTRE e JEAN-BART, 1978) *apud* Gold et al. (2002). O mesmo fato foi constatado em ilhas da Indonésia (HASYM e GOLD, 1998). No Brasil, o parasitismo natural por fungos têm sido observado em estudos de flutuação populacional da broca, como o realizado por Batista Filho et al. (1992) e Prestes et al. (2006). Além disso, muitas pesquisas têm mostrado *B. bassiana* como um viável agente de

controle da praga (BATISTA FILHO et al., 1987; BATISTA FILHO et al., 1995; BATISTA FILHO et al., 2002).

Em relação aos nematóides entomopatogênicos (NEPs), vários testes de patogenicidade sobre *C. sordidus* já foram realizados (GREWAL, 2001). A potencialidade do uso destes agentes em um possível programa de controle da praga também pôde ser demonstrada por testes feitos em campo, como os realizados no Brasil por Schimitt et al. (1992) e na Austrália por Treverrow e Bedding (1993). Ressaltando que os NEPs vêm recebendo especial atenção nos últimos anos devido à rapidez dos seus efeitos (GOLD, 2000).

2.3 NEMATÓIDES ENTOMOPATOGENICOS

2.3.1. Importância

Os nematóides pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* são os que têm recebido maior atenção no controle biológico de pragas (FERRAZ, 1998). Segundo Smart Jr. (1995), o uso de nematóides para controle de insetos começou a ser efetivamente considerado a partir de dados apresentados por Glaser e Fox (1930), sobre a produção e aplicação de nematóides na tentativa de controlar as populações de *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae), chegando a atingir resultados de 81% de eficiência. No entanto, foi nas três últimas décadas que se notou um grande interesse pelo estudo desse grupo de agentes entomopatogênicos (LEITE, 2006).

Grewal et al. (2001) destacam que nematóides entomopatogênicos não apresentam grandes dificuldades na produção em larga escala e aplicação, além de apresentarem uma ampla gama de hospedeiros, sendo usados na América do Norte, Europa, Ásia e Austrália especialmente para controle de pragas de solo e ambientes críticos.

A cada ano é possível observar o avanço das pesquisas e possibilidades de uso dos nematóides entomopatogênicos. Especialmente nos Estados Unidos, houve um expressivo aumento na demanda por nematóides entomopatogênicos na década de 1980, levando muitos grupos de pesquisadores no mundo inteiro com o

objetivo de isolar novas espécies e linhagens (DOLINSKI e MOINO Jr., 2006). Segundo Dolinski e Lacey (2007), várias espécies de NEPs são produzidas comercialmente e disponíveis para aplicação em larga escala. Em certos cultivos como é o caso dos citrus na Flórida, os NEPs são utilizados a muitos anos, especialmente para o controle de Curculionídeos, sendo possível afirmar, neste caso, a existência de uma relação de custo/benefício positiva da inserção destes agentes no Manejo Integrado de Pragas.

Na América do Sul, o desenvolvimento de pesquisas na área é mais recente. No Brasil, o primeiro registro de NEPs foi realizado em 1937 por Pereira, ao identificar a espécie *Heterorhabditis hambletoni* parasitando a broca-do-algodoeiro *Eutinobothrus brasiliensis* (Hambleton, 1937) (Coleoptera: Curculionidae). Aproximadamente após 50 anos, constatou-se o gênero *Steinernema* parasitando a broca do rizoma da cana-de-açúcar *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Coleoptera: Cerambycidae) em área de cultivo de cana-de-açúcar. A partir de então, começaram a ser realizados em algumas regiões do país, levantamentos de NEPs nativos, bem como, pesquisas com NEPs importados (GREWAL et al., 2001; LEITE, 2006). Os mesmos autores destacam testes de NEPs para o controle de alguns insetos pragas, dentre eles a broca-da-bananeira *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae), broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), mosca dos fungos *Bradysia* sp. (Díptera: Sciaridae), gorgulho da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae) e a traça *Opogona saccharis* (Bojer, 1856) (Lepidoptera: Tineidae).

Grewal et al. (2001) também incentivam ainda a realização de estudos e implementação de programas para o uso de NEPs, visando especialmente aumentar a segurança e eficiência dos métodos de controle de pragas de frutas e hortaliças no Brasil.

2.3.2. Nematóides entomopatogênicos no controle de *Cosmopolites sordidus*

Há uma grande variedade de estudos envolvendo testes de nematóides entomopatogênicos para o controle de coleópteros curculionídeos de diversas culturas, dos quais, muitos vêm revelando resultados promissores, como por exemplo, nos testes realizados em *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) por Abbas et

al. (2001), em *Listronotus oregonensis* (Le Conte) por Miklasiewicz et al. (2002), em *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) por Shapiro-Ilan et al. (2002) e em *Sphenophorus levis* (Vaurie) por Tavares et al. (2007). Em alguns casos mais avançados, já existe o estabelecimento de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP), envolvendo o uso de NEPs, como é o caso de pragas dos citrus na Flórida (EUA), citados por Dolinski e Lacey (2007).

Cosmopolites sordidus também apresenta susceptibilidade a certos isolados de nematóides entomopatogênicos. Treverrow e Bedding (1993) relatam a avaliação de 32 isolados de espécies pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas e adultos, onde foi observado que os adultos são mais resistentes ao NEPs, mas que há também isolados altamente infectivos a eles. Dos isolados por eles testados, *S. carpocapsae* BW foi o que apresentou maior infectividade sobre os adultos.

Avaliações de patogenicidade realizadas por Rosales e Suárez (1998) constataram mortalidade variando entre 16 e 80% em adultos de *C. sordidus*, onde também isolados nativos da Venezuela revelaram-se como potenciais agentes de controle da broca-da-bananeira, todos pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*.

Recentemente, Sepúlveda-Cano et al. (2008) testaram as espécies *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae* em diferentes concentrações sobre larvas e adultos da broca. Constataram que ambos os estágios de vida são suscetíveis aos NEPs, porém, as larvas apresentam maior susceptibilidade. Também foi possível observar que adultos e larvas responderam diferencialmente ao aumento das concentrações, no entanto, nos dois casos, maior mortalidade foi causada por *H. bacteriophora* na concentração de 100JIs/inseto.

Experimentos realizados em laboratório em Porto Rico por Figueroa et al. (1990) *apud* Dolinski e Lacey (2007), resultaram em 100% de mortalidade das larvas expostas aos nematóides *S. glaseri* e *S. feltiae* em concentrações de 4.000 e 40.000 JIs/planta de 4 meses de idade, além de ter sido observada significativa redução de galerias feitas pelas larvas, também na concentração de 400 JIs/planta.

Aplicações em campo também foram testadas. Treverrow et al. (1991) realizaram avaliações em larga escala no campo, durante 6 meses, testando dois isolados sabidamente patogênicos ao *C. sordidus* (*S. carpocapsae* All e *S. carpocapsae* NC513) e os comparou com o inseticida Protiofós. Em relação aos NEPs, o método baseou-se em aplicar mensalmente em cortes inclinados nos

pseudocaulis à 50 cm do nível do chão, suspensões de 40 mL de água com 0,1, 0,5 e $1,0 \times 10^6$ JIs. O inseticida foi pulverizado na base das plantas, num volume de 500 mL e concentração 0,5%. Os resultados obtidos foram muito promissores para os nematóides entomopatogênicos. Constatou-se não apenas larvas infectadas e mortas nos pseudocaulis, mas também adultos, com taxas de mortalidade variando entre 0 e 79%, sendo que *S. carpocapsae* NC513 foi o que apresentou os melhores resultados. Algumas aplicações de NEPs tiveram resultados significativamente superior ao produto químico e em outras não houve diferenças estatísticas.

Estes mesmos autores relataram que a atratividade exercida pelos cortes nos pseudocaulis aos adultos da broca, é o ponto mais importante a ser considerado, pois, como os adultos podem viver até dois anos, caso eles sobrevivam a um contato com os NEPs, ainda possuem grandes chances de voltar a ser atraídos por iscas com JIs e sucumbir em contatos subsequentes. Além disso, a aplicação no pseudocaulis é ideal porque os NEPs ficam protegidos da radiação Ultravioleta e dos fungos nematófagos que ocorrem no solo. Tais afirmações são reforçadas pelo fato de terem sido encontrados nematóides de *S. carpocapsae* vivos 50 dias após a aplicação, assim, mesmo que a atratividade dos voláteis do pseudocaulis aos adultos já tenha sido quase cessada, eventuais larvas que venham a eclodir ainda podem ser infectadas.

De acordo com Treverrow e Bedding (1993), o isolado *S. carpocapsae* BW também foi testado no campo através de uma aplicação que consistia em retirar um pedaço em forma de cone (50 mm de diâmetro na base e 150 mm de comprimento) do pseudocaulis da bananeira, e no orifício resultante aplicar $2,5 \times 10^5$ JIs em uma formulação especial contendo adjuvantes, seguindo-se a reposição no orifício, do cone antes retirado. Este sistema também foi efetivo. Além das vantagens de aplicação no pseudocaulis já apontadas por Treverrow et al. (1991), estes autores acrescentam ainda o fato de os NEPs não ficarem expostos aos efeitos deletérios de altas temperaturas que podem ser atingidas no ambiente, e que não foi detectado efeito negativo dos fluídos das bananeiras em relação à sobrevivência dos NEPs.

Segundo constatações preliminares feitas por Treverrow et al. (1991), ao contrário das aplicações de NEPs feitas diretamente em cortes ou orifícios nos pseudocaulis das plantas, que possibilitam o acesso dos JIs às galerias, as aplicações feitas no solo, em região adjacente ao rizoma das bananeiras não apresentam sucesso. Avaliações comparativas realizadas por Schmitt et al. (1992)

corroboram com estas observações, pois, resultaram em uma efetividade significativamente inferior a aplicações feitas em iscas de pseudocaule, embora também tenham causado níveis de mortalidade consideráveis.

Baseando-se nos resultados obtidos para os isolados *S. carpocapsae* All e *S. carpocapsae* NC513, Treverrow et al. (1991), julgam necessário dosagens de $5,0 \times 10^5$ JIs/planta ao mês para controlar a população de *C. sordidus*, o equivalente a $3,0 \times 10^8$ JIs/ha ao ano. Número considerado viável pelos autores. Smith (1994), baseado em experimentos feitos com vários insetos, indica uma quantidade de $7,5 \times 10^9$ de JI/ha para o controle de curculionídeos. No Brasil, Schimitt et al. (1992) realizaram um experimento em Miracatu, SP, aplicando *S. carpocapsae* em concentrações de $5,0 \times 10^6$ JI/m² em 0,4L de água com auxílio de um pulverizador sobre iscas de pseudocaule do tipo Telha, sendo observado 51,2% de mortalidade de adultos da broca em 7 dias de avaliação e em torno de 40% após 14 e 21 dias.

Sabe-se que a susceptibilidade aos NEPs varia de acordo com o estágio de vida de *C. sordidus*. Segundo Treverrow e Bedding (1993), os adultos são mais resistentes aos NEPs devido ao seu exoesqueleto mais rígido e bem articulado deixando os espiráculos menos expostos que no caso das larvas, além de dificultar e até impossibilitar a entrada de JIs pela boca, devido ao seu longo rostro. Tais afirmações foram reforçadas por Sepúlveda-Cano et al. (2008).

No entanto, a menor susceptibilidade dos adultos é insuficiente para não considerá-los importantes alvos no controle da praga. Pois, eles apresentam a vantagem de se movimentar e podem ser atraídos por iscas fora da bananeira, enquanto que para fazer aplicações visando o ataque às larvas, seria necessário fazer perfurações ou cortes nos pseudocaulos de bananeiras sem saber se elas realmente estão infestadas (TREVERROW e BEDDING, 1993).

Do ponto de vista econômico, é particularmente importante selecionar os isolados mais eficientes em menores concentrações, já que parte-se da idéia de uma provável aplicação de suspensão aquosa em iscas de pseudocaule para o controle de *C. sordidus*, para qual existe a necessidade de utilizar um grande número de nematóides na tentativa de cobrir toda a superfície da isca (TREVERROW e BEDDING, 1993).

2.3.3. Aspectos biológicos

Dentre as associações existentes entre insetos e nematóides, o parasitismo facultativo é a relação que os insetos possuem com as espécies pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, os quais apresentam associações mutualísticas com bactérias *Xenorhabdus* sp. e *Photorhabdus* sp., respectivamente (FERRAZ, 1998).

A forma infectiva dos nematóides encontra-se no 3^o estágio da fase juvenil, período em que estes entram no corpo do inseto através de aberturas naturais como os espiráculos ou até mesmo através da cutícula, quando se trata do gênero *Heterorhabditis*. Ao alcançar a cavidade do corpo, as células bacterianas são liberadas na hemocele do inseto hospedeiro, onde se multiplicam e num período de aproximadamente 24 a 48 h matam o inseto por septicemia. Os nematóides continuam se desenvolvendo até se reproduzirem por 2 a 3 gerações, a partir daí emergem dos cadáveres como novas formas de juvenis infectantes e migram no solo em busca de um novo hospedeiro (KAYA et al., 1993; AGUILLERA, 2001; GREWAL et al., 2001; LEITE, 2006).

2.3.4. Forrageamento

Um fator que deve ser seriamente considerado na utilização de nematóides entomopatogênicos é o seu comportamento de busca pelo hospedeiro. As estratégias de forrageamento são classificadas primariamente em duas categorias: “ambusher” e “cruiser”. No primeiro, o nematóide permanece a maior parte do tempo fixo em um substrato qualquer, com sua porção anterior elevada, esperando que o hospedeiro passe pelo local. No segundo, o nematóide fica a maior parte do tempo se deslocando através do filme d’água do substrato, procurando pelo hospedeiro (LEWIS, 2002; CAMPBELL et al., 2003; LEWIS et al., 2006).

Os nematóides do tipo “cruiser” apresentam respostas mais efetivas à pistas que indicam a proximidade do hospedeiro, como por exemplo, compostos metabólicos voláteis, fezes e cutícula, fato que altera seus movimentos e intensifica sua busca, resultando em maior sucesso na infecção de insetos sedentários ou que vivem em ambientes crípticos. Já os nematóides do tipo “ambusher”, embora sabidamente reajam à emissão de CO₂ do corpo do hospedeiro, não apresentam

alterações de comportamento tão visíveis, permanecendo como estavam, facilitando a infecção em insetos que apresentam maior movimentação (LEWIS et al., 2006).

Contudo, é importante ressaltar a existência de espécies de NEPs que não se encaixam totalmente em um padrão ou outro, apresentando características intermediárias, como é o caso do *Steinernema riobrave* (LEWIS et al., 2006).

Além das respostas à pistas químicas ou físicas provenientes diretamente do hospedeiro, é possível a existência de processos co-evolutivos em que as plantas submetidas à injúrias dos herbívoros liberem compostos que exerçam atratividade sobre os inimigos naturais destes (ELLIOT, 2000). Avaliações realizadas por Rasmann et al. (2005), demonstraram que quando larvas de *Diabrotica virgifera virgifera* se alimentam das raízes de variedades selvagens de um determinado milho presente na Europa, ocorre a liberação de um composto volátil, que exerce efeito atrativo para a espécie de nematóide testada, *H. megidis*. Verificou-se em larvas atacando este tipo de milho, uma infestação de NEPs cinco vezes maior do que em variedades norteamericanas, que pelos processos reprodutivos, perderam a capacidade produzir esse composto.

2.3.5. Produção de nematóides entomopatogênicos

Atualmente, já existem produtos inseticidas à base de NEPs que competem com produtos químicos no controle de pragas em culturas de médio e alto valor comercial. Para expandir o uso dos nematóides em sistemas agrícolas de forma sustentável são necessários avanços científicos e tecnológicos no sentido de subsidiar a produção em larga escala com custos não limitantes (BARBOSA, 2005). Nematóides entomopatogênicos podem ser produzidos por métodos *in vivo* ou *in vitro*.

A produção *in vitro* apresenta custos menores e a possibilidade de ter um produto padrão, estável e viável, facilitando, portanto, a produção em larga escala (NEVES et al., 1998). A produção *in vivo*, por outro lado, é apropriada para a produção em laboratório e realização de experimentos (GAUGLER et al., 2002). Mas é importante ressaltar que a produção comercial pelo método *in vivo* em pequena escala também é possível, precisando de avanços tecnológicos na área (SHAPIRO-ILAN et al., 2002).

A quantidade de nematóides produzidos *in vivo* varia de acordo com o hospedeiro e a espécie/isolado do nematóide. O inseto mais utilizado para produção *in vivo* em laboratório é a traça-dos-favos, *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera, Pyralidae), devido à sua alta susceptibilidade à maioria dos nematóides, fácil criação e, conseqüente, disponibilidade comercial (GREWAL et al., 2001; GAUGLER e HAN, 2002). Avaliações comparativas para o rendimento na produção de JIs com outras espécies de larvas feitas por Shapiro-Ilan et al. (2002), Molina et al. (2004) e Costa et al. (2007) corroboram tais afirmações.

2.3.6. Compatibilidade de nematóides entomopatogênicos com produtos fitossanitários

Os nematóides entomopatogênicos apresentam tolerância quando expostos a determinados produtos fitossanitários, inclusive inseticidas (ROVESTI et al., 1988; GORDON et al., 1996; KOPPENHÖFER e KAYA, 1998; KOPPENHÖFER et al., 2002). Essa característica é de fundamental importância para integrar os NEPs em programas de manejo de pragas, podendo possibilitar assim a diminuição da quantidade de inseticida usado no cultivo. Desta maneira, o estudo da compatibilidade de NEPs com produtos fitossanitários é um aspecto que deve ser abordado, procurando otimizar o controle da praga através de interações positivas entre eles, ou simplesmente, visando a conservação desses agentes de controle biológico em ambientes onde já ocorram (ALVES et al., 1998).

Os efeitos de produtos fitossanitários sobre os NEPs podem ser diretos ou indiretos. Segundo Negrisoli Jr. et al. (2008), os efeitos diretos estão relacionados com a viabilidade e comportamento dos JIs, enquanto que os efeitos indiretos são referentes à influências sobre a capacidade infectiva dos JIs. Koppenhöfer et al. (2000), destacam ainda que o produto químico pode causar efeito estressante sobre o inseto, facilitando assim, a infecção pelos NEPs. Estes autores observaram que ao expor larvas de Scarabeídeos à suspensões contendo o inseticida Imidalcloprid e NEPs, houve uma drástica redução na atividade das larvas, facilitando a entrada dos JIs de *S. glaseri* e *H. bacteriophora*.

Nos ensaios laboratoriais é comum os JIs serem expostos aos produtos fitossanitários em soluções aquosas e serem inoculados em *Galleria mellonella* para

avaliação de infectividade. A partir de um teste comparativo entre quatro metodologias propostas por diferentes autores para realização de testes de compatibilidade de produtos fitossanitários com NEPs, Negrisoli Jr. (2005) sugeriu a adoção do Protocolo de Vainio (1992) como padrão, por sua simplicidade de realização e avaliação, baixo custo e baixa diferença da viabilidade e infectividade na interação tempo *versus* concentração do produto. Ressalta-se que originalmente o método preconiza que valores de mortalidade de nematóides ou redução de infectividade maiores que 50% caracterizam o produto testado como incompatível com os NEPs testados (NEGRISOLI Jr. et al., 2008).

Tanto interações positivas quanto negativas podem ser observadas entre nematóides entomopatogênicos e produtos fitossanitários. Rovesti et al. (1988) testaram o efeito de diversos produtos fitossanitários sobre *H. bacteriophora*, sendo 18 inseticidas, dentre eles carbofurano e terbufós se apresentaram tóxicos em concentrações iguais ou inferiores àquelas recomendadas para aplicações. Gordon et al. (1996) avaliaram os efeitos de dois inseticidas carbamatos com diferentes modos de ação sobre JIs de duas espécies de NEPs. Observaram que a viabilidade de *S. feltiae* é bem mais sensível à Carbofurano que *S. carpocapsae*, embora a infectividade de ambos não tenha sido afetada.

Em alguns casos, além do nematóide não ser prejudicado pela presença de um produto fitossanitário químico, pode ocorrer um aumento na eficiência de controle do inseto praga, resultante de um possível sinergismo entre os dois agentes. Estudos mostram vários casos de interação sinérgica entre o inseticida neonicotinóide imidacloprid e NEPs, por exemplo, com os nematóides *H. bacteriophora* e *S. glaseri* no controle de larvas de *Popillia japonica* e com os nematóides *H. bacteriophora*, *H. megidis*, *H. marelatus*, *S. glaseri* e *S. feltiae* para o controle de *Exomala orientalis* (KOPPENHÖFER et al., 2002). Koppenhöfer e Kaya (1998) já haviam constatado sinergismo deste produto com *H. bacteriophora* para controle de larvas de outros escarabeídeos.

Outro inseticida neonicotinóide, thiamethoxam, resultou em sinergismo quando misturado com *H. bacteriophora* e *S. glaseri* testados em larvas de escarabeídeos (KOPPENHÖFER et al., 2002). Tavares (2006) não observou aumento na mortalidade de larvas de *Sphenophorus levis* pela associação deste inseticida com *Steinernema sp.* e *H. indica*, mesmo não havendo interferência na

viabilidade dos JIs. Porém, o autor detectou efeito sinérgico na mortalidade de adultos quando JIs de *H. indica* foram expostos ao inseticida fripronil.

Especificamente em relação ao controle de *C. sordidus*, Kermarrec e Mauléon (1989), testaram em laboratório a infectividade de *S. carpocapsae* aplicado simultaneamente com um inseticida clorado sobre adultos da broca, onde verificaram que aplicação associada dos dois agentes foi mais eficaz do que ambos aplicados separadamente, principalmente os nematóides.

O Carbofurano, pertencente ao grupo dos N-metilcarbamatos, inibidor reversível da colinesterase e sem efeitos cumulativos (AGROFIT, 2009), é um dos inseticidas registrados para o controle de *C. sordidus* (item 2.1.5), o qual apresenta compatibilidade com determinados nematóides entomopatogênicos. Uma lista disponível na Internet, sob responsabilidade de Dunn e Smart (1996), exibe produtos fitossanitários compatíveis com os NEPs *S. carpocapsae* e *S. riobravis*, dentre eles se encontra o inseticida carbofurano (DUNN e SMART, 1996).

Compatibilidade com carbofurano também foi detectada por Andaló et al. (2004), ao testar o produto juntamente com os NEPs *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae*, *S. arenarium* e *S. glaseri*. Gordon et al. (1996) testando a associação de carbofurano com *S. carpocapsae* e *S. feltiae*, e, Negrisoli Jr. et al. (2008) testando com *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*, verificaram que carbofurano afeta a sobrevivência dos nematóides em maior ou menor grau dependendo da espécie, mas não prejudica a infectividade daqueles que permanecem vivos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS INSETOS

Adultos de *C. sordidus* foram coletados através de armadilhas de pseudocaule tipo “telha” instaladas aleatoriamente em um bananal de 12 ha, o qual está localizado no município de São Miguel do Iguaçu, formado por bananeiras do cultivar Nanicão. Nesta plantação o controle da broca-da-bananeira é realizado através de método químico com aplicação de Carbofurano.

Os indivíduos capturados foram armazenados em recipientes plásticos cobertos com tecido de voil contendo areia e pedaços de pseudocaule de bananeira, onde permaneceram até sua utilização em experimentos, por período que em alguns casos se estendeu por aproximadamente 60 dias. Destacando que nos casos de permanências superiores a 7 dias, semanalmente houve troca da areia e pseudocaule por areia limpa e pseudocaule fresco.

3.2 CRIAÇÃO DE *Galleria mellonella*

A multiplicação dos nematóides se deu *in vivo*, e para tal, foram utilizadas como hospedeiro, lagartas de *G. mellonella*. Assim sendo, se fez necessário estabelecer uma criação do inseto, a qual foi conduzida de acordo com a metodologia modificada de Guerra (1973) e adaptada por Parra (1998). Os insetos adultos foram mantidos em frascos de vidro com tampa vazada, contendo em seu interior folhas de papel liso com dobras sanfonadas para oviposição. Os locais com posturas foram recortados e transferidos para recipientes plásticos forrados com folhas de papel e providos de dieta artificial modificada de Parra (1998), baseada em farinha de milho 192,6 g, farelo de soja 80,2 g, leite desnatado 48,2 g, levedo de cerveja 94,0 g, glicerina 208,0 g, mel 236 mL e água destilada 20mL para alimentação das larvas desde a eclosão até o último ínstar. Ao atingirem os estágios de pupa ou adulto, os insetos foram transferidos para os frascos de vidro, dando continuidade ao ciclo.

A criação de *G. mellonella* foi conduzida em sala climatizada (26 ± 2 °C). A manutenção da criação, constituída de coleta das posturas, limpeza dos recipientes e reposição de dieta para as larvas foi realizada em dias alternados.

3.3 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DOS NEMATÓIDES

Os nematóides foram fornecidos pelos bancos de entomopatógenos do Instituto Biológico em Campinas, SP e do Laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras, sendo utilizados 16 isolados pertencentes aos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* (TABELA 1).

TABELA 1 - Isolados de nematóides Steinernematidae e Heterorhabditidae utilizados nos bioensaios, e, respectivo local de origem.

<i>Espécie</i>	<i>Isolado</i>	Origem
<i>Steinernema carpocapsae</i>	CB 02	Flórida, EUA
<i>Heterorhabditis indica</i>	CB 05	Itapetininga, SP, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	CB 10	Santa Fé do Sul, SP, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	CB 13	Pindorama, SP, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	CB 24	Piracicaba, SP, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	CB 33	Naviraí, MS, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	CB 40	---
<i>Heterorhabditis</i> sp.	CB 44	Santa Adélia, SP, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	JPM 3	Lavras, MG, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	JPM 4	Lavras, MG, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	RSC 01	Benjamin Constant, AM, Brasil
<i>H. amazonensis</i>	RSC 05	Benjamin Constant, AM, Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp.	PI	Teresina, PI, Brasil
<i>H. bacteriophora</i>	BAC	New Jersey, EUA
<i>S. nomali</i>	SA	Voronezh, Rússia
<i>S. carpocapsae</i>	SC	Carolina do Norte, USA

Os JIs foram armazenados em potes plásticos com tampa perfurada em suspensões aquosas, mantidos em sala climatizada a 25 ± 3 °C. Quando necessário sua multiplicação, foi utilizado o método *in vivo*, utilizando larvas de 5^o ínstar de *G.*

mellonella provenientes da criação estabelecida no Laboratório de Zoologia de Invertebrados da Unioeste.

O procedimento baseou-se no método desenvolvido por Poinar (1979) e modificado por Woodring e Kaya (1988), o qual consistiu em inocular 2 mL de suspensão com aproximadamente 200 JIs em 10 lagartas dispostas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com duas folhas de papel filtro. As placas foram mantidas em câmara climatizada ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 14 horas de fotofase), e após 48 horas, os indivíduos mortos foram transferidos para novas placas forradas com uma folha de papel filtro, na qual permaneceram por 5 dias para desenvolvimento dos nematóides, nas mesmas condições que as citadas anteriormente.

Em seguida, as lagartas que apresentaram sintomas característicos da infecção por NEPs foram transferidas para armadilha White modificada (DUTKY, 1964), a qual consiste de uma placa de Petri contendo um disco de acrílico no centro da placa, sobre o qual é colocada uma folha de papel filtro, onde as lagartas são dispostas de forma concêntrica e adicionados cerca de 3 mL de água destilada.

Assim que os nematóides começaram a emergir dos cadáveres das larvas (1 a 3 dias), a suspensão presente na armadilha White foi vertida em uma proveta de 1 L, contendo previamente aproximadamente 800 mL de água destilada. Em seguida, com um pissete, aplicou-se aproximadamente 200 mL de água destilada na placa para retirada dos nematóides. Esta suspensão foi mantida na proveta por um período de 24 horas em sala climatizada ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$) para decantação dos JIs. O sobrenadante foi descartado e a suspensão resultante foi transferida para béckeres de 500 mL e mantida com aeração na mesma sala, até a instalação dos experimentos, que ocorreu no máximo sete dias após a emergência dos JIs.

3.4 SELEÇÃO DE ISOLADOS

O estudo foi dividido em duas etapas. Na primeira verificou-se a atividade inseticida sobre adultos da broca, e, na segunda, avaliou-se o potencial de produção *in vivo*.

3.4.1. Atividade inseticida

Os experimentos foram realizados em recipientes plásticos transparentes e incolores com 8,5 cm de diâmetro, onde foram colocadas 100g de areia estéril e adicionados 10 mL de água destilada, conferindo 10% de umidade ao substrato. Em cada recipiente com o substrato preparado foram colocados 5 indivíduos adultos de *C. sordidus* (FIGURA 1).

Em seguida, com auxílio de uma pipeta, a suspensão de água destilada com 100 JIs/cm² em um volume mínimo de 1 mL e máximo de 5 mL foi aplicada nos pedaços de pseudocaule de bananeira previamente cortados (FIGURA 2), sobre a face que posteriormente foi colocada dentro do recipiente voltada para baixo, em contato com a areia e os insetos (FIGURA 3). Na testemunha foi aplicado somente 1 mL de água destilada. Desta forma, todas as repetições de ambos os tratamentos sempre tiveram umidade variando entre 11 e 15%.



FIGURA 1 – Potes com areia umedecida e adultos de *C. sordidus*.



FIGURA 2 – Aplicação da suspensão de NEPs sobre pedaço de pseudocaule de bananeira.

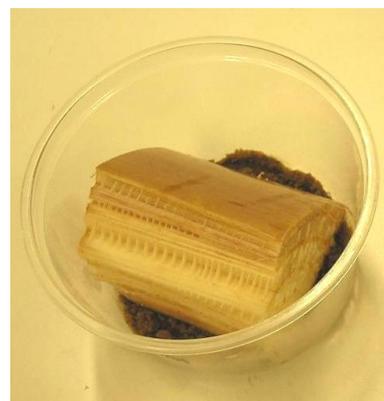


FIGURA 3 – Disposição do pseudocaule de bananeira com a face tratada com nematóides voltada para o substrato.

Após tal procedimento, os recipientes foram fechados com tampas perfuradas e transferidos à câmara incubadora regulada para $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e 14 horas de fotofase, onde foram mantidos por 7 dias (FIGURA 4). Os indivíduos mortos foram contabilizados e transferidos para câmara seca por um período de 24 horas, seguidos de dissecação para confirmação da mortalidade causada por nematóides.



FIGURA 4 – Recipientes fechados com tampas perfuradas mantidos em câmara incubadora.

Os bioensaios foram realizados em delineamento inteiramente causalizado, com 6 repetições, cada uma constituída de um grupo de 5 indivíduos adultos de *C. sordidus* reunidos em recipientes plásticos.

Os dados percentuais de mortalidade confirmada foram submetidos à Análise Estatística Descritiva para obtenção do EP (Erro Padrão), com auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

Os nematóides que se apresentaram mais eficientes na atividade inseticida foram submetidos à próxima etapa da seleção de isolados, a determinação da produção total de NEPs *in vivo*.

3.4.2. Produção de nematóides *in vivo*

Os procedimentos adotados para inoculação, incubação e coleta foram aqueles descritos no item 3.3. Passados sete dias, para cada isolado testado, foram selecionadas 45 lagartas que apresentaram sintomas característicos da infecção por NEPs, as quais foram divididas em grupos de 5 indivíduos, constituindo 9 repetições. Cada repetição foi pesada e colocada em uma armadilha de White. As armadilhas foram mantidas em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e 14 horas de fotofase), e submetidas à coleta dos JIs por um período de 10 dias.

As coletas foram realizadas diariamente, sendo a quantificação dos JIs emergidos sempre realizada no dia posterior ao da coleta. Para tal quantificação, foram coletadas da suspensão original 5 alíquotas de 20 µL e colocadas em placas de poliestireno para testes sorológicos do tipo Elisa, onde os JIs foram contados e o valor extrapolado para o volume total e variável da suspensão homogênea. Ao finalizar as coletas, o número total de nematóides contabilizados foi utilizado para calcular a produção de JIs por peso (g) de lagarta.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os valores de produção de JIs g⁻¹ de lagarta foram submetidos à Análise de Variância (teste F) e ao teste de médias Skott-Knott através do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

3.5 COMPATIBILIDADE COM INSETICIDA

Neste experimento, foi avaliado o efeito de um inseticida químico à base de Carbofurano (metilcarbamato de benzofuranila), registrado e utilizado na cultura para o controle da broca (AGROFIT, 2009), utilizando metodologia desenvolvida por Vainio (1992) e adaptada por Negrisoni Jr. (2005). De acordo com a metodologia citada, o produto foi preparado com o dobro da concentração de ingrediente ativo recomendada pelo fabricante, que é de 4mL do produto em 1L de água. Assim, 2mL do produto foram adicionados à 250mL de água destilada e misturados por agitação.

Amostras de 1mL da solução foram transferidas para tubos de vidro, e, em seguida, acrescentou-se 1mL de suspensão de nematóides em água destilada com aproximadamente 2000 JIs, restabelecendo desta maneira, a concentração indicada do produto. A testemunha foi constituída de uma suspensão com a mesma quantidade de JIs em 2 mL de água destilada. Tanto para o tratamento com inseticida, como para testemunha foram preparados 5 tubos, sendo cada um considerado uma repetição. Os tubos foram mantidos em câmara de incubação regulada para 25 ± 1°C e 14 horas de fotofase.

Após 48 hs de exposição ao inseticida, foi realizada a observação de viabilidade e realização dos procedimentos para avaliação de infectividade.

A viabilidade dos nematóides foi determinada retirando-se uma amostra de 0,1 mL após agitação da suspensão de cada tubo em alíquotas de 20 µL e

observação de 100 JIs em placa de testes sorológicos. Para facilitar a diferenciação entre vivos e mortos, foram adicionados 20 μ L de solução de NaOH 1M em cada amostra, possibilitando maior atividade dos nematóides vivos, conforme sugestão de Moino Jr. (comunicação pessoal).

Para avaliação da infectividade, os mesmos tubos de onde foram retiradas as amostras para observação da viabilidade, foram completados com água destilada até 3 mL, levados à geladeira por meia hora (tempo suficiente para decantação dos JIs), seguidos de descarte do sobrenadante. Este mesmo procedimento foi repetido por três vezes. Após a lavagem dos nematóides, alíquotas de 0,2 mL da suspensão com aproximadamente 200 JIs foram retiradas de cada tubo e transferidas para cinco placas de Petri (9 cm de diâmetro), contendo papel filtro e 10 larvas de último instar de *G. mellonella*, as quais foram mantidas em câmara incubadora nas mesmas condições que a fase anterior deste mesmo item por cinco dias. As lagartas mortas foram transferidas para câmara seca onde permaneceram por mais três dias, sendo então submetidas à dissecação para observação da presença de nematóides e confirmação da causa da morte.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os valores percentuais de mortalidade das lagartas e nematóides foram submetidos à Análise de Variância (teste F), ao teste de médias Skott-Knott e ao teste t de Student através do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SELEÇÃO DE ISOLADOS

4.1.1 Atividade Inseticida

Os adultos de *C. sordidus* foram suscetíveis a quase todos os isolados testados e houve grande variação nas taxas de mortalidade (TABELA 2).

TABELA 2 – Porcentagem média de mortalidade de adultos de *C. sordidus* por nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae.

Isolado	Mortalidade \pm EP (%)
Steinernematidae	
SC	0,0 \pm 0,00
CB02	3,3 \pm 3,33
SA	10,0 \pm 4,47
Heterorhabditidae	
CB05	3,3 \pm 3,33
JPM3	6,7 \pm 4,22
CB44	10,0 \pm 4,47
BAC	13,3 \pm 8,43
CB10	16,7 \pm 6,15
RSC05	16,7 \pm 8,03
CB13	20,0 \pm 5,16
RSC01	20,0 \pm 10,33
CB33	23,3 \pm 9,55
JPM4	23,3 \pm 6,15
PI	26,7 \pm 6,67
CB24	33,3 \pm 6,67
CB40	36,7 \pm 12,02
Testemunha	0,0 \pm 0,00

Apesar do tegumento rígido e escuro, era de se esperar que nos insetos mortos houvesse distensão do exoesqueleto na região intersegmentar, o que seria um sintoma típico, contudo isso não foi verificado na maioria dos insetos. Assim, a confirmação da causa da mortalidade realmente só foi possível através da dissecação, sendo observada a presença de adultos e/ou JIs de NEPs em 100% dos cadáveres.

Foi observado que apenas dois isolados causaram mortalidade acima de 30%, sendo CB40 (36,7%) e CB24 (33,3%). Os isolados CB33, PI e JPM4 provocaram mortalidade maior que 20%, e, os demais atingiram valores menores, sendo que SC (*S. carpocapsae*) não ocasionou a morte de nenhum inseto.

A maior ação inseticida observada para os nematóides do gênero *Heterorhabditis*, corrobora Parninski et al. (1990) *apud* Treverrow e Bedding (1993) e Sepúlveda-Cano et al. (2008), que obtiveram resultados similares testando *S. carpocapsae* e outros isolados de *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. em adultos de *C. sordidus*. No caso específico do presente estudo, acredita-se que a menor permanência de maneira estática no ambiente, geralmente encontrada no gênero *Heterorhabditis*, em relação a muitos NEPs do gênero *Steinernema*, conforme ressaltou Lewis (2002) e Lewis et al. (2006), seja um fator importante para o resultado, tendo em vista o hábito broqueador do inseto e o método utilizado para aplicação dos nematóides.

Assim que os bioensaios foram preparados, pôde-se observar a movimentação lenta e aleatória de alguns insetos pela área interna dos recipientes. Enquanto alguns se mantinham entre a areia e o pseudocaule, e nesta face onde a suspensão de JIs havia sido aplicada, iniciavam a formação de suas galerias, outros, subiam no pedaço de pseudocaule, iniciavam a perfuração e adentravam em várias regiões do pseudocaule, inclusive do lado oposto ao da aplicação. Desta maneira, o acesso dos JIs aos insetos que não permaneceram diretamente em contato com a suspensão aplicada, pode ter sido dificultado, especialmente aqueles que tenham hábito mais sedentário.

Por outro lado, os nematóides que possuem um comportamento de locomoção em busca do hospedeiro, provavelmente tenham entrado no pseudocaule em direção ao inseto. O que reforça esta consideração é o fato de comumente serem encontrados insetos vivos no interior do pseudocaule em contraposição à maioria dos insetos mortos que estavam mais próximos à superfície

tratada, além de não ter havido mortalidade nos insetos submetidos ao SC (*S. carpocapsae*) e de apenas 3,3% ao CB02, da mesma espécie, a qual sabidamente apresenta hábito “ambusher”.

Com base nas observações de Rasmann et al. (2005), juntamente com as descrições feitas por Elliot et al. (2000) e Lewis et al. (2006), pode-se presumir que neste estudo, os isolados que provocaram as maiores taxas de mortalidade, ambos Heterorhabditidae, provavelmente tenham se deslocado em direção ao hospedeiro, possivelmente respondendo aos sinais químicos vindos dos insetos dentro das galerias, ou até mesmo a sinais provenientes do pseudocaulo injuriado pelo inseto.

Uma outra observação relevante no experimento foi o encharcamento do substrato de muitos recipientes em virtude da elevada umidade do pseudocaulo de bananeira. Isto pode ter diminuído a eficiência até dos JIs mais ativos na busca do hospedeiro, pois, o excesso de umidade prejudica a dispersão e infectividade dos NEPs (SHAPIRO e GLAZER, 1996; SHAPIRO-ILAN et al., 2003; SHAPIRO-ILLAN et al. 2006). Contudo, é importante ressaltar que este excesso de umidade no substrato ocorreu principalmente a partir do segundo e terceiro dias após a montagem do experimento, período em que supostamente, os JIs já teriam infectado seu hospedeiro.

Além disso, com base nas observações feitas por Treverrow et al. (1991), em aplicações de NEPs diretamente em cortes nos pseudocaulos no campo, acredita-se que os compostos específicos dos exsudados das bananeiras provavelmente não causam nenhum efeito deletério sobre os NEPs.

A metodologia de aplicação dos JIs através de suspensão aquosa diretamente sobre o pseudocaulo, procurando simular uma aplicação em campo, provavelmente tenha contribuído para que as porcentagens de mortalidade observadas não fossem tão altas como em outros experimentos nos quais mantiveram-se os insetos em contato direto com o papel filtro, local onde os NEPs foram aplicados. Assim, Rosales e Suárez (1998) observaram até 70% de mortalidade em adultos da broca submetidos a suspensões de isolados de nematóides do gênero *Heterorhabditis* e 80% para *S. carpocapsae*, ambos na concentração de 4000 JIs/inseto. Da mesma forma, Sepúlveda-Cano et al. (2008), testando a concentração de 100 JIs/inseto, verificaram até 58% de mortalidade ocasionada por *H. bacteriophora* e 40% por *S. carpocapsae*.

Em contrapartida, mesmo que as evidências observadas no experimento tendem a apontar para o hábito e dispersão dos nematóides como fatores determinantes na infectividade sobre os insetos, não é possível assumir definitivamente tal posição. De acordo com Dowds e Peters (1997), além do processo de entrada dos NEPs no inseto, há outros fatores envolvidos no processo de virulência, os quais são essenciais para a manifestação da especificidade do complexo inseto-nematóide-bactéria. Dentre os quais, os autores destacam a atuação das toxinas e enzimas produzidas pelas bactérias simbiotes, bem como os mecanismos de defesa do inseto, que podem atuar diretamente sobre os NEPs, ocasionando, por exemplo, o encapsulamento dos mesmos. Também podem agir sobre as bactérias simbiotes, causando a formação de nódulos para isolamento e neutralização destas ou ainda atuação de células fagocitárias presentes na hemolinfa dos insetos, além da capacidade dos nematóides e as bactérias resistirem ao sistema de defesa do inseto.

Lewis et al. (2006) também enfatizam que diversos fatores estão envolvidos em um complexo processo de especificidade, o que provoca a grande variabilidade na eficiência de diferentes espécies ou isolados sobre determinados hospedeiros.

Em relação à concentração de JIs utilizada no experimento, que foi de 100 JIs/cm², provavelmente não tenha sido um fator limitante para uma mortalidade mais expressiva, já que Rosales e Suárez (1998) detectaram maior mortalidade em concentrações de 4.000 que em 5.000 JIs/inseto. Em contrapartida, Sepúlveda-Cano et al. (2008) testaram suspensões de NEPs em concentrações de 10, 100 e 1000 JIs/inseto, e, verificaram que *H. bacteriophora* causou maior percentual de mortalidade à broca da bananeira na concentração intermediária, 100 JIs/inseto, de forma que o aumento na concentração de JIs não implica necessariamente no aumento da infectividade.

Manter os insetos por mais tempo expostos aos NEPs poderia aumentar a taxa de mortalidade, mas provavelmente não muito mais do que foi alcançado. Nesse sentido, trabalhos evidenciam que o período em que ocorre maior mortalidade de *C. sordidus* expostos à NEPs está entre 2 a 5 e 7 dias. Após este período, a curva de mortalidade mantém-se constante ou com pequenos incrementos (TREVERROW e BEDDING, 1993; ROSALES e SUÁREZ, 1998; SEPÚLVEDA-CANO et al., 2008).

Finalizando, segundo Alves et al. (2009) isolados de diferentes locais podem estar adaptados a diferentes condições climáticas ou mesmo ter desenvolvido especificidade a hospedeiros locais. Neste sentido, observou-se no presente estudo que todos os isolados que ocasionaram mortalidade acima de 15% ao *C. sordidus* são originários do Brasil, mesmo havendo isolados provenientes de regiões bem distintas da região onde os insetos foram coletados. Destaca-se ainda que a utilização de agentes de controle de pragas nativos é de suma relevância, pois, evitam problemas em decorrência da introdução de espécies exóticas, como os evidenciados por Dolinski e Moino Jr. (2006).

4.1.2 Produção de nematóides *in vivo*

Foram obtidos, respectivamente para os isolados CB24 e CB40 $2,2 \times 10^6$ e $2,3 \times 10^6$ JIs/g de lagarta, não havendo diferença estatística entre eles (TABELA 3).

TABELA 3 – Comparação entre a produção de JIs dos isolados CB24 e CB40, pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*.

Isolado	Peso total lagartas (g)	Média peso lagartas (g)	Nº total de JIs/lagarta	Média do Nº de JIs/g de lagarta *
CB24	10,15	0,23	$5,0 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$ a
CB40	10,30	0,23	$5,3 \times 10^5$	$2,3 \times 10^6$ a
CV (%)				26,38

* Médias seguidas por mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P < 0,05)

Os valores aqui obtidos foram superiores aos relatados por outros autores, como Barbosa (2005), que encontrou para *H. bacteriophora*, a produção de $4,9 \times 10^5$ JIs/g no método White. Também Costa et al. (2007) constataram em média cerca de $1,6 \times 10^5$ JIs/g para *H. riobravis* e $4,2 \times 10^5$ JIs/g para *S. carpocapsae* e Lindegren et al. (1993), que obtiveram para *S. carpocapsae* a produção média de $8,2 \times 10^5$ JIs/g. Da mesma forma, Molina et al. (2004), no método de aplicação tópica composta, obtiveram os números de $1,3 \times 10^5$ JIs/larva para *S. glaseri*, $1,5 \times 10^5$ JIs/larva para *S. arenarium* e $3,0 \times 10^5$ JIs/larva para *S. carpocapsae*.

Gaugler e Han (2002) consideram *G. mellonella* um hospedeiro que oferece elevada produção de JIs, acima de $1,0 \times 10^5$ JIs/larva. Mesmo assim, o valor obtido para os isolados CB24 e CB40 está acima desta média, o que constitui um fator muito positivo, pois, mesmo que os isolados não tenham causado altas porcentagens de mortalidade no teste de patogenicidade, a elevada produção favorece a possibilidade de realizar aplicação em campo, já que para tal, se faz necessário o uso de um número expressivo de JIs (TREVERROW e BEDDING, 1993).

Além do número de JIs produzidos, os isolados CB24 e CB40 também demonstraram comportamento semelhante em relação ao tempo de emergência dos JIs. Ambos apresentaram até o 2º dia um número pequeno de JIs emergentes, inclusive apresentando repetições com nenhuma emergência (FIGURA 5).

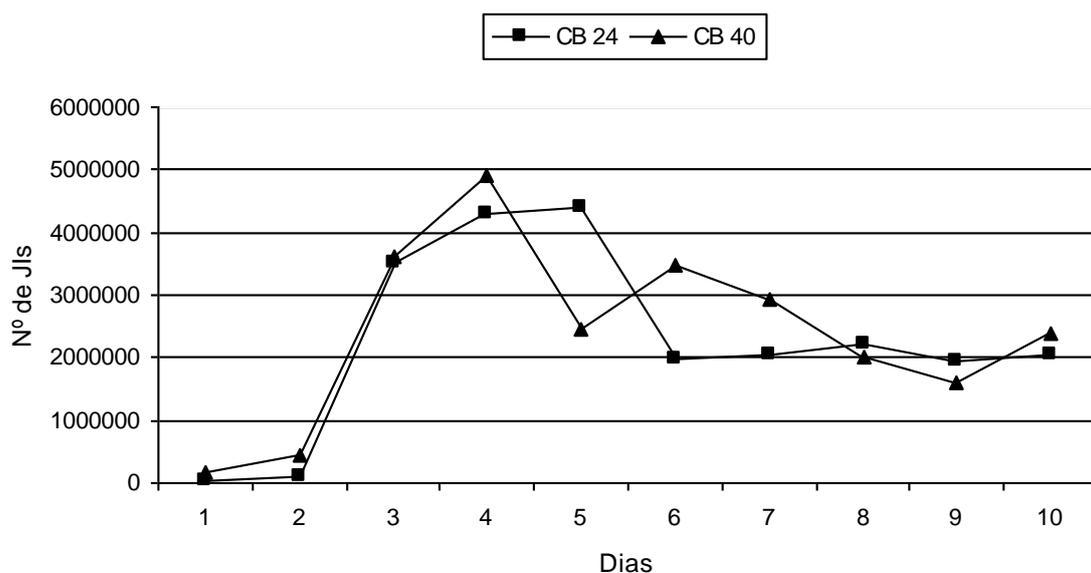


FIGURA 5 – Emergência de JIs dos isolados CB24 e CB40 por um período de 10 dias.

O pico de produção para o isolado CB40 foi no quarto dia, e, para o CB24 foi entre o quarto e o quinto dia, diferindo do encontrado por Molina et al. (2004), onde os maiores índices de produção de JIs de *S. carpocapsae* e *S. arenarium* foram nos primeiros três dias de emergência. Da mesma forma, Lindegren et al. (1993) também observaram altos níveis de produção de *S. carpocapsae* a partir do segundo dia. Entretanto, esta maior demora para o início da emergência podia ser

prevista, pois, segundo Kaya et al. (1993), a maioria dos nematóides pertencentes ao gênero *Heterorhabditis* tendem a possuir um ciclo mais longo que *Steirnernema*.

Ehlers (2001), em testes de produção massal in vitro de *H. bacteriophora*, observou que a quantidade de alimento disponível e concentração de CO₂ influenciam no tempo de permanência dos JIs em um determinado meio, bem como na evolução para formas adultas e conseqüente origem de novas gerações. Desta forma, no presente estudo, tendo em vista o alto número de JIs produzidos e a emergência não imediata dos mesmos, provavelmente as larvas hospedeiras utilizadas tenham oferecido alimento e espaço em quantidade e qualidade suficientes para contribuir com uma maior permanência dos JIs e formação de novas gerações. Essa constatação é reforçada pelo fato de não haver um rápido esgotamento dos JIs presentes nas larvas, pois, como pode ser observado na Fig. 5, após o declínio do pico de produção, a emergência continuou em um padrão intermediário até o décimo dia.

4.2 COMPATIBILIDADE

Quando expostos ao inseticida Carbofurano, os isolados CB24 e CB40 apresentaram diferentes respostas em relação à sobrevivência e infectividade (TABELA 4).

O isolado CB24 foi afetado pela presença do inseticida, em ambos os parâmetros avaliados, havendo redução de aproximadamente 75% na viabilidade e de 40% na mortalidade dos insetos (TABELA 4). No entanto, mesmo com uma viabilidade muito baixa (1,7%), a infectividade do isolado CB24 exposto ao inseticida, ainda foi de 12,5%, demonstrando que de alguma forma, o produto fitossanitário interfere negativamente na sobrevivência dos nematóides, mas apresenta menor efeito sobre os mecanismos infectivos.

O efeito negativo de carbofurano sobre a viabilidade de nematóides entomopatogênicos também foi observado por Negrisoni Jr. et al. (2008), ao constatar 99% de mortalidade de *H. bacteriophora* quando exposto ao produto. Da mesma forma, Rovesti e Deseo (1991) consideraram carbofurano incompatível com *H. heliothidis* em relação a este parâmetro. No entanto, resultados contrários também foram encontrados, como os observados por Andaló et al. (2004), segundo

os quais os JIs de *H. bacteriophora*, bem como de *S. carpocapsae*, *S. arenarium* e *S. glaseri*, submetidos ao tratamento com o carbofurano apresentaram mortalidade em torno de 20%, ressaltando que apenas *S. carpocapsae* diferiu da testemunha que continha apenas NEPs.

TABELA 4 - Porcentagem de viabilidade e infectividade dos isolados CB24 e CB40 de *Heterorhabditis sp.* sobre larvas de *Galleria mellonella*, em teste de compatibilidade com o inseticida carbofurano.

Tratamento	Viabilidade			Infectividade		
	CB24	CB40	C.V. (%) Teste t	CB24	CB40	C.V. (%) Teste t
NEPs	77,3 ± 4,18 a,c	95,7 ± 0,33 a,d	5,93	54,2 ± 11,02 a,c	4,2 ± 2,10 a,c	35,58 *
NEPs + Carbofurano	1,7 ± 0,67 b,c	97,3 ± 0,88 a,d	2,74	12,5 ± 3,61 b,d	6,3 ± 0,00 a,c	23,48 *
Varição de atividade (%)	- 75,6	+ 1,6		- 41,7	+ 2,1	
C.V. (%)	13,11	1,20		42,60	48,99	
Scott-Knott						

NEPs = (Nematóides entomopatogênicos)

Médias (±EP) seguidas por mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (P < 0,05)

Valores negativos e positivos indicam, respectivamente, redução e aumento da atividade no respectivo parâmetro

Médias (±EP) seguidas por mesma letra (c ou d) na mesma linha não diferem entre si pelo teste t (P < 0,05)

* Valores originais apresentados; Para análise foram transformados pela fórmula \sqrt{x}

Nas avaliações feitas com o isolado CB40, por outro lado, não houve diferença significativa entre os tratamentos com inseticida e a testemunha, tanto para viabilidade quanto para infectividade. Assim, o produto testado não apresenta efeito negativo sobre este nematóide, em relação a estes parâmetros biológicos.

Contudo, a infectividade do isolado foi muito baixa em ambos os casos, 4,2% apenas com NEPs e, 6,3% com NEPs na presença do inseticida, contrastando

com a maior virulência ocorrida no bioensaio de seleção de isolados para a broca-da-bananeira, que foi de 36,7% (TABELA 2).

Ao avaliar as médias de cada parâmetro obtidas para os isolados CB24 e CB40 e compará-las entre si, nota-se que os NEPs não expostos ao inseticida apresentam diferença estatística, tanto para viabilidade quanto para infectividade. Por outro lado, a exposição ao carbofurano resultou em diferença significativa entre os dois isolados, apenas para a viabilidade (TABELA 4).

É importante ressaltar que com uma viabilidade muito menor, o isolado CB24 atingiu estatisticamente a mesma média de infectividade que o CB40. Este é um detalhe de extrema relevância, já que a infectividade é o parâmetro mais importante do ponto de vista prático, pois, se mesmo com uma baixa viabilidade mantém-se uma alta infectividade, se houver aumento na concentração de NEPs ainda pode-se atingir um efeito inseticida satisfatório.

De fato, assim como foi observado para os isolados CB24 e CB40, carbofurano não afeta igualmente todos os NEPs. Na mesma avaliação em que Negrisoli Jr. et al. (2008) verificaram grande sensibilidade de *H. bacteriophora* ao carbofurano (99%), a mortalidade de *S. carpocapsae* foi bem menor, 48%. Resultado semelhante ao encontrado por Gordon et al. (1996), que constatou aproximadamente 40% de mortalidade dos JIs de *S. carpocapsae* expostos ao carbofurano, enquanto que *S. feltiae* sofreu uma mortalidade acima de 80%.

Rovesti e Deseo (1991) também consideraram carbofurano prejudicial à viabilidade, mas não à infectividade de *H. heliothidis*, em baixas concentrações. Avaliações que reforçam ou contrariam tal observação são encontradas. No presente estudo, a baixa viabilidade do isolado CB24 e a permanência de sua infectividade favorecem a consideração destes autores, no entanto, no caso do isolado CB40, sua alta sobrevivência e baixa infectividade, contraria tal afirmação no que diz respeito à viabilidade.

O resultado encontrado para CB40 ainda corrobora com Andaló et al. (2004), que observaram viabilidade em torno de 80% para 4 espécies de NEPs, dentre eles *H. bacteriophora* que teve a maior infectividade constatada, também 80%. Já, Negrisoli Jr. et al. (2008) observaram efeito contrário sobre o mesmo nematóide, o qual apresentou uma viabilidade máxima de 1%, mantendo ainda infectividade de 2%, neste caso, estando de acordo com o resultado encontrado para CB24.

Gordon et al. (1996) também detectaram que os JIs de *S. carpocapsae* e *S. feltiae* que permaneceram vivos não tiveram sua infectividade prejudicada. Observaram ainda que o carbofurano aparentemente estimulou o comportamento locomotor dos JIs de *S. carpocapsae*, mas não foi observada nenhuma evidência de que isto tenha favorecido a infectividade dos mesmos. No presente estudo, não foi percebida nenhuma diferença em relação à locomoção dos JIs.

A partir das observações realizadas neste estudo, e de acordo com o critério estabelecido por Vainio (1992), o isolado CB24 foi considerado incompatível com carbofurano, pois, mesmo que a redução de sua infectividade tenha sido menor que 50%, a redução de sua viabilidade foi maior. Já para o isolado CB40, o produto pode ser considerado compatível para ambos os parâmetros, mesmo com uma infectividade muito baixa, a qual foi semelhante à testemunha.

Contudo, ao comparar os valores atingidos por ambos os isolados o isolado CB24 atingiu melhor desempenho quando associado ao inseticida carbofurano.

5 CONCLUSÕES

- *Cosmopolites sordidus* apresentou-se suscetível aos nematóides testados, exceto ao isolado SC da espécie *Steinernema carpocapsae*.
- Dentre os isolados testados, os nematóides do gênero *Heterorhabditis* foram os mais infectivos à broca-da-bananeira.
- Os isolados CB24 e CB40 apresentam de maneira semelhante, altas taxas de produção de JIs *in vivo*, em larvas de *Galleria mellonella*.
- O isolado CB24 apresentou infectividade semelhante ao isolado CB40 quando associados ao inseticida carbofurano, porém, com uma viabilidade bem menor, resultando em melhor desempenho.
- O produto carbofurano foi compatível com o isolado CB40 e incompatível com o isolado CB24.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, M. S. T.; SALEH, M. M. E.; AKIL, A. M. Laboratory and field evaluation of the pathogenicity of entomopathogenic nematodes to the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Col.: Curculionidae). **Journal Pest Science**, Berlin, v. 74, p. 167-168, 2001.

AGUILLERA, Marineide Mendonça. **Nematóides Benéficos Controlam Pragas na Agricultura**. Jaguariúna, São Paulo: EMBRAPA – Meio Ambiente, 2001. 33p.

ALVES, Viviane Sandra et al. Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos a Cochonilha-da-raíz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 67-73, 2009.

ANDALÓ, Vanessa; MOINO JUNIOR, Alcides; SANTA-CECÍLIA, Lenira V. C. Compatibilidade de nematóides entomopatogênicos com produtos fitossanitários utilizados na cultura do Cafeeiro. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v. 28, n. 2, p. 149-158, 2004.

ARLEU, José Renato; GOMES, José Antonio; NÓBREGA, Ademir Cavalcante. **Nível de controle para Broca-da-Bananeira (*Cosmopolites Sordidus*, Germ, 1824) em bananal da cv. Prata no Espírito Santo**. Campo Grande: ENCAPA, 1984, n. 30, p. 1-4.

BARBOSA, Carla Ruth de Carvalho. **Técnicas de produção in vivo de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae) em *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) e hospedeiros alternativos**. Lavras, 2005. 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia). Universidade Federal de Lavras.

BATISTA FILHO, Antonio et al. Controle Biológico do “Moleque” da Bananeira (*Cosmopolites sordidus*, Germar, 1824) pelo uso de fungos entomógenos, no laboratório. **Biológico**, São Paulo, v. 53, p1-6, 1987.

BATISTA FILHO, Antonio et al. *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) em dois cultivares de banana: nível de infestação e incidência natural do entomopatógeno *Beauveria amorpha* (Höhn). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 67, p. 183-190, 1992.

BATISTA FILHO, Antonio et al. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. No manejo de *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824, em Miracatu, SP. **Biológico**, São Paulo, v.57, n.1/2, p.17-19, 1995.

BATISTA FILHO, Antonio; TAKADA, Hélio Minoru; CARVALHO, Alessandra Goulart. Brocas da Bananeira. ANAIS DA VI REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO – BANANA, 2002. São Bento do Sapucaí – SP. **Anais**. São Paulo, 2002, p 1-16.

BIOCONTROLE. **Armadilha para Moleque-da-bananeira**. Disponível em <<http://www.biocontrole.com.br/?area=armadilhas&id=3>>. Acesso em 10 de mai. 2009.

CAMPBELL James F. et al. Evolution of Host Search Strategies in Entomopathogenic Nematodes. **Journal of Nematology**, Saint Paul, v 35, n. 2, p. 142–145, 2003.

CASTRILLÓN Consuelo A. Situación actual del picudo negro del banano (*Cosmopolites sordidus* GERMAR) (Coleóptera: Curculionidae) en el mundo. TALLER “MANEJO CONVENCIONAL Y ALTERNATIVO DE LA SIGATOCA NEGRA, NEMATODOS Y OTRAS PLAGAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE MUSÁCEAS”, 2003, Guayaquil: Equador. **Actas**. Guayaquil, 2003, p. 125-138.

COSTA, Júlio César R.; DIAS, Roberto J. P.; MORENZ, Mirton J. F Determining the adaptation potential of entomopathogenic nematode multiplication of *Heterorhabditis riobravus* and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) in larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Parasitology Research**, v. 102, p. 139-144, 2007.

DOLINSKI, Claudia; MOINO JR. Alcides. Utilização de nematóides entomopatogênicos nativos ou exóticos: o perigo das introduções. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 139-149, 2006.

DOLINSKI, Claudia; LACEY, Lawrence. A. Microbial Control of Arthropod Pests of Tropical Tree Fruits. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 2, p.161-179, 2007.

DOWDS, B. C. A.; PETERS, A. Virulence Mechanisms. In: GAUGLER, Randy. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002, p. 79-93.

DUNN, Robert A.; SMART, Grover C. **Pesticide compatibility of beneficial nematodes**. Florida University, 1996. Disponível em: <<http://entomology.ifas.ufl.edu/pestalert/rad-0812.htm>>. Acesso em 10 mai. 2009.

DUTKY, S.R.; THOMPSON, J.V.; CANTWELL, G.E. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. **Journal of Insect Pathology**, v.6, p.417-422, 1964.

EHLERS, Ralf-Udo. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 56, p.623–633, 2001.

ELLIOT, Sam L. et al. Can plants use entomopathogens as bodyguards? **Ecology letters**, Oxford, v. 3, n. 3, p. 228-235, 2000.

FERRAZ, Luiz Carlos C. B. Nematóides Entomopatogênicos. In: ALVES, Sergio B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998, cap. 16, p. 541-569.

FERREIRA, Daniel F. **Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas**. Lavras, 2000.

Food Agriculture Organization (FAO): **Major food and agricultural commodities and producers**. 2005. Disponível em: <<http://www.fao.org/statistics>>. Acesso em 10 mai. 2009.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **The State of Agricultural Commodity Markets 2006**. Roma, 2007a. Disponível em: <<http://www.fao.org/statistics>>. Acesso em 10 mai. 2009.

Food Agriculture Organization (FAO): **Crops production**. 2007b. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em 10 mai. 2009.

GALLO Domingos et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 920p.

GAUGLER, Randy et al. Automated technology for in vivo mass production of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v.24, p.199-206, 2002.

GAUGLER, Randy; HAN, Richou. Production technology. In: GAUGLER, Randy. et al. **Entomopathogenic nematology**. CAB International, 2002, cap. 14, p 289-310.

GOLD, Clifford S.; MESSIAEN, Stijn. El picudo negro del banano – *Cosmopolites sordidus*. **INIBAP**, Montpellier, n. 4, p. 33, 2000.

GOLD, Clifford S.; PENA, Jorge E.; KARAMURA Eldad B. Biology and integrated pest management for the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). **Integrated Pest Management Reviews**, v. 6, n. 2, p. 79–155, 2001.

GOLD, C. S.; PINESE B.; PENA, J. E. Pests of Banana. In: PENA, Jorge E. **Tropical fruit pests and pollinators: Biology, economic importance, natural enemies and control**. Florida: Cabi Publishing, 2002, cap. 2, p. 13-32.

GORDON R., CHIPPETT J., TILLEY, J. Effects of Two Carbamates on Infective Juveniles of *Steinernema carpocapsae* All Strain and *Steinernema feltiae* Umea Strain. **Journal of Nematology**, Saint Paul, v. 28, n. 3, p. 310-317, 1996.

GREWAL Parwinder S.; DE NARDO, Elizabeth A. B. de; AGUILLERA, Marineide M. Entomopathogenic nematodes: Potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, 2001.

HASYM, A.; GOLD, Clifford S. Potential of classical control for banana weevil, *Cosmopolites sordidus* Germar, with natural enemies from Asia (with emphasis on Indonesia). In: **Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa**. South Africa: INIBAP, 1998, p. 59-71.

INSTITUTO Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Levantamento sistemático da produção agrícola. V. 19, n. 12, p. 1-76, 2007.

INSTITUTO Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Levantamento sistemático da produção agrícola. V. 20, n. 12, p. 1-76, 2008.

KAYA, Harry K.; BEDDING Robin A.; AKHURST Raymond J. An overview of insect-parasitic and entomopathogenic nematodes. In: BEDDING Robin; AKHURST Ray; KAYA Harry. **Nematodes and the biological control of insect pests**. East Melbourne: CSIRO, 1993, P. 41-47.

KOPPENHÖFER, Albrecht M.; KAYA, Harry K. Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to White Grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.91, n.3, p.618-623, 1998.

KOPPENHÖFER, Albrecht M.; GREWAL, Parwinder S.; KAYA, Harry K. Synergism of imidacloprid and entomopathogenic nematodes against white grubs: the mechanism. **Entomologia Experimentales et Applicata**, Dordrecht, v. 94, n. 3, p. 283-293, 2000.

KOPPENHÖFER, Albrecht M. et al. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v.24, p.90-97, 2002.

KERMARREC, Alain; MAULÉON, Hervé. synergie entre le chlordécone et *Neoplectana carpocapsae* Wisner (Nematoda: Steinernematode) pour le controle de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). **Revue Nematologie**, Bondy, v.12, n.3, p.324-325, 1989.

LARA, Fernando Mesquita et al. Preferência de *Cosmopolites sordidus* Germ. (Coleoptera:Curculionidae) por genótipos de bananeira, em condições de laboratório. **Revista Ecosystema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 25, n.1, p. 35-38, 2000.

LINDEGREN, J. E.; VALERO, K. A.; MACKEY, B. E. Simple In Vivo Production and Storage Methods for *Steinernema carpocapsae* Infective Juveniles. **Journal of Nematology**, Saint Paul, v. 25, n. 2, p. 193 -197, 1993.

LEITE, Luis Garrigós. Nematóides entomopatogênicos. **Boletim Técnico do Instituto Biológico – Controle Biológico de Insetos e Ácaros**. São Paulo, n. 15, p. 42-51, 2006.

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

LEWIS, Edwin E. et al. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 66-79, 2006.

MANICA, Ivo. **Fruticultura Tropical 4, Banana**. Porto Alegre – RS: Cinco Continentes, 1997, p. 327-348.

MATTHIESEN, Marina Leite; BOTEON, Margarete. Análise dos principais pólos produtores de banana no Brasil. In: Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural, 2003, Juiz de Fora. **Anais do XLI Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural**, 2003.

MESQUITA, Antonio Lindemberg Martins. Importância e Métodos de Controle do Moleque ou Broca-do-Rizoma-da-Bananeira. **Circular Técnica - EMBRAPA Agroindústria tropical**, Fortaleza, n. 17, p. 1-5, 2003.

MESSIAEN, Stijn. Componentes de una estrategia para el manejo integrado del picudo negro del banano *Cosmopolites Sordidus* (Germar) (Coleoptera:Curculionidae). **Infomusa**, Montpellier, v. 12, n. 1, p. 52-53, 2002.

MIKLASIEWICZ, T. J. et al. Evaluation of entomopathogenic nematodes for suppression of carrot weevil. **BioControl**, Dordrecht, v. 47, p. 545-561, 2002.

MINISTÉRIO do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC). Agricultura em números – Anuário 2005. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 10 mai. 2009.

MINISTÉRIO do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC). Exportação 2008: Grupo de produtos. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivos/dwnl_1232047016.doc>. Acesso em 10 mai. 2009.

MOLINA, J. P. A.; MOINO JUNIOR, A.; CAVALCANTI, R. S. Produção *in vivo* de nematóides entomopatogênicos em diferentes insetos hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, n.3, p.347-354, 2004.

NEGRISOLI JUNIOR, Aldomario. S. **Avaliação de técnicas para estudos de compatibilidade de produtos fitossanitários com nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae)**. Lavras, 2005, 79p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia) – Universidade Federal de Lavras.

NEGRISOLI JUNIOR, Aldomario S.; BARBOSA, Carla R. C.; MOINO JUNIOR, Alcides. Avaliação da Compatibilidade de Produtos Fitossanitários com Nematóides Entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) utilizando o Protocolo Modificado da IOBC/WPRS. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, v. 32, n.2, p. 111-116, 2008.

NEVES, Pedro Janeiro; ALVES, Sergio Batista; AGUILLERA, Marineide Mendonça. Produção de nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, Sergio B. **Controle microbiano de insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap.29, p.889-905.

PARRA, José R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, Sérgio B. In: **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998, p. 1015-1037.

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

PRESTES, Tania Mari Vicentini. **Dinâmica populacional de *Cosmopolites sordidus* (Coleóptera: Curculionidae) em bananal, cv. Nanicão, em São Miguel do Iguçu, PR, e sua susceptibilidade a isolado de *Beauveria bassiana***. Marechal Cândido Rondon, 2005, 75p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

PRESTES, Tânia Mari Vicentini; ZANINI, Agostinho; ALVES, Luis Francisco Angeli. Aspectos ecológicos da população de *Cosmopolites sordidus* em São Miguel do Iguçu. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 333-347, 2006.

RAGA, Adalton; OLIVEIRA, J. A. Ação de inseticida sobre a Broca-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*) (Coleóptera: Curculionidae) no Vale do Ribeira, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1, p. 81-84, 1996.

RASMANN, Sergio et al. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, London, v. 434, n. 7034, p. 732-737, 2005.

ROSALES, Ligia Carolina; SUÁREZ, Zoraida H. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control de gorgojo negro del plátano *Cosmopolites Sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). **Boletín de Entomología Venezolana**, Maracay, v. 13, n. 2, p. 123-140, 1998.

ROVESTI, L. et al. Compatibility of Pesticides with the Entomopathogenic Nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae). **Nematologica**, Leiden, v.34, p.462-476, 1988.

ROVESTI, L.; DESEÖ, K.V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis heliothidis*. **Nematologica**, Leiden, v.37, p.113-122, 1991.

SARGO, Haroldo Luis B. Técnicas de pesquisa e avaliação da preferência de *Cosmopolites sordidus* (GERMAR, 1824) (Coleóptera: Curculionidae) por genótipos de bananeira (*Musa spp*) em laboratório. 1994. 100p. TCC (Graduação) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP.

SHAPIRO, David I.; GLAZER Itamar. Comparison of entomopathogenic nematode dispersal from infected hosts versus aqueous suspension. **Biological Control**, San Diego, v. 25, n. 6, p. 1455-1461, 1996.

SHAPIRO-ILAN, David I.; MIZELL, Russel F.; CAMPBELL, James F. Susceptibility of the Plum Curculio, *Conotrachelus nenuphar*, to Entomopathogenic Nematodes. **Journal of Nematology**, Saint Paul, v. 34, n. 3, p. 246-249. 2002.

SHAPIRO-ILAN, David I.; LEWIS, Edwin E.; TEDDERS Louis. Superior efficacy in entomopathogenic nematodes applied in infected-host cadavers compared with application in aqueous suspension. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 83, n. 3, p. 270-272, 2003.

SHAPIRO-ILAN, David I. et al. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-135, 2006.

SCHIMITT, Aurea T.; GOWEN, S. R.; HAGUE, N. G. M. Baiting techniques for the control of *Cosmopolites sordidus* GERMAR (Coleoptera: Curculionidae) by *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). **Nematropica**, Auburn, v. 22, p. 159-163, 1992.

SEPÚLVEDA-CANO, Paula A.; LÓPEZ-NÚÑEZ, Juan C.; SOTO-GIRALDO, Alberto. Efecto de dos nematodos entomopatogénicos sobre *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae). **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v. 34, n. 1, p. 62-67, 2008.

SISTEMA de agrotóxicos fitossanitários (AGROFIT). Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 02 jan. 2009.

SMART JR, G. C. Entomopathogenic nematodes for the Biological Control of Insects. **Journal of Nematology**, Saint Paul, v. 27, n. 4S, p. 529-534, 1995.

SMITH, Kirk. A. Control of insect pests with entomopathogenic nematodes. 1994. Disponível em: <<http://www.ffc.agnet.org/library/tb/139a/>>. Acesso em: 06 ago. 2007.

SUPLICY FILHO, N.; SAMPAIO, A. S. Pragas da Bananeira. **Biológico**. São Paulo, v. 48, n. 7, p. 169-182, 1982.

TAVARES, Fernando M. **Avaliação de nematóides entomopatogênicos contra o Bicudo da Cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978, e efeito da associação desses agentes com inseticidas químicos**. Botucatu, 2006. 61p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista.

TREVERROW, Neil et al. Evaluation of entomopathogenic nematodes for control of *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae), a pest of bananas in Austrália. **Annals of Applied Biology**, v. 119, n.1, p. 139-145, 1991.

TREVERROW, Neil L.; BEDDING, Robin A. Development of a system for the control of the banana weevil borer, *Cosmopolites sordidus* with entomopathogenic nematodes. In: BEDDING Robin; AKHURST Ray; KAYA Harry. **Nematodes and the biological control of insect pests**. East Melbourne: CSIRO, 1993, P. 41-47.

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

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. Sternematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of techniques southern cooperative. Arkansas Agricultural Experiment Station Fayetteville. In: **Series Bulletin**, n. 331, 1988.