

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O
CONTROLE DA CIGARRA-DO-
CAFEIEIRO**

MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA

2007

MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO
O CONTROLE DA CIGARRA-DO-CAFEIEIRO**

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

Orientador

Prof. Dr. Alcides Moino Júnior

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

2007

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

Silva, Marco Aurélio Tramontin da

Avaliação de nematóides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-
cafeeiro / Marco Aurélio Tramontin da Silva. -- Lavras : UFLA, 2007.

49 p. : il.

Orientador: Alcides Moino Júnior

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Controle microbiano. 2. Hemiptera. 3. Cicadidae. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-595.82

MARCO AURÉLIO TRAMONTIN DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO
O CONTROLE DA CIGARRA-DO-CAFEIEIRO**

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

APROVADA em 27 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr. Paulo Rebelles dos Reis EPAMIG

Dr. Luís Garrigós Leite Instituto Biológico/ Campinas

Prof. Dr. Alcides Moino Júnior

DEN/UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2007

A minha família, pelo amor e carinho,

OFEREÇO

A DEUS, por iluminar minha mente

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus porque, sem Ele, não teria feito nada disso e por toda a inspiração, iluminação em períodos difíceis e coragem nos momentos de fraqueza e desespero.

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, pela oportunidade de aprender um pouco mais sobre a Entomologia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao orientador Prof. Dr. Alcides Moino Júnior, pelo acolhimento e confiança e por toda a paciência prestada durante os dois anos do curso.

Ao Dr. Paulo Rebelles Reis, pelo apoio e paciência sempre prestados nos momentos de dúvida sobre cigarras-do-cafeeiro.

Ao Dr. Luis Garrigós Leite e ao Dr. Paulo Rebelles Reis, por terem aceitado o convite e por toda a contribuição intelectual.

A todos os colegas de pós-graduação, que com certeza auxiliaram muito para esta dissertação.

Aos colegas de mestrado (Ana Paula, Karina, Ronara, Ronelza, Sabrina e Tatianne), por toda a convivência durante o período do mestrado.

Aos parceiros, Douglas, Renato e Robson, por todas as atividades físicas realizadas, mostrando suas habilidades futebolísticas e pelas conversas de alto nível científico.

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia – DEN, por toda a cooperação no decorrer desse período.

Aos professores do Departamento de Entomologia – DEN, por todo o ensinamento.

A todos os colegas do laboratório de Patologia de Insetos (Gisele

Grazielle, Ricardo e Vanessa).

Ao pessoal de apoio e aos motoristas do Departamento de Veículos da UFLA, principalmente na pessoa de Manoel, por todo o apoio e cooperação para que as coletas fossem realizadas.

Ao pessoal da EMATER de MG, principalmente na pessoa do Engenheiro Agrônomo Luís, da Emater de Coqueiral, ao Engenheiro Agrônomo Belarmino (Emater Sede) e ao M. Sc. Hélder da Emater de Lavras.

Ao César, do Departamento de Agricultura – DAG, pelas dicas para as coletas e manutenção das cigarras.

Aos meus colegas de república do primeiro semestre, por toda a receptividade.

A Cristhiane Rohde, por toda a paciência e coleguismo durante os dois anos do curso, inclusive desde a nossa prova de mestrado e por ser uma grande profissional, e que me ensinou muito sobre nematóides e pelas infinitas dicas sobre metodologia experimental e também por toda a ajuda desde a instalação de experimentos, bem como auxílio intelectual.

Ao Fabiano, por toda a cooperação e coleguismo demonstrados no decorrer destes dois anos e por seu companheirismo durante vários momentos, estando sempre presente para a instalação dos experimentos, assim como por sua parceria e pelo pouco fôlego para correr comigo.

A Viviane, por vários ensinamentos, inclusive idéias sobre a dissertação e por sempre estar por perto quando precisei de sua ajuda.

A Cleidson e Iuri, por todo o esforço realizado e pela ótima companhia em campo, cavando sob sol e chuva.

Ao Marcos Botton, por todo o aprendizado e pelos vários conselhos no âmbito profissional e pessoal e por formar profissionais com perfil para o mercado de trabalho.

Ao meu período na Embrapa Uva e Vinho (2003 a 2005), onde fiz

muitos amigos e colegas profissionais e conheci pessoas brilhantes.

Ao meu pai científico, Alexandre Specht, que na realidade é por “culpa” dele que estou aqui. Foi o pioneiro a me incentivar e mostrar tudo o que aprendi sobre insetos durante a graduação.

Ao Gilmar Plá, como coordenador do curso de Agronomia, no período em que estive na Universidade, por sempre acreditar em seus alunos.

Ao meu colega de graduação e grande profissional, Dércio Dutra, por sempre lembrar a nossa amizade.

Aos meus melhores amigos, Patrik e Léo, que sem dúvida foram pessoas marcantes, e que devo muito pelas horas de companheirismo e amizade, compartilhando momentos de alegria.

Aos meus familiares, por sempre estarem presentes, e por sempre orarem pela minha felicidade, mesmo sabendo que tive que me ausentar durante um bom tempo para poder conquistar este título.

A todos, inclusive os que infelizmente não foram citados neste, mas que contribuíram e muito para a confecção desta dissertação e que me acompanharam durante toda esta jornada de dois anos labutando e tentando conquistar meus objetivos.

Muito obrigado a todos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 A cultura do cafeeiro no brasil.....	4
2.2 Principais insetos-praga da cultura do cafeeiro.....	4
2.3 A família Cicadidae	5
2.3.1 Aspectos gerais	5
2.3.2 Ocorrência	5
2.4 <i>Quesada gigas</i> (Olivier, 1790).....	6
2.4.1 Aspectos bioecológicos	7
2.4.2 Danos	8
2.5 Controle da cigarra-do-cafeeiro	9
2.5.1 Controle cultural	9
2.5.2 Controle mecânico	9
2.5.3 Controle químico	9
2.5.4 Controle biológico	11
2.5.4.1 Controle microbiano	12
2.5.4.1.1 Nematóides entomopatogênicos	12
2.5.4.1.1.1 Aspectos biológicos.....	13
2.5.4.1.1.2 Comportamento de busca.....	16
2.5.4.1.1.3 Importância	16
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Obtenção de isolados de nematóides entomopatogênicos.....	20
3.1.1 Manutenção de <i>Galleria mellonella</i>	20
3.1.2 Manutenção dos nematóides	22

3.2.1 Metodologia de manutenção de ninfas de cigarras	23
3.2.2 Efeito de concentrações de <i>H. bacteriophora</i> e <i>S. carpocapsae</i>	24
3.3 Seleção de isolados	25
3.3.1 Testes de virulência	25
3.5 Avaliação do deslocamento dos nematóides	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 Metodologia de manutenção de ninfas	29
4.2 Determinação da patogenicidade dos nematóides	29
4.3 Avaliação da concentração de nematóides entomopatogênicos.....	36
4.4 Avaliação do deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos.....	38
5 CONCLUSÕES.....	42
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

RESUMO

SILVA, Marco Aurélio Tramontin da. **Avaliação de nematóides entomopatogênicos visando o controle da cigarra-do-cafeeiro**. 2007. 49 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A cafeicultura no Brasil é bastante expressiva, sendo responsável pela maior produção, consumo e exportação de café do mundo. As espécies *Coffea arabica* e *C. canephora* são predominantes e são hospedeiras de alguns insetos-praga de importância econômica como as cigarras. A espécie *Quesada gigas* (Olivier, 1790) é considerada a principal por apresentar maior tamanho e causar danos mais sérios às plantas. Assim, este trabalho teve como objetivos, desenvolver uma metodologia que permitisse a manutenção das ninfas de cigarras em condições de laboratório, avaliar a eficiência de diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos contra ninfas de cigarras, bem como avaliar a virulência destes entomopatógenos e o deslocamento dos mesmos em coluna de solo. Foi realizado um teste para a escolha da concentração utilizada na seleção, que foi de 300 juvenis infectantes (JI) /inseto. Para os bioensaios, as ninfas foram coletadas e inseridas em mudas de cafeeiro e, no dia seguinte, instalado o experimento. Foi avaliada a patogenicidade de diferentes isolados de *Heterorhabditis* e *Steinernema* sobre ninfas de cigarras. Cada tratamento constou de quatro repetições e em cada repetição cinco mudas, ou seja, 20 insetos/tratamento, aplicados em 1 mL de suspensão. As avaliações foram realizadas após três e seis dias de inoculação e a confirmação feita cinco dias depois. Os isolados mais virulentos foram selecionados e avaliados nas concentrações que variaram entre 0 e 500 JI/inseto. Foi avaliada também a eficiência de *Heterorhabditis* sp. JPM 4 e *S. riobrave*, aplicados em coluna de solo, para observação do comportamento de busca destes nematóides. Este bioensaio foi realizado em cilindros de cano PVC (5 x 15, altura e diâmetro, respectivamente), contendo três ninfas de cigarra cada um, sendo aplicados 4,4 JI/cm². A avaliação foi realizada após cinco dias, sendo realizada a confirmação após este mesmo período. Verificou-se que todos os isolados testados foram patogênicos ao inseto, exceto *S. feltiae*. Os isolados *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) e *S. riobrave* foram os mais virulentos, causando mortalidade 50 e 30%, respectivamente, após seis dias de inoculação. Na avaliação de deslocamento vertical, o isolado *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) causou mortalidade total e confirmada até a última profundidade testada (30 cm).

* Orientador: Alcides Moino Júnior – UFLA.

ABSTRACT

SILVA, Marco Aurélio Tramontin da. **Evaluation of entomopathogenic nematodes aiming the control of coffee plant cicadas.** 2007. 49 p. Dissertation (Master Degree in Entomology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Coffee plantation in Brazil is very important, once it is responsible for the greatest production, consumption and exportation of coffee in the world. The species *Coffea arabica* and *C. canephora* are predominant and also host some insect-pests of economical importance such as the cicadas. The species *Quesada gigas* is considered the principal because it presents bigger size and cause more serious damages to the plants. Therefore, this work aimed developing a methodology which allowed maintaining the nymphs of cicada in laboratory conditions, evaluating the efficiency of different strains of entomopathogenic nematodes against nymphs of cicadas, as well as to assessing the virulence of those entomopathogens and the dislocation of them in ground column. A test was carried out to choose the concentration used in the selection, which was of 300 juvenile infectives (IJ) /insect. For the bioassays, the nymphs were collected and inserted into the seedlings of coffee plant (one nymph/plant) and on the following day the experiment was installed. It was evaluated the pathogenicity of different strains of *Heterorhabditis* and *Steinernema* on the cicada nymphs. Each treatment consisted in four replications and in each replication five seedlings; it means 20 insects/treatments, being applied in 1 mL of nematode suspension. The evaluations were carried out after three and six days of inoculation and the confirmation of mortality due five days later. The isolated most virulent were selected and evaluated at the concentrations which varied between 0 and 500 IJ/insect. It was also assessed the efficiency of *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) and *S. riobrave*, applied in the ground column, for the behavior of searching observation of these nematodes. This bioassay was carried out in cylinders of pipe PVC (5 x 15, height and diameter, respectively), containing three nymphs of cicada each one, being applied 4,4 IJ/cm². The evaluation was carried out five days later, with the confirmation being done after this same period. It was concluded that all the strain tested were pathogenic to the insect, except *S. feltiae*. The strain *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) and *S. riobrave* were the most virulent, causing mortality rate around 50% and 30 %, respectively, after six days inoculation. In the evaluation of vertical dislocation, the isolate *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) caused total confirmed mortality up to the last depth tested (30 cm).

* Advisor: Alcides Moino Júnior - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A cafeicultura brasileira apresentou a maior produção mundial na safra 2005/2006, três vezes mais que o Vietnã, segundo maior produtor. O Brasil é também, o maior exportador mundial, sendo a Alemanha sua maior importadora. A cafeicultura detém 5% do produto interno bruto (PIB) do país, gerando em torno de 27 milhões de dólares. Atualmente o café é o segundo maior gerador de riquezas do planeta, ficando atrás somente do petróleo. Considera-se um mercado que move cerca de 91 milhões de dólares anualmente (Embrapa Café, 2007).

Os Estados que mais se destacam na produção brasileira são Minas Gerais (praticamente metade da produção), São Paulo e Espírito Santo, além de outros como Paraná, Bahia e Rondônia (Agrianual, 2007). Esta produção poderia alcançar índices mais elevados, se não houvesse a intervenção de insetos-praga que necessitam um controle adequado.

A cultura do cafeeiro é alvo de inúmeras pragas, algumas destas de importância econômica, por causarem danos significativos, ocasionando perdas na produção (Reis et al., 2002).

Entre os principais insetos-praga destacam-se as cigarras que atacam as raízes do cafeeiro. Os gêneros mais encontrados são (em ordem de importância e danos): *Quesada*, *Fidicinoides*, *Carineta* e *Dorisiana* (Reis et al., 2002). A espécie de maior importância é *Quesada gigas* (Olivier, 1790), que na maioria das vezes representa 87% da população. São caracterizadas pelo tamanho avantajado em relação a outras espécies de cigarras, constituindo-se como a mais prejudicial e de maior disseminação (Maccagnan & Martinelli, 2004).

Os danos são causados pelas ninfas que, após a eclosão do ovo na parte aérea da planta, migram para as raízes, onde permanecem sugando a seiva.

Conseqüentemente o ataque às raízes, causa reflexos na parte aérea das plantas, como clorose e queda precoce das folhas e nas raízes, ocasionando assim, definhamento da planta e redução da produtividade, podendo em alguns casos, levar à perda total da lavoura (Reis & Souza, 1991).

O controle da cigarra é realizado quando há um aumento excessivo destes insetos, considerando que o método mais utilizado, por ser eficiente, é o controle químico. Porém, este método de controle causa sérios problemas ambientais e sociais, gerando fontes contaminantes no solo, resistência de insetos, efeitos adversos de inimigos naturais e efeitos tóxicos para aplicadores e consumidores (Gallo et al., 2002). Assim, torna-se claro a necessidade do estudo de outras técnicas de controle para estes insetos-praga que visem a minimização do uso de produtos fitossanitários e que colaborem para uma agricultura sustentável, entre elas: o controle biológico de pragas.

O controle biológico vem sendo utilizado em muitos países com a finalidade de minimizar populações de insetos-praga de uma forma mais sustentável ao meio ambiente (Cruz, 2002). Atualmente há uma procura pelo controle microbiano, devido ao grande sucesso no combate às pragas, principalmente com o uso de nematóides entomopatogênicos, por serem específicos agentes de controle de insetos-praga (Alves, 1998).

Os nematóides entomopatogênicos têm demonstrado eficácia no controle de pragas de solo, uma vez que ocupam esse mesmo nicho no meio ambiente. Além disso, esses agentes apresentam diversas vantagens quando comparados a outros métodos de controle, apresentando ação sinérgica com outros entomopatógenos e inclusive com produtos fitossanitários, o que favorece seu uso em programas de manejo integrado (Grewal et al., 2001; Koppenhöfer et al., 2002; Koppenhöfer et al., 2003).

A busca por nematóides entomopatogênicos tem aumentado cada vez mais, pelos sucessos demonstrados em vários trabalhos distribuídos pelo mundo,

constituindo forte ferramenta a ser utilizada no controle biológico (Kaya et al., 2006; Georgis et al., 2006).

Desta forma, os objetivos do presente trabalho foram:

1. Desenvolver uma metodologia de manutenção de ninfas de cigarras em condições de laboratório.
2. Selecionar isolados de nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* visando o controle de ninfas de cigarras-do-cafeeiro em condições de laboratório.
3. Determinar a virulência de nematóides entomopatogênicos, por meio de testes de concentração em condições de laboratório.
4. Avaliar o deslocamento de nematóides entomopatogênicos para observar a locomoção e o comportamento de busca destes nematóides, em condições de laboratório.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do cafeeiro no Brasil

O cafeeiro (*Coffea* spp.) pertence à família Rubiaceae, havendo maior destaque para as espécies *Coffea arabica* L., conhecida como café arábica e *C. canephora* Pierre & Froehmer, conhecida como café Conilon ou Robusta (Prado & Nascimento, 2003).

Atualmente, diversas cultivares estão no mercado para o cafeicultor, inclusive geneticamente melhoradas para fins mais lucrativos. As novas variedades são resistentes a várias pragas, permitindo um menor custo com insumos para o controle. Dentre as inúmeras cultivares podem-se destacar algumas como: Mundo Novo, Catuaí Amarelo e Vermelho, Catucaí Amarelo e Vermelho, Rubi, Icatu, Topázio, entre outras (Embrapa Café, 2007).

O Brasil é o maior produtor e também o maior exportador de café do mundo, exportando principalmente para os Estados Unidos e países europeus (Agrarianal, 2007). Entretanto, a cultura do cafeeiro tem enfrentado inúmeros problemas relacionados a diversas pragas.

2.2 Principais insetos-praga da cultura do cafeeiro

Entre os principais insetos-praga encontram-se a broca-do-café *Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867 (Coleoptera: Scolytidae), o bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville, 1842 (Lepidoptera: Lyonetiidae), as cochonilhas da parte aérea: *Coccus viridis* (Green, 1889) (Hemiptera: Coccidae), *Saissetia coffeae* (Walker, 1852) (Hemiptera: Coccidae) e *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) e da raiz: *Dysmicoccus texensis* (Hempel, 1918) (Hemiptera: Pseudococcidae); e as cigarras (Hemiptera: Cicadidae) (Gallo et al., 2002).

Nos últimos anos as cigarras do cafeeiro têm aumentado em importância, sendo consideradas como uma das pragas-chave para esta cultura. Ocorrem em todos os Estados em que a cultura do cafeeiro está presente, com maior intensidade nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná (Maccagnan & Martinelli, 2004).

2.3 A família Cicadidae

2.3.1 Aspectos gerais

As cigarras associadas ao cafeeiro pertencem à família Cicadidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha), havendo quatro espécies principais: *Q. gigas*, *F. pronoe* (Walker, 1850), *Carineta fasciculata* (Germar, 1830) e *Dorisiana drewseni* (Stal, 1854). Dentre estas espécies, *Q. gigas* destaca-se por ser maior e mais prejudicial ao cafeeiro (Gallo et al., 2002; Reis et al., 2002). De maneira geral, todas as espécies têm ciclos de vida longos e com gerações superpostas, sendo que na maior parte do ciclo, elas permanecem na forma jovem (ninfas), abaixo da superfície do solo. O adulto, por sua vez, dura apenas algumas semanas. O gênero *Magicicada*, comum nos Estados Unidos, é conhecido por ser uma cigarra periódica, cujos insetos possuem ciclos de vida sincronizados de 13 ou até 17 anos, sem superposição de gerações (Cooley, 2006). Os outros gêneros englobam as cigarras “anuais”, que apesar de possuírem ciclos de vida longos (dois ou mais anos), não são sincronizados, de maneira que todos os anos ocorrem emergência de adultos.

2.3.2 Ocorrência

As cigarras podem ser encontradas em várias partes do mundo, havendo uma predominância nas Américas, Europa e Oceania. Sanborn (2001a) encontrou em El Salvador, a espécie *Q. gigas*, além de *Diceroprocta belizensis* (Distant, 1910), *D. bicosta* (Walker, 1850); *Fidicinoides determinata* (Walker,

1858) e *F. pronoe* (Walker, 1850) (este gênero posteriormente foi modificado para *Fidicinoides*) e outras menos expressivas. Neste mesmo período, o mesmo autor (Sanborn, 2001b) encontrou, nas Bahamas, duas outras espécies: *Diceroprocta bonhotei* (Distant, 1901) e *Ollanta caicosensis* Davis, esta ocorrendo também em Cuba.

A identificação taxonômica é baseada em caracteres como coloração, espinhos nas pernas e, principalmente por meio da genitália masculina. As ninfas de *Quesada gigas* podem ser identificadas por meio da fórmula femural, determinada pela quantidade de dentes nos fêmures (Maccagnan & Martinelli, 2004).

Atualmente, registros demonstram que o inseto está presente em todos os Estados em que o cafeeiro é cultivado, como Minas Gerais, São Paulo e Paraná (Martinelli & Zucchi, 1987).

Segundo Gallo et al. (2002), as principais espécies de cigarras que atacam as raízes do cafeeiro são: *Q. gigas*, *Fidicina pronoe*, *Carineta fasciculata*, *Carineta spoliata* (Walker, 1858), *Carineta matura* (Distant, 1892), *Dorisiana drewseni* e *Dorisiana viridis* (Olivier, 1790). A época de emergência de adultos ocorre em: setembro-novembro (*Q. gigas*, *F. pronoe* e *D. viridis*), dezembro (*D. drewseni*) e fevereiro (*C. matura*, *C. spoliata* e *C. fasciculata*).

A espécie *Q. gigas* é a mais comum no sul do Estado de Minas Gerais, com cerca de 90% das espécies encontradas e é considerada uma das principais pragas da cultura do cafeeiro.

2.4 *Quesada gigas* (Olivier, 1790)

Heinrich & Pupin Neto (1964) mencionam a espécie como uma praga séria em várias regiões do Estado de São Paulo para a cultura do cafeeiro. Segundo os autores, isto se deve à melhor adaptação do inseto a esta cultura, ou ainda às condições climáticas favoráveis da região.

Além do cafeeiro, Martinelli & Zucchi (1997) relatam que esta espécie é encontrada em plantas de esponjeira (*Acacia farnesiana*), angico (*Piptadeni* sp.) e cacauero (*Theobroma cacao*).

2.4.1 Aspectos bioecológicos

As cigarras possuem coloração geralmente escura e asas transparentes, com manchas escuras. As fêmeas são atraídas pelos machos por meio do som emanado de órgãos emissores, conhecidos como tímбалos. Uma característica marcante da ninfa é o primeiro par de pernas fossoriais, favorecendo a escavação (Gallo et al., 2002).

O tamanho das ninfas de *Q. gigas* varia conforme o ínstar, sendo que em média, ninfas móveis medem em torno de 20 mm a 30 mm de comprimento (Reis et al., 2002). Maccagnan & Martinelli (2004) descrevem detalhadamente os cinco estágios ninfais desta cigarra, com os respectivos tamanhos em mm para cada ínstar: 1º ínstar (2,2); 2º ínstar (4,2); 3º ínstar (8,2); 4º ínstar (14,6) e 5º ínstar (27,3).

As cigarras são insetos hemimetabólicos, ou seja, possuem desenvolvimento incompleto passando por ovo – ninfa – adulto, sendo que os adultos são alados. Após o acasalamento, as fêmeas põem seus ovos na casca dos galhos e ramos das plantas hospedeiras. Quando as ninfas eclodem, pendem por um filamento que excretam, descendo até o solo, indo alojar-se junto das raízes da planta (Souza et al., 1983).

Segundo Heinrich (1967), os ovos de *Q. gigas* são colocados em ramos finos que já estão secos, motivo pelo qual, somente cafeeiros com mais de cinco anos são atacados. Após a eclosão, as ninfas móveis descem para o solo onde vão atingir as raízes, sendo que essa fase pode durar anos e é a mais prejudicial ao cafeeiro.

Pouco se sabe sobre a biologia deste inseto. Os insetos adultos

costumam emergir nos meses de setembro a novembro, influenciados pela precipitação pluvial embora haja relatos de que isto ocorra entre os meses de agosto e outubro (Gallo et al., 2002). Em relação à duração do ciclo, os mesmos autores supõem um tempo entre três e quatro anos, sendo que, na maior parte do ciclo o inseto permanece na forma de ninfa móvel, abaixo da superfície do solo.

A espécie *Q. gigas* é a mais amplamente distribuída no Brasil (Martinelli & Zucchi, 1997).

No último ínstar de vida imatura, com as tecas alares já presentes, as ninfas escavam até a superfície, formando uma galeria cilíndrica e individual. Uma vez fora do solo, sobem no tronco do cafeeiro, onde se fixam (ninfa imóvel). Após um período de aproximadamente duas horas, ocorre o rompimento do tegumento ao longo da linha da ecdise, por onde emerge o inseto adulto (Martinelli & Zucchi, 1997).

2.4.2 Danos

Nas raízes, as ninfas móveis iniciam a sucção da seiva com o aparelho bucal picador sugador tetraqueta. O excesso de líquido sugado pelos insetos é eliminado através da câmara-filtro, resultando numa substância açucarada denominada “honeydew”, que serve para umedecer a terra, facilitando a formação de uma cavidade onde o inseto se abriga. Como não podem eliminar a terra da cavidade onde se encontram, as ninfas vão umedecendo-a abundantemente e comprimindo-a, formando, assim, uma cavidade, cujo tamanho vai sendo aumentado para acomodar seu corpo à medida que estas vão crescendo (Souza et al., 1983).

Em geral, as ninfas alojam-se junto à raiz principal, mas podem também ser encontradas sugando as raízes secundárias. Concentram-se principalmente até 35 cm abaixo da superfície, mas há relatos de ninfas encontradas a 1 m de profundidade (Souza et al., 1983).

2.5 Controle da cigarra-do-cafeeiro

2.5.1 Controle cultural

Consiste na eliminação de cafezais infestados e na realização de rotação de culturas, de maneira que novos cafezais só voltem a ser plantados na área após um período de dois a três anos. Quando são implantados quebra-ventos deve-se tomar cuidado com espécies que sejam hospedeiras do inseto como a grevílea (Reis et al., 2002).

2.5.2 Controle mecânico

Consiste na catação manual das ninfas imóveis e insetos adultos das cigarras. Entretanto, esse método é inviável devido à curta duração da fase de ninfa imóvel, dificuldade de captura de adultos, extensão das lavouras atacadas e mão-de-obra dispendiosa (Reis et al., 2002).

2.5.3 Controle químico

Tem sido o método mais usado e também o que tem apresentado melhores resultados. É feito com o intuito de controlar as ninfas móveis no solo. Os inseticidas mais eficazes têm sido os sistêmicos aplicados via solo, que devem ser aplicados durante o período chuvoso do ano, por meio da incorporação do produto em sulcos no solo, se granulados, próximos ao caule, para maior eficácia (Reis & Souza, 1998). Segundo estudos realizados por esses autores, a aplicação de inseticidas por dois anos seguidos pode reduzir o número de ninfas abaixo do nível de controle (35 ninfas de *Q. gigas*/cova).

Souza et al. (1983) citam que para maior eficácia do controle químico, deve-se realizar a aplicação no solo entre 25 de outubro e 15 de dezembro em área total. Os produtos indicados estão listados na Tabela 1.

Martinelli et al. (1998) avaliaram modos de aplicação de inseticidas granulados sistêmicos e sua eficiência para o controle de *Q. gigas* e *D. drewseni*.

Conforme os autores, a forma de aplicação que obteve melhor desempenho na redução do número de ninfas foi a aplicação costal manual. Entre os produtos avaliados, terbufós foi o que apresentou melhor resultado.

Segundo Martinelli et al. (2000), o método de aplicação pode influenciar na eficácia do produto. Quando aplicadas de maneira adequada, dosagens menores que a recomendada pelo fabricante também foram eficientes no controle das cigarras do cafeeiro. Os autores avaliaram doses até 30% abaixo da recomendada, alcançando os mesmos índices de controle da dose total.

TABELA 1 – Principais produtos, dosagens, classes toxicológicas e períodos de carência de inseticidas para o controle de cigarras-do-cafeeiro.

Nome comercial	Ingrediente ativo	Dose	Classe toxic.	Carência
Actara 10 GR	Thiamethoxam	40000 g/ha	III	90 dias
Actara 250 WG	Thiamethoxam	1400 g/ha	III	90 dias
Counter 150 G	Terbuphós	12 g/cova	I	90 dias
Counter 50 G	Terbuphós	35 g/cova	I	90 dias
Diafuran 50	Carbofuran	100 g/cova	I	90 dias
Furadan 50 GR	Carbofuran	60 g/cova	III	90 dias
Granutox	Phorate	90 g/planta	I	90 dias
Rhocap	Ethoprophos	100 g/cova	I	28 dias
Temik	Aldicarbe	11 g/cova	I	90 dias
Verdadero 20 GR	Thiamethoxam cyproconazole	25000 g/ha	IV	90 dias
Verdadero 600 WG	Thiamethoxam cyproconazole	850 g/ha	III	90 dias

Fonte: Compêndio de Defensivos Agrícolas (2005); Receita Agrowin (2006).

2.5.4 Controle biológico

Heinrich (1967) verificou que os inimigos naturais mais comuns são *tatus*, que predam as ninfas, e o gavião *Miluago chimchima*, que preda adultos, na época considerado o inimigo natural mais importante.

Entretanto, é com fungos entomopatogênicos que há mais trabalhos a respeito do controle biológico da cigarra. Soper et al. (1976) referem-se ao fungo entomopatogênico *Massospora cicadina* como um dos mais importantes agentes de controle biológico de cigarras do cafeeiro. Esses autores verificaram que o ciclo desse fungo em cigarras desenvolve-se da seguinte forma: ninfas maduras se tornam infectadas por esporos de repouso encontrados no solo, emergem e transformam-se em adultos e os fungos desenvolvem uma massa conidial em poucos dias e contaminam outros adultos. As cigarras infestadas acima do solo por conídios desenvolvem esporos de repouso, que são levados para o solo quando o inseto morre. O tempo necessário para o desenvolvimento do fungo é de 6 a 15 dias.

Segundo White & Lloyd (1983), o fungo *M. cicadina* não invade o tórax ou a cabeça, mas somente o abdome, nos escleritos terminais que caem e expõem uma massa de conídios infectivos. O inseto, porém, continua vivo e ao voar entre outros indivíduos, durante o vôo nupcial, transmite a doença. De acordo com White et al. (1983), uma cigarra contaminada por *Massospora* sp. tem a mesma capacidade de vôo de uma cigarra sadia.

De acordo com Alves (1998) o fungo *Massospora* spp. é um dos principais agentes de controle microbiano de cigarras. Esse fungo possui conídios alongados e multinucleados (um a seis núcleos) e esporos de resistência característicos (zigósporos), com superfície reticulada, formados a partir de corpos hifais no abdome do hospedeiro. Nas cigarras, causa a chamada gangrena seca. Os clamidósporos podem sobreviver por até 17 anos. No Brasil, as principais espécies já relatadas são: *Massospora spinosa* atacando *Q. gigas*,

Massospora dorisiana sobre *Dorisiana semilata*, *Massospora carineta* em *Carineta* sp. e *Massospora diminuta* em *Cicada* sp.

Souza et al. (1983) relatam a patogenicidade do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre ninfas grandes de *Q. gigas*, criadas em mudas de cafeeiros. Após 30 dias, as ninfas estavam mortas e cobertas pelo micélio do fungo.

2.5.4.1 Controle microbiano

O controle microbiano vem alcançando espaço no controle de insetos-praga, o que pode ser constatado por meio dos vários trabalhos publicados com fungos, bactérias, vírus e nematóides. As razões desse fato são as vantagens destes agentes biológicos, os quais são específicos e seletivos; possuem fácil multiplicação e produção; podem ser associado a outros métodos de controle; as aplicações podem ser realizadas com máquinas convencionais utilizadas para produtos fitossanitários; não poluem e nem causam toxicidade no ambiente e em animais superiores. Enfim, uma série de vantagens que os tornam mais evidentes para implantação em programas de manejo integrado de pragas (Alves, 1998).

Trabalhos com nematóides entomopatogênicos estão sendo alvo de muitos pesquisadores por estes serem mais eficientes do que outros entomopatógenos.

2.5.4.1.1 Nematóides entomopatogênicos

Alguns dos motivos destes entomopatógenos terem um futuro promissor no controle biológico são as diversas vantagens que apresentam: (1) resistem a vários defensivos agrícolas; (2) possuem ação sinérgica perante alguns produtos fitossanitários; (3) não causam danos à plantas cultivadas; e (4) podem ser aplicados em pastagens, pois não são nocivos a animais superiores, etc. (Ferraz, 1998; Koppenhofer et al., 2000; Koppenhofer et al., 2002).

Atualmente, poucos são os trabalhos com nematóides

entomopatogênicos no Brasil, mas o interesse por essa linha de pesquisa tem crescido, principalmente devido a algumas iniciativas de grupos de pesquisadores na promoção de “workshops”, encontros e cursos e ao potencial de utilização de espécies e/ou raças autóctones ainda desconhecidas no Brasil (Grewal et al., 2001).

Apesar da evidência da eficácia dos nematóides entomopatogênicos no controle de insetos-praga de solo, alguns outros fatores devem ser levados em consideração, como a formulação, o armazenamento e o comportamento de busca destes entomopatógenos.

2.5.4.1.1 Aspectos biológicos

Nematóides entomopatogênicos possuem simbiose com bactérias, sendo que os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* vivem associados com bactérias do gênero *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente. Estas bactérias não formam esporos e, portanto, não apresentam estágios resistentes em condições ambientais, sendo encontradas somente em nematóides infectantes ou em insetos parasitados pelos mesmos (Ferraz, 1998).

Nesta simbiose os nematóides fornecem proteção às bactérias enquanto ainda não introduzidas no corpo do inseto e atuam como transportadores ou vetores da bactéria de um cadáver para a hemocele de um inseto vivo.

Os nematóides penetram em seus hospedeiros através de aberturas naturais como espiráculos, boca e ânus. Assim, os nematóides passam para a hemocele do inseto, na qual liberam as bactérias pelo ânus, multiplicando-se rapidamente, causando septicemia e posterior morte de seu hospedeiro (Ferraz, 1998).

O ciclo para as espécies de *Steinernema* ocorre da seguinte forma: juvenis infectantes (juvenis de terceiro ínstar – J₃) penetram no inseto através de

aberturas naturais e passam rapidamente para a hemocele, onde liberam a bactéria pelo ânus. Após um período muito curto, as bactérias causam septicemia no hospedeiro, levando-o à morte. O cadáver fica totalmente banhado de nematóides e origina-se um local rico em nutrientes, constituído de tecidos do inseto. Assim, os nematóides se alimentam e originam a primeira geração dentro no cadáver passando para juvenis de último ínstar (J_4) e formando os adultos da primeira geração. Os descendentes destes ainda usufruem do rico alimento e são capazes de originar outras gerações. Depois da segunda geração começa o surgimento de juvenis (J_1), que se alimentam dos resíduos do cadáver, praticamente decomposto. Ao cessar a alimentação, estes migram para o ambiente externo (provavelmente solo), passando para juvenis (J_2) contendo a bactéria em sua forma primária e acumulada no intestino. Nesta fase, as cavidades da boca e ânus fecham-se e o nematóide pára de se alimentar, passando para juvenis de terceiro ínstar (J_3), entre os quais procuram um novo hospedeiro para recomeçar o ciclo (Figura 1) (Ferraz, 1998; Boemare, 2002; Adams et al., 2006).

Para espécies de *Heterorhabditis*, o ciclo é bastante semelhante, porém a diferença está na primeira geração, em que as fêmeas são hermafroditas, surgindo machos e fêmeas anfimíticas na segunda geração, podendo também ocorrer nas próximas gerações do nematóide (Figura 1) (Ferraz, 1998; Boemare, 2002).

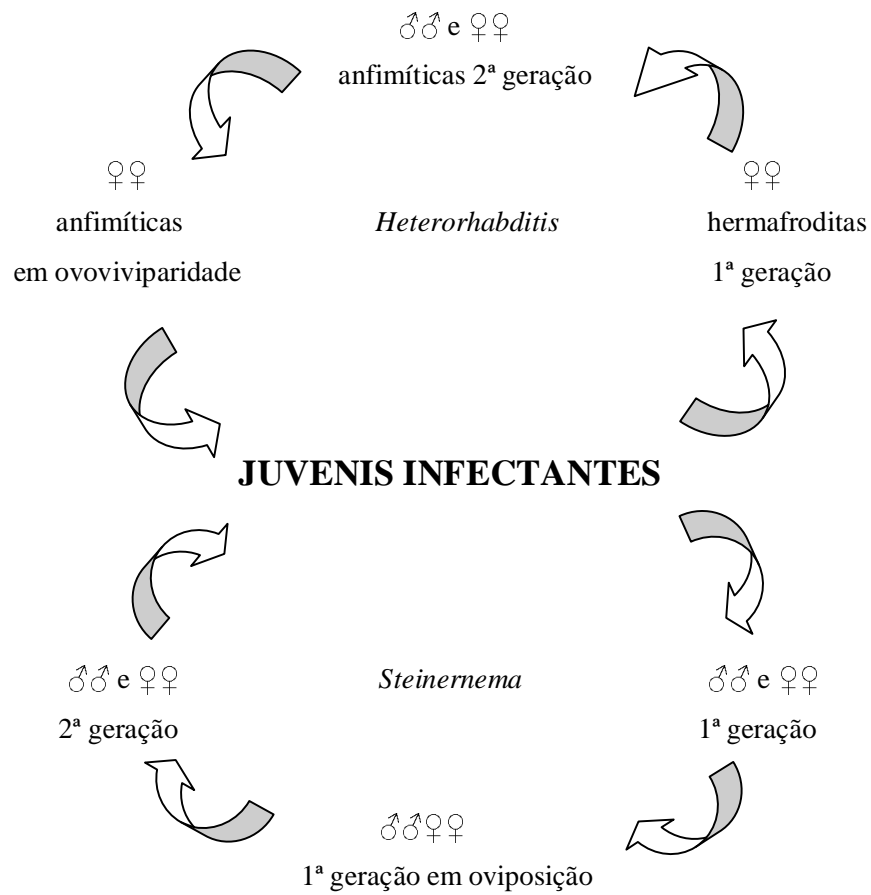


FIGURA 1 – Ciclo de vida de nematóides entomopatogênicos (adaptado de Ferraz, 1998).

2.5.4.1.1.2 Comportamento de busca

Outro fator que deve ser levado em consideração na utilização de nematóides entomopatogênicos no controle de insetos-praga é o seu hábito de busca de hospedeiros, que pode ser “ambusher” ou “cruiser”. No primeiro, o nematóide permanece fixo em uma partícula de solo ou de um substrato qualquer, esperando que o hospedeiro passe pelo local; no segundo, o nematóide se locomove através do filme d’água no solo, em busca do hospedeiro. Nematóides com comportamento “cruiser” que têm a capacidade de se deslocar, aumentam as chances de entrar em contato com o hospedeiro e conseqüentemente, a eficiência de controle (Lewis, 2002; Lewis et al., 2006). Entre estes dois comportamentos há o intermediário, em que o nematóide pode atuar tanto como “ambusher” quanto “cruiser” (Lewis, 2002).

Wennemann et al. (2004) observaram a capacidade de deslocamento do nematóide *Steinernema carpocapsae*. Segundo eles, os resultados demonstraram que o deslocamento foi maior no sentido vertical que horizontal.

2.5.4.1.1.3 Importância

Não foram encontrados relatos da ocorrência de nematóides entomopatogênicos em cigarras na literatura, entretanto, para outras pragas a literatura é bastante abundante. Poucos são os trabalhos relacionados a insetos da Ordem Hemiptera, porém, Leite et al. (2005) avaliaram a patogenicidade de alguns nematóides contra cigarrinhas da raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.), em laboratório e experimentos de campo.

Geden et al. (1987) avaliaram a eficiência de *Steinernema feltiae* no controle do cascudinho de aviário (*Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1979)) (Coleoptera: Tenebrionidae).

Cappaert & Koppenhöfer (2003) avaliaram uma nova espécie de nematóide (*Steinernema scarabaei*) contra o besouro *Rhizotrogus majalis*

(Razoumowsky) e o besouro oriental *Popillia japonica* Newman, em bioensaios e ensaios em casa-de-vegetação e campo. *S. scarabaei* causou grande mortalidade e virulência aos besouros, superando a mortalidade de *H. bacteriophora* (também testado). Mortalidades altas também foram observadas em casa-de-vegetação, superiores às obtidas por *H. bacteriophora* e *S. glaseri*.

Campbell et al. (1995) realizaram um estudo sobre dinâmica populacional de dois nematóides (*S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*) em gramado e o efeito sobre populações do besouro oriental (*P. japonica*), larvas e outros artrópodes associados com a superfície do solo. Ambos os nematóides foram recapturados, porém *S. carpocapsae* foi mais prevalente do que *H. bacteriophora*.

Stuart et al. (1997) avaliaram a suscetibilidade de *Dysmicoccus vacinii* Miller & Polavarapu (Hemiptera: Pseudococcidae) a diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos. Segundo eles, os isolados do gênero *Heterorhabditis* foram mais eficientes do que os do gênero *Steinernema* no controle da cochonilha.

Fêmeas adultas da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro (*Dysmicoccus texensis*) também são suscetíveis a nematóides entomopatogênicos. Testes de seleção de isolados indicaram que *S. carpocapsae* causou mortalidade em concentrações baixas (25 JI's/ inseto) (Andaló et al., 2004). De acordo com os mesmos autores, nematóides entomopatogênicos foram mais virulentos à cochonilha do que fungos entomopatogênicos. Tal fato pode ser explicado pelo comportamento destes dois entomopatógenos, pois enquanto os esporos do fungo são imóveis, os nematóides possuem a capacidade de se deslocar em busca do hospedeiro. Além disso, os nematóides possuem ação simbiote com bactérias, que causam a morte rápida do hospedeiro, ao contrário dos fungos.

Larvas de Lepidoptera também são suscetíveis a nematóides entomopatogênicos. Larvas de *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera:

Pyralidae) atacam as folhas e frutos de pistacheiras. Os frutos atacados acabam caindo, levando a sérias perdas na produção. Entretanto, é nesta fase que é possível o controle do inseto, pois as larvas abrigam-se no interior dos frutos caídos no final do seu desenvolvimento, favorecendo a ação dos nematóides. Os autores realizaram testes em laboratório, com frutos infestados, obtendo mortalidade do inseto, com concentração de 100.000 JI's/m² (*S. carpocapsae*) (Siegel et al., 2004).

Jagdale et al. (2004) avaliaram o efeito da aplicação de *S. feltiae* sobre larvas do díptero *Bradysia coprophila* (Lintner) (Sciaridae), conhecido popularmente como “fungus gnat”, em condições de casa-de-vegetação. Segundo os autores, a população do inseto foi reduzida significativamente quando *S. feltiae* foi aplicado na concentração de 2,5x10⁹ JI's/ha.

A fase jovem de *Frankliniella occidentalis* (Pergande 1895) (Thysanoptera: Thripidae) permanece no solo durante as fases de pré-pupa e pupa. Ebssa et al. (2004) avaliaram a suscetibilidade deste inseto nestas fases a diversos isolados de nematóides entomopatogênicos. De maneira geral, os heterorhabditídeos foram mais virulentos que os esteinernematídeos, *H. indica* causou mortalidade significativa quando aplicado na concentração de 100 JI's/cm².

Trabalhos mencionam aplicações via foliar para nematóides, como o realizado por Willian & Walters (2000), que utilizaram esta metodologia para controle de insetos sobre as folhas de vegetais com o nematóide *S. feltiae*, assim como Schroer & Ehlers (2005) também utilizaram a técnica de aplicação foliar para a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758).

Nematóides entomopatogênicos do gênero *Neosteinerinema* (especificamente *N. longicurvicauda*) já foram isolados de cupins [*Reticulitermes flavipes* (Kollar)], sendo este nematóide isolado deste termitídeo e somente encontrado no mesmo (Nguyen, 2002).

Além de contribuir para o controle de alguns insetos-praga, há registros de que os nematóides controlam outras pragas, como moluscos do gênero *Deroceras* sp. (Lacey et al., 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção de isolados de nematóides entomopatogênicos

Os isolados utilizados foram obtidos do Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Após a produção, os isolados foram mantidos em frascos Erlenmeyer em B.O.D. à temperatura de 16°C, em suspensão aquosa.

Quando necessário, a multiplicação foi feita pelo método *in vivo*, em larvas do último ínstar de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) provenientes do mesmo laboratório.

3.1.1 Manutenção de *Galleria mellonella*

Para o preparo da dieta (Tabela 2) foram misturados todos os ingredientes. A dieta foi colocada sobre folha de papel, dentro de potes plásticos (14 cm x 14 cm x 05 cm) (Figura 2A) e sobre esse substrato foram colocadas posturas realizadas pelos adultos, permitindo que as larvas, ao eclodirem, encontrassem facilmente o alimento. Após a passagem das larvas para o estágio pupal, estas foram transferidas para os frascos de vidro (11 cm x 17 cm) (Figura 2B), contendo, em seu interior papel liso sanfonado para postura.

Completando o ciclo da criação, as posturas foram retiradas e transferidas para os potes plásticos (22 cm x 22 cm x 10 cm) (Figura 2C) com dieta, iniciando nova geração de larvas. A criação foi mantida em sala climatizada a 25±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 12 horas, e a manutenção foi realizada em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, a coleta de posturas e a adição de dieta.

TABELA 2 – Ingredientes para dieta artificial de *Galleria mellonella*.

Ingredientes	Quantidade (g)
Farelo de trigo	200
Farinha de trigo	200
Gérmen de trigo	200
Leite em pó desnatado	400
Levedura de cerveja	120
Glicerina	130
Mel	240
Água destilada	20mL (caso necessário)

Fonte: *Dolinski, 2005.

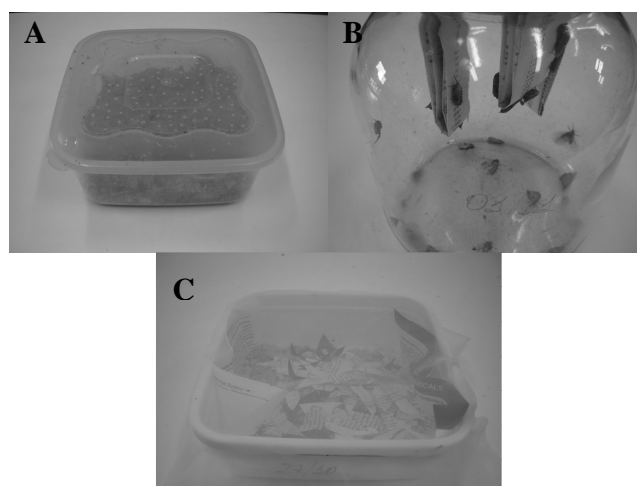


FIGURA 2 – A – Criação de lagartas; B – Adultos; e C – Ovos de *Galleria mellonella*.

* Cláudia Dolinski. Comunicação pessoal, Campos dos Goytacazes, Universidade Estadual do Norte Fluminense, RJ, 08/09/2005.

3.1.2 Manutenção dos nematóides

Para a produção *in vivo*, 10 larvas de 5º instar de *G. mellonella* foram colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo papel filtro duplo, inoculadas com aproximadamente 20 Juvenis Infectantes (JI's) /larva (Figura 3A) e mantidas em B.O.D. $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Após um período de dois dias, as larvas mortas foram retiradas e colocadas em câmara seca (placa de Petri com papel filtro) (Figura 3B), na qual permaneceram por cinco dias, também em B.O.D., para desenvolvimento dos nematóides e observação da sintomatologia característica da infecção. As larvas ficaram ligeiramente encurvadas e de coloração vermelha acentuada para os nematóides do gênero *Heterorhabditis* e de coloração marrom para nematóides do gênero *Steinernema*.

Em seguida, as larvas foram colocadas em armadilhas de White (Figura 3C). Estas consistem de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro com um pedaço de material acrílico fixado no centro, sobre o qual foi colocada uma folha de papel filtro, na qual foram depositadas as larvas mortas e já incubadas por cinco dias em câmara seca. A armadilha recebeu ainda cerca de 2mL de água destilada. A umidade estimulou a saída dos nematóides, que ficaram suspensos na água, de onde foram recolhidos diariamente durante cinco dias (Dutky, 1964).



FIGURA 3 – D – Lagartas inoculadas; E – em câmara seca; e F – em armadilha de White.

3.2 Coleta de ninfas de cigarra-do-cafeeiro

A coleta das ninfas foi realizada minuciosamente, para que houvesse o mínimo de dano às ninfas ao saírem da câmara. Optou-se por limpar ao redor da planta e quando se observaram os orifícios, deixou-se que a própria ninfa saísse da câmara. Desta forma, conseguiu-se que as ninfas não fossem capturadas à força, evitando que quando retiradas, fossem machucadas em alguma parte do corpo.

Após a escavação, cada ninfa coletada foi colocada dentro do recipiente (saco plástico para mudas) com a muda (mudas de um ano de idade) de cafeeiro cultivar Catucaí. Foi retirado um pouco da terra contido no recipiente, colocando-se a ninfa próxima das raízes e com a cabeça voltada para o topo. Em seguida adicionou-se o restante da terra até o preenchimento do recipiente para que a ninfa ficasse soterrada.

Para todos os experimentos foi realizada uma programação de coleta de insetos, sendo realizadas as montagens dos experimentos um dia depois da coleta.

3.2.1 Metodologia de manutenção de ninfas de cigarras

Foi realizada coleta de ninfas de cigarras em cafezal infestado da Fazenda Experimental de São Sebastião do Paraíso, da EPAMIG no município de mesmo nome, no sul do Estado de Minas Gerais, as quais foram distribuídas em mudas de cafeeiro contendo solo e mantidas em casa-de-vegetação, permitindo que os insetos permanecessem no escuro. Foram utilizadas 30 mudas de cafeeiro, com uma ninfa/muda. Depois de sete dias avaliaram-se as mudas, observando-se a sobrevivência das ninfas. Assim, foi contado o número de ninfas mortas para uma estimativa da sobrevivência. Anterior a este sucesso, foram realizados vários experimentos com o intuito de manter as ninfas de cigarras vivas por um tempo mínimo de cinco dias em placas de Petri e

recipientes semelhantes, porém todas as tentativas foram frustradas. Metodologias futuras deverão ser testadas com o intuito de manter as ninfas por um maior tempo, sempre tendo o cuidado indispensável na coleta destes insetos.

3.2.2 Efeito de concentrações de *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae*

Para realização dos testes de patogenicidade em condições de laboratório, as ninfas móveis foram coletadas no campo, num cafezal infestado, de uma propriedade sugerida pelo técnico da Emater do município de Coqueiral (através de escavações próximas ao colo de plantas infestadas) e transportadas até o laboratório em sacos plásticos com mudas de cafeeiro, contendo o mesmo solo de que foram coletadas. No laboratório os insetos foram triados e individualizados, colocando-se uma ninfa por muda de cafeeiro.

Para determinação da concentração a ser utilizada na seleção de isolados, foi realizado um teste com uma espécie de cada gênero (*Heterorhabditis* e *Steinernema*), ambas aplicadas em quatro concentrações: 300, 600, 900 e 1200 JI's/muda, suspensos em 1 mL de água destilada.

As mudas foram mantidas em salas climatizadas a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e no escuro. Os insetos mortos foram imersos em solução de álcool a 70%, hipoclorito a 3% e água destilada e transferidos para câmara seca para observação da sintomatologia após dois dias. Após esse período, os insetos foram dissecados com auxílio de bisturi e agulha histológica para confirmação da mortalidade.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com nove tratamentos (quatro concentrações de cada gênero e a testemunha), que foram repetidos quatro vezes, totalizando 36 parcelas.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

3.3 Seleção de isolados

3.3.1 Testes de virulência

Foram utilizados 13 isolados para os testes de seleção, os quais pertencem aos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* (oito e cinco, respectivamente) e foram obtidos junto ao banco de entomopatógenos do laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia – UFLA (Tabela 3).

Os isolados foram aplicados na concentração de 300 juvenis infectantes, em suspensão em 1 mL de água destilada. A unidade experimental (parcela) foi uma muda de cafeeiro contendo um inseto e cada tratamento foi repetido quatro vezes.

TABELA 3 – Isolados e origem dos nematóides entomopatogênicos utilizados nos experimentos.

Isolados	Local de origem
<i>Steinernema (=anomali) arenarium</i>	Voronezh/ Rússia
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	Carolina do Norte/ USA
<i>Steinernema feltiae</i> Sn	Flórida/ USA
<i>Steinernema riobrave</i> 355	Texas/ USA
<i>Steinernema glaseri</i> NA	Flórida/ USA
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	New Jersey/ USA
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	New Jersey/ USA
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 4)	Lavras-MG/ Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3.1)	Lavras-MG/ Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3)	Lavras-MG/ Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 01)	Benjamin Constant-AM/ Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 02)	Benjamin Constant-AM/ Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 05)	Benjamin Constant-AM/ Brasil

A avaliação da virulência foi feita através da contagem de insetos mortos, após três e seis dias da aplicação. As mudas foram mantidas em sala

climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70\pm 10\%$ e no escuro. Os insetos mortos foram imersos em solução de álcool a 70%, hipoclorito a 3% e água destilada e transferidos para câmara seca para observação da sintomatologia após dois dias. Após esse período, os insetos foram dissecados com auxílio de bisturi e agulha histológica para confirmação da mortalidade.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 14 tratamentos (13 isolados + testemunha). Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P\leq 0,05$), por meio do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

3.4 Avaliação de concentrações

Foram utilizados dois dos 13 isolados para determinar a concentração a ser utilizada nos próximos experimentos. Foi utilizado um isolado de *Heterorhabditis* sp. e um isolado de *Steinernema* sp., ambos obtidos junto ao banco de entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia - UFLA.

Os isolados foram aplicados na concentração de 0, 50, 100, 150, 200, 300, 400 e 500 JI's/mL, em suspensão em 1 mL de água destilada. A unidade experimental (parcela) foi de uma muda de cafeeiro contendo um inseto e cada tratamento foi repetido quatro vezes.

O experimento foi realizado em duas etapas, montadas em dias diferentes, sendo que cada etapa constituiu de um isolado, oito tratamentos (sete concentrações + testemunha) e quatro repetições.

A avaliação foi feita através da contagem de insetos mortos, após três e seis dias da aplicação. As mudas foram mantidas em sala climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70\pm 10\%$ e no escuro. Os insetos mortos foram imersos em solução de álcool a 70%, hipoclorito a 3% e água destilada e transferidos para câmara seca para observação da sintomatologia. Após cinco dias, os insetos foram dissecados

com auxílio de bisturi e agulha histológica para confirmação da mortalidade.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos (sete concentrações + testemunha) para cada nematóide. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e a uma análise de regressão pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

3.5 Avaliação do deslocamento dos nematóides

Na avaliação do deslocamento foram utilizados sete cilindros de cano de PVC de 5 cm de altura e 15 cm de diâmetro, com tela plástica colada em uma das extremidades. As ninfas móveis foram coletadas no campo (por meio de escavação próxima ao colo de plantas infestadas) e transportadas até o laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia – UFLA, em mudas de cafeeiro contendo solo coletado no local. Em cada cilindro foram colocadas raízes, os quais foram preenchidos com solo, colocando-se três insetos (ninfas móveis) acomodados em fendas superficiais em seis dos sete cilindros de cano. Estes foram, então, empilhadas até uma altura de 35 cm (sete cilindros) e fixados com fita adesiva para evitar que caíssem, formando uma coluna, porém, o último cilindro colocado continha somente solo. A profundidade foi contada a partir do cilindro de baixo. A parcela experimental consistiu, portanto, de uma coluna de 35 cm de altura, subdividida em cilindros [alturas: 5, 10, 15, 20, 25, 30 cm com insetos e uma última fatia somente com solo (35 cm)] (Figura 4).

Os isolados utilizados foram um *Heterorhabditis* sp. e um *Steinernema* sp., aplicados na concentração de 4,4 JI's/cm². Os nematóides foram aplicados no topo da coluna, em suspensão de 100 mL de água destilada.



FIGURA 4 – Colunas de solo montadas com cilindros de PVC.

A avaliação foi realizada cinco dias após a aplicação, quando cada cilindro da coluna foi verificado e feito a contagem dos insetos mortos. Estes foram imersos em solução de álcool a 70%, hipoclorito a 3% e água destilada e transferidos para câmara seca para observação da sintomatologia. Após cinco dias, os insetos foram dissecados com auxílio de bisturi e agulha histológica para confirmação da mortalidade.

O delineamento foi inteiramente casualizado com seis tratamentos (profundidades), dois nematóides (dois isolados + testemunha) e quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) ou submetidas à análise de regressão pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Metodologia de manutenção de ninfas

Foi avaliada cada muda de cafeeiro, retirada a ninfa e analisado seu estado de sobrevivência. Ao se retirar a muda do saco plástico visualizou-se a mortalidade ou sobrevivência da ninfa. Ao final da avaliação, depois de sete dias (período necessário para a manutenção dos experimentos futuros) foi observada sobrevivência de 80%, porcentagem suficiente para que fosse possível manter as ninfas vivas durante a execução dos experimentos.

4.2 Determinação da patogenicidade dos nematóides

Foi realizado um teste para a determinação da concentração a ser utilizada nos demais experimentos contra ninfas de cigarra. Não houve diferença entre as concentrações testadas, ou seja, os isolados *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema carpocapsae* não diferiram da testemunha durante a primeira avaliação (três dias após) (Tabela 4). Na segunda avaliação (seis dias após), observou-se que *H. bacteriophora* causou uma mortalidade maior, porém, durante a avaliação da mortalidade confirmada não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5). Desta forma, optou-se por utilizar a menor concentração. Assim, o valor de 300 JI's/ inseto foi base para começar os outros experimentos e instalar o experimento de seleção de isolados.

TABELA 4 – Porcentagem de mortalidade total e confirmada (\pm EP) de ninfas de cigarra-do-cafeeiro ao terceiro dia, causada por nematóides entomopatogênicos em diferentes concentrações.

Isolados	Mortalidade total¹ %	Mortalidade confirmada %
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [300] ²	12,50 \pm 7,22 a	6,25 \pm 6,25 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [600]	6,25 \pm 6,25 a	0 \pm 0,00 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [900]	18,75 \pm 11,97 a	12,50 \pm 7,22 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [1200]	37,50 \pm 7,22 a	12,50 \pm 7,22 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [300]	25 \pm 10,21 a	12,50 \pm 7,22 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [600]	43,75 \pm 6,25 a	25 \pm 14,43 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [900]	25 \pm 10,21 a	0 \pm 0,00 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [1200]	37,50 \pm 12,50 a	12,50 \pm 7,22 a
Testemunha	12,50 \pm 7,22 a	0 \pm 0,00 a

¹ Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey (P \leq 0,05)

² Número de juvenis infectantes por 1mL de suspensão/ inseto nas colunas.

TABELA 5 – Porcentagem de mortalidade total e confirmada (\pm EP) de ninfas de cigarra-do-cafeeiro ao sexto dia, causada por nematóides entomopatogênicos em diferentes concentrações.

Isolados	Mortalidade total¹ %	Mortalidade confirmada %
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [300] ²	12,50 \pm 7,22 a	6,25 \pm 6,25 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [600]	50 \pm 10,21 ab	25 \pm 0,00 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [900]	43,75 \pm 6,25 ab	25 \pm 10,21 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> [1200]	68,75 \pm 11,97 b	37,50 \pm 7,22 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [300]	31,25 \pm 6,25 ab	12,50 \pm 7,22 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [600]	43,75 \pm 6,25 ab	25 \pm 14,43 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [900]	43,75 \pm 11,97 ab	12,50 \pm 7,22 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> [1200]	56,25 \pm 11,97 ab	25 \pm 17,68 a
Testemunha	18,75 \pm 11,97 ab	0 \pm 0,00 a

¹ Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey (P \leq 0,05)

² Número de juvenis infectantes por 1mL de suspensão/ inseto nas colunas.

Na avaliação com três dias, verificou-se que todos os isolados testados causaram mortalidade confirmada nas ninfas, exceto *Steinernema feltiae* (Tabela 6). Em trabalhos realizados por Dillon et al. (2007), utilizando três espécies de nematóides para controlar o gorgulho do Pinus, *Hylobius abietis* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae), *S. feltiae* foi o nematóide entomopatogênico que menos causou mortalidade (51-56%). Entretanto, Andaló et al. (2004), ao realizarem seleção de nematóides para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro (*D. texensis*), puderam observar que *S. feltiae* foi um dos nematóides que mais se destacou, atingindo mortalidade confirmada de 78% na menor concentração utilizada. Porém, esta porcentagem diminuiu quando observada em maior concentração. Geden et al. (1987) encontraram, também, alta mortalidade (87%) com *S. feltiae* para o controle de *A. diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae).

Durante a avaliação dos dados no terceiro dia de inoculação, houve destaque apenas para o nematóide *Heterorhabditis* sp. (JPM 4), que se diferenciou da testemunha e dos outros tratamentos (Tabela 6).

Observou-se uma grande diferença na mortalidade para os nematóides *Heterorhabditis* sp. (JPM 4), *Heterorhabditis* sp. (HP88) e *Steinernema riobrave* quando analisados após seis dias de inoculação (Tabela 7). Com estes resultados, selecionou-se um nematóide de cada gênero para os experimentos seqüentes, dando continuidade com os isolados *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) e *S. riobrave*.

Há diversos trabalhos que também comprovaram eficiência e sucesso de *S. riobrave*, tanto em bioensaios como em ensaios de campo. Ramos-Rodríguez et al. (2007) puderam observar a alta virulência deste nematóide contra insetos-praga de produtos armazenados, como *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), sendo que a sobrevivência deste inseto nas fases de larva, pupa e adulto foi reduzida severamente pelo nematóide entomopatogênico.

Considerando que a mortalidade confirmada do melhor nematóide foi de

50%, diferenciando-se da testemunha e dos demais nematóides ao sexto dia de avaliação (Tabela 7), demonstra-se que mais testes de seleção com nematóides devem ser realizados com o intuito de selecionar isolados mais virulentos às ninfas de cigarra.

TABELA 6 – Porcentagem de mortalidade total e confirmada de ninfas de cigarra-do-cafeeiro, ao terceiro dia, causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos.

Isolados	Mortalidade total ¹ %	Mortalidade confirmada %
<i>Steinernema (=anomali) arenarium</i>	20±8,16 a	10±5,77 ab
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	25±9,57 a	10±5,77 ab
<i>Steinernema feltiae</i> Sn	15±5,00 a	0±0,00 a
<i>Steinernema riobrave</i> 355	40±8,16 a	15±9,57 ab
<i>Steinernema glaseri</i> NA	10±5,77 a	5±5,00 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	25±9,57 a	15±9,57 ab
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	40±8,16 a	10±5,77 ab
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 4)	40±14,14 a	40±14,14 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3.1)	25±12,58 a	10±5,77 ab
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3)	5±5,00 a	5±5,00 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 01)	10±5,77 a	10±5,77 ab
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 02)	30±10 a	10±5,77 ab
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 05)	5±5,00 a	5±5,00 a
Testemunha	5±5,00 a	0±0,00 a

¹ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste Tukey (P≤0,05).

TABELA 7 – Porcentagem de mortalidade total e confirmada de ninfas de cigarra-do-cafeeiro, ao sexto dia, causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos.

Isolados	Mortalidade total¹ %	Mortalidade confirmada %
<i>Steinernema (=anomali) arenarium</i>	25±9,57 ab	15±9,57 a
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	40±8,16 abcd	20±8,16 a
<i>Steinernema feltiae</i> Sn	35±5,00 abc	0±0,00 a
<i>Steinernema riobrave</i> 355	55±15,00 cd	30±5,77 b
<i>Steinernema glaseri</i> NA	20±8,16 a	10±5,77 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	40±8,16 abcd	20±11,55 a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	55±15,00 bcd	25±15,00 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 4)	55±15,00 d	50±17,32 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3.1)	35±9,57 abc	15±5,00 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (JPM 3)	15±9,57 a	10±5,77 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 01)	10±5,77 a	10±5,77 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 02)	35±9,57 abc	10±5,77 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC 05)	20±14,14 a	20±14,14 a
Testemunha	5±5,00 a	0±0,00 a

¹ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste Tukey (P≤0,05).

Há, na literatura, dados que evidenciam que espécies de insetos são mais suscetíveis aos heterorhabditídeos do que aos steinernematídeos (van Tol & Raupp, 2006), o que pode explicar o fato de *S. feltiae* não ter sido patogênico às ninfas das cigarras. Há, inclusive, diferenciação da suscetibilidade a determinados insetos dentro do mesmo gênero, ou seja, um heterorhabditídeo pode ser mais virulento do que outra espécie deste mesmo gênero (van Tol et al., 2004; Stuart et al., 2006). Isso pode explicar o motivo do insucesso de *S. feltiae* em relação às outras espécies do mesmo gênero.

Há alguns fatores que podem influenciar na virulência dos nematóides de mesma espécie, como a localidade de origem do isolado (Stuart et al., 2006). Quando se comparam espécies nativas e específicas a determinado hospedeiro

com espécies exóticas, observa-se que espécies autóctones possuem uma capacidade muito maior de causar mortalidade (Dillon et al., 2006).

Assim, observou-se que os isolados nativos foram mais virulentos às ninfas quando comparados com isolados exóticos. Isso muito provavelmente está intimamente relacionado com a especificidade do nematóide, o qual já está adaptado às condições climáticas, podendo-se obter maior sucesso no controle que um isolado que precise deste tempo para adaptação ao hospedeiro ao qual está sendo inoculado.

Quanto à morfologia do nematóide, é importante frisar que o seu tamanho pode influenciar a penetração no hospedeiro. Segundo Adams & Nguyen (2002), a maioria dos heterorhabditídeos possuem tamanho menor do que o dos steinernematídeos, o que pode explicar o sucesso do nematóide *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) (tamanho menor) em relação ao *S. riobrave* (622 μm).

Assim sendo, um menor tamanho permite uma mobilidade mais fácil do nematóide, considerando que um exemplar “cruiser” favorece para que o mesmo alcance mais facilmente em seu hospedeiro, principalmente se considerarmos uma ninfa de cigarra, a qual possui estruturas maiores, podendo tornar-se mais suscetível a estes nematóides (Adams & Nguyen, 2002).

Segundo Lewis et al. (2006), os nematóides entomopatogênicos podem penetrar na hemocele dos seus hospedeiros, de três formas: (1) pela cutícula do inseto; (2) pelas paredes do intestino, através de boca e ânus ou (3) pela cutícula traqueal, através dos espiráculos.

Outra observação durante as avaliações de mortalidade confirmada foi de que muitos dos isolados nativos, principalmente heterorhabditídeos apresentavam uma sintomatologia muito significativa, característica do gênero (vermelho intenso), porém, quando foram dissecados, não apresentaram nematóides, ou seja, o juvenil infectante penetrou no inseto, conseguiu liberar a

bactéria na hemocele, causando septicemia, mas não conseguiu se reproduzir e muito menos manter-se vivo dentro do hospedeiro. Esta relação pode ser explicada pela condição hospedeiro-patógeno, considerando que ninfas de cigarras não são os melhores hospedeiros para multiplicação de nematóides, o que nos leva a entender que a ninfa de cigarra pode possuir mecanismos de defesa eficazes, que impossibilitem a sobrevivência do nematóide.

Considerando a diversidade de hospedeiros e os inúmeros isolados pesquisados, há uma particularidade eficaz em relação ao processo de infecção dos nematóides entomopatogênicos, sendo que o inseto atacado pode possuir um sistema imunológico muito mais resistente e capaz de impedir que o nematóide se reproduza dentro dele (Dowds & Peters, 2002). Há casos em que o nematóide é encapsulado muito rapidamente, sendo morto antes de liberar a bactéria na hemocele e causar septicemia no inseto-hospedeiro (Gaugler, 1997).

É importante salientar, também, que muitos destes nematóides entomopatogênicos não são espécie-específicos, o que se torna uma vantagem quando se quer diminuir o nível populacional de insetos numa área em que está ocorrendo mais de uma praga.

No mundo, não foi encontrado nenhum trabalho publicado em periódico científico sobre seleção de nematóides sobre ninfas de cigarra-do-cafeeiro, o que impossibilita uma analogia entre os dados. A maioria dos trabalhos sobre nematóides entomopatogênicos está relacionada com insetos de ordens diferentes da qual a cigarra-do-cafeeiro pertence e os insetos dessa mesma ordem possuem uma morfologia muito distinta, o que inviabiliza a comparação das informações.

4.3 Avaliação da concentração de nematóides entomopatogênicos

Estimou-se, para o isolado *Heterorhabditis* sp. JPM 4 (Figura 5) e para *Steinernema riobrave* (Figura 6), a concentração de 500 JI's/ inseto.

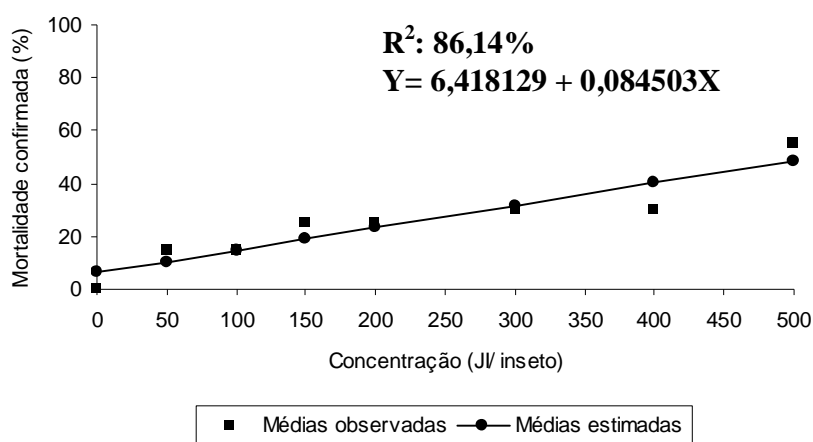


FIGURA 5 – Porcentagem de mortalidade confirmada de ninfas de cigarra-do-cafeeiro em função da aplicação de suspensão aquosa contendo *Heterorhabditis* sp. (JPM 4), em diferentes concentrações.

Para a mortalidade total de ambos nematóides, tanto na primeira quanto na segunda avaliação, não foi obtido sucesso com relação aos dados analisados, assim como não foi significativa a mortalidade confirmada durante a primeira avaliação para ambos nematóides. Informações como estas são importantes para futuros experimentos, nos quais pode ser utilizado um número maior de insetos e maior concentração de nematóides.

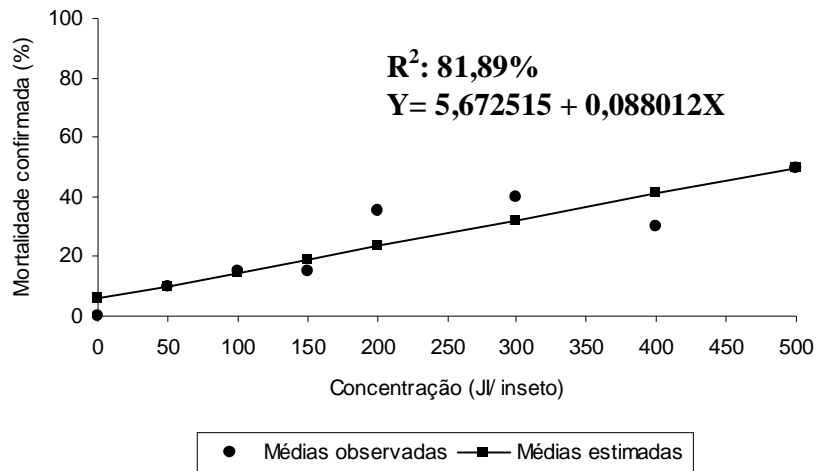


FIGURA 6 – Porcentagem de mortalidade confirmada de ninfas de cigarra-do-cafeeiro em função da aplicação de suspensão aquosa contendo *Steinerinema riobrave*, em diferentes concentrações.

Verificou-se que todas as concentrações causaram mortalidade, com exceção do tratamento testemunha. Estudos como o realizado por Stuart et al. (1997), com *Dysmicoccus vaccinii*, observaram uma concentração de 500 JI's/placa. Já estudos realizados por Wang et al. (2002), avaliaram concentrações para quatro diferentes espécies de nematóides entomopatogênicos: *H. bacteriophora*, *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. riobrave*, contra o cupim *R. flavipes*. Porém, estes autores testaram concentrações muito altas, chegando a até 5000 JI's/ cupim. Concentrações desse porte podem prejudicar o controle efetivo do inseto-praga, podendo haver competição intra-específica (Gaugler et al., 1994). É interessante testar e obter menores concentrações eficientes no controle de insetos, para que haja um maior interesse pelo incremento destes entomopatógenos no manejo integrado de pragas.

4.4 Avaliação do deslocamento vertical de nematóides entomopatogênicos

Observou-se significância entre os isolados avaliados separadamente em função das profundidades utilizadas. Foi realizada análise da interação entre os dois nematóides e profundidades, porém não houve significância entre os mesmos.

Durante a avaliação da mortalidade total observou-se que o nematóide heterorhabditídeo causou maiores mortalidades nas menores profundidades, ou seja, nos primeiros cinco centímetros (Figura 7), o que não alterou muito os resultados quando foi analisada a mortalidade confirmada ocorrendo em todas as profundidades (Figura 8).

Para o steinernematídeo, a mortalidade total foi superior ao nematóide *Heterorhabditis* sp. JPM 4, com uma mortalidade total de aproximadamente 80% nos primeiros cinco centímetros de profundidade (Figura 9). Porém a mortalidade confirmada foi inferior, sendo que não houve confirmação nas maiores profundidades (25 e 30 cm) (Figura 10).

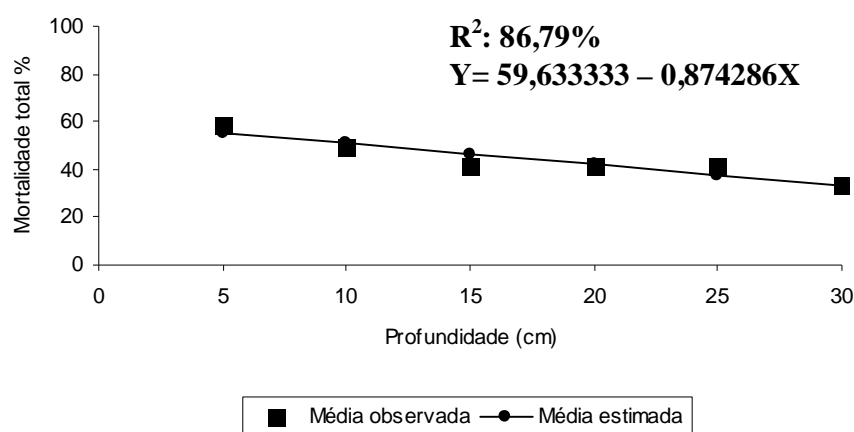


FIGURA 7 – Porcentagem de mortalidade total de ninfas de cigarras-do-cafeeiro por *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) em função da profundidade da ninfa no solo.

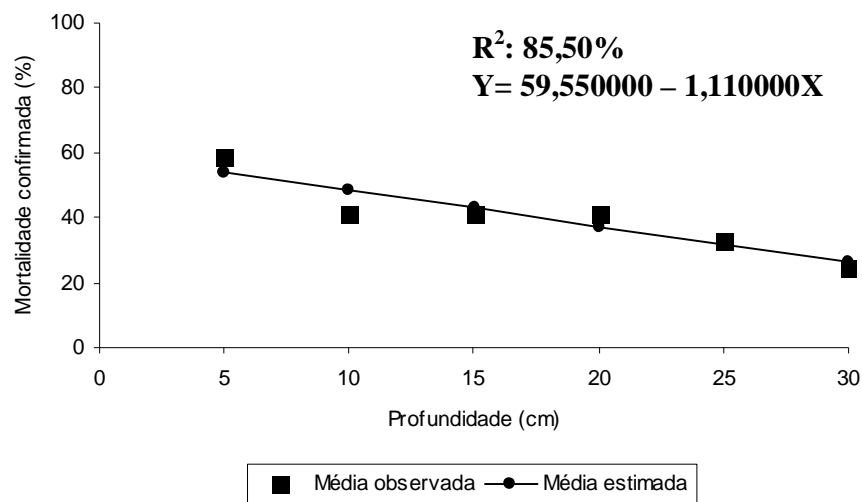


FIGURA 8 – Porcentagem de mortalidade confirmada de ninfas de cigarras-do-cafeeiro por *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) em função da profundidade da ninfa no solo.

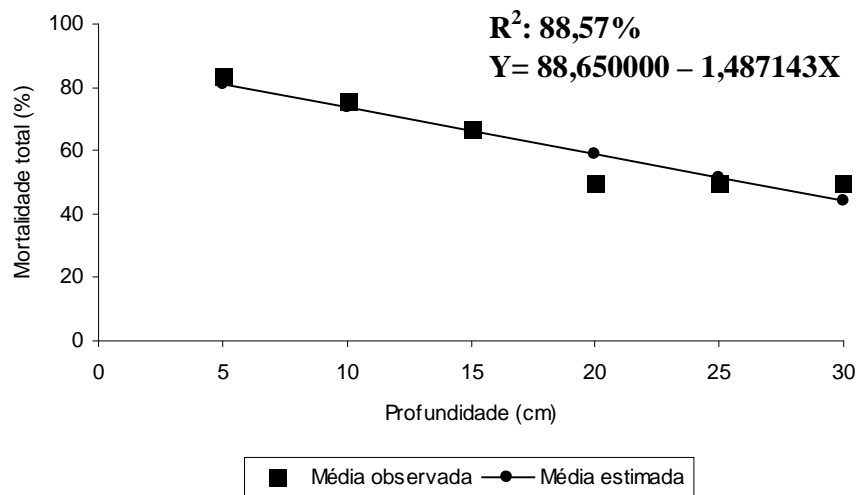


FIGURA 9 – Porcentagem de mortalidade total de ninfas de cigarras-do-cafeeiro por *Steinernema riobrave* em função da profundidade da ninfa no solo.

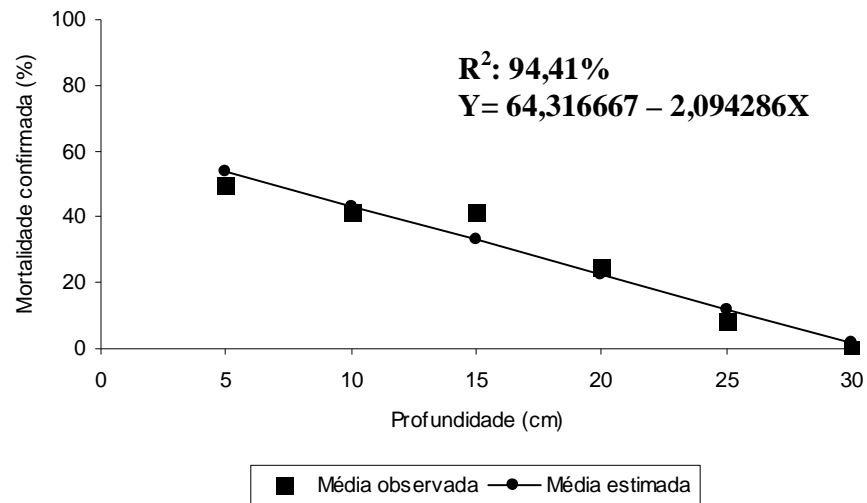


FIGURA 10 – Porcentagem de mortalidade confirmada de ninfas de cigarras-do-cafeeiro por *Steinernema riobrave* em função da profundidade da ninfa no solo.

Alguns fatores podem influenciar na dispersão vertical dos nematóides entomopatogênicos. Assim, Boff & Smits (2001) estudaram os efeitos de densidade, idade e presença do hospedeiro perante a dispersão de *Heterorhabditis megidis*. Sendo assim, quanto maior a densidade e quanto mais jovens forem os nematóides, haverá uma maior chance para o deslocamento, considerando a estratégia de deslocamento de *H. megidis* como sendo do tipo “cruiser”. Dependendo do tipo de hospedeiro, este pode influenciar no deslocamento ao atrair ou repelir determinado nematóide, por meio de substâncias voláteis emitidos pelo hospedeiro, podendo este ser a própria planta atacada pelo inseto-praga, favorecendo o reconhecimento para que o nematóide possa chegar ao inseto mais rapidamente (van Tol et al., 2001).

É importante ressaltar que o nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp (JPM 4) possui uma estratégia de busca do tipo “cruiser”,

comportamento interessante para tentar o controle de ninfas de cigarras, que durante sua fase jovem (maior parte do seu ciclo), fixam-se nas raízes, sugando seiva. Portanto, este nematóide, com este tipo de comportamento torna-se bastante promissor para estudos futuros com insetos que tenham esses hábitos ecológicos (Lewis et al., 2006).

Em contrapartida, o steinernematídeo *S. riobrave* possui uma estratégia de busca do tipo intermediária (Cabanillas, 2003), comportamento bastante interessante este tipo de comportamento, o qual pode ser utilizado em programas de manejo em que há insetos que atingem profundidade considerável e/ou que possuam hábitos estacionários.

5 CONCLUSÕES

1. A metodologia de manutenção das ninfas de cigarras em laboratório é eficiente e possibilita a realização de experimentos de forma satisfatória.
2. As ninfas de cigarra-do-cafeeiro são suscetíveis à maioria dos isolados de nematóides entomopatogênicos avaliados.
3. Os nematóides *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) e *Steinernema riobrave* são os mais virulentos para as ninfas de cigarras-do-cafeeiro.
4. O nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis* sp. (JPM 4) apresenta maior êxito no deslocamento vertical, comparado ao *Steinernema riobrave*, ocorrendo mortalidade confirmada do inseto em todas as profundidades e confirmando sua estratégia de busca do tipo “cruiser”.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: Rutgers University, 2002. p. 1-28.
- AGRIANUAL - Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP consultoria e comércio, 2007. 520 p.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In. ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 11, p. 289-381.
- ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 181-187, abr./jun. 2004.
- BOEMARE, N. Biology, taxonomy and systematic of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: Rutgers University, 2002. p. 35-56.
- BOFF, M. I. C.; SMITS, P. H. Effects of density, age and host cues on the dispersal of *Heterorhabditis megidis*. **Biocontrol Science Technology**, San Diego, v. 11, n. 4, p. 505-514, Aug. 2001.
- CABANILLAS, H. E. Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 82, n. 3, p. 188-197, Mar. 2003.
- CAMPBELL, J. F.; LEWIS, E.; YODER, F.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematode (Heterorhabditidae e Steinernematidae) seasonal population dynamics and impact on insect populations in turfgrass. **Biological Control**, San Diego, v. 5, n. 4, p. 598-606, Dec. 1995.
- CAPPAERT, D. L.; KOPPENHÖFER, A. M. *Steinernema scarabaei*, an entomopathogenic nematode for control of the European chafer. **Biological Control**, San Diego, v. 28, n. 3, p. 379-386, Abr. 2003.

COMPÊNDIO DE DEFENSIVOS AGRICOLAS. 7. ed. São Paulo: Organização Andrei, 2005. 1442 p.

COOLEY, J. **What is a periodical cicada?** Disponível em: <http://insects.ummz.lsa.umich.edu/fauna/Michigan_cicadas/periodical/index.html> Acesso em: 10 fev. 2006.

CRUZ, I. Controle biológico em manejo integrado de pragas. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 32, p. 543-580.

DILLON, A. B.; DOWNES, M. J.; WARD, D.; GRIFFIN, C. T. Optimizing application of entomopathogenic nematodes to manage large pine weevil, *Hylobius abietis* L. (Coleoptera: Curculionidae) populations developing in pine stumps, *Pinus sylvestris*. **Biological Control**, San Diego, v. 40, p. 253-263, 2007.

DILLON, A. B.; WARD, D.; DOWNES, M. J.; GRIFFIN, C. T. Suppression of the large pine weevil *Hylobius abietis* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in pine stumps by entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 2, p. 217-226, Aug. 2006.

DOWDS, B. C. A.; PETERS, A. Virulence mechanisms. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: Rutgers University, 2002. p. 79-93.

DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWELL, G. E. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. **Journal of Insect Pathology**, San Diego, v. 6, n. 4, p. 417-422, 1964.

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

EMBRAPA CAFÉ. **Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária**. Disponível em: <<http://www22.sede.embrapa.br/cafe/>> Acesso em: 18 jan. 2007.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In. ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. Cap. 11, p. 541-567.

FERREIRA, D. F. 2000. **Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0**. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. Anais... São Carlos: UFSCar, p. 255-258.

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

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

GAUGLER, R.; WANG, Y.; CAMPBELL, J. F. Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: defences against entomopathogenic nematode attack. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 64, n. 3, p. 193-199, Nov. 1994.

GEDEN, C. J.; ARENDES, J. J.; AXTELL, R. C. Field trials of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) for control of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in commercial broiler and turkey houses. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 80, n. 1, p. 136-141, Jan. 1987.

GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; VAN TOL, R. W. H. M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 103-123, July 2006.

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

HEINRICH, W. O. Cicada - a coffee pest in Brazil. **Word Crops**, Amsteredam, v. 19, n. 4, p. 43-47, 1967.

HEINRICH, W. O.; PUPIN NETO, J. Experiências de campo para verificar a eficácia de alguns inseticidas sistêmicos e de solo no combate às ninfas de

cigarras (Homoptera: Cicadidae) em raízes de cafeeiro, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 31, p. 5-11, 1964.

JAGDALE, G. B.; CASEY, M. L.; GREWAL, P. S.; LINDQUIST, R. K. Application rate and timing, potting medium, and host plant effects on the efficacy of *Steinernema feltiae* against the fungus gnat, *Bradysia coprophila*, in floriculture, **Biological Control**, San Diego, v. 29, n. 2, p. 296-305, Feb. 2004.

KAYA, H. K.; AGUILLERA, M. M.; ALUMAI, A.; CHOO, H. Y.; TORRE, M. de la.; FODOR, A.; GANGULY, S.; HAZIR, S.; LAKATOS, T.; PYE, A.; WILSON, M.; YAMANAKA, S.; YANG, H.; EHLERS, R-U. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 134-155, July 2006.

KOPPENHOFER, A. M.; BROWN, I. M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P. S.; KAYA, H. K.; KLEINS, M. G. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against White grubs: greenhouse and field evaluation, **Biological Control**, San Diego, v. 19, n. 3, p. 245-251, Nov. 2000.

KOPPENHOFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes, **Biological Control**, San Diego, v. 24, n. 1, p. 90-97, May 2002.

KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M.; KAYA, H. K. Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematodes fitness. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 106, n. 1, p. 7-18, Jan. 2003.

LACEY, L. A.; FRUTOS, R.; KAYA, H. K.; VAIL, P. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do they have a future? **Biological Control**, San Diego, v. 21, n. 3, p. 230-248, May 2001.

LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; GOULART, R. M.; TAVARES, F. M.; BATISTA FILHO, A. Screening of Entomopathogenic Nematodes (Nemata: Rhabditida) and the Efficiency of *Heterorhabditis* sp. Against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 785-790, Sep/ Oct 2005.

LEWIS, E. E. Behavioural ecology. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: Rutgers University, 2002. p. 205-220.

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

MACCAGNAN, D. H. B.; MARTINELLI, N. M. Descrição das ninfas de *Quesada gigas* (Olivier) (Hemiptera: Cicadidae) associadas ao cafeeiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 439-446, jul./ago. 2004.

MARTINELLI, N. M.; MATUO, T.; YANADA, M. R.; MALHEIROS, E. B. Modo de aplicação e eficiência de inseticidas granulados sistêmicos para o controle de cigarras (Hemiptera: Cicadidae) do cafeeiro. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 133-140, Mar. 1998.

MARTINELLI, N. M.; MATUO, T.; MARTINS, D.R.; MALHEIROS, E.B. Efeito de dosagens de inseticidas granulados aplicados com diferentes métodos para o controle das cigarras do cafeeiro. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 25, n. 2, 2000.

MARTINELLI, N. M.; ZUCCHI, R. A. Cigarras associadas ao cafeeiro. I. Gênero *Quesada* Distant, 1905 (Homoptera: Cicadidae, Cicadinae). **Anais da Sociedade Brasileira de Entomologia do Brasil**, Porto Alegre, v. 16, p. 51-60, 1987.

MARTINELLI, N. M.; ZUCCHI, R. A. Cigarras (Hemiptera: Cicadidae: Tibicinidae) associadas ao cafeeiro: distribuição, hospedeiros e chave para as espécies. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 133-143, abr. 1997.

PRADO, R. M.; NASCIMENTO, V. M. **Manejo da adubação do cafeeiro no Brasil**. Ilha Solteira: UNESP/FEIS, 2003. 273 p.

RAMOS-RODRIGUES, O.; CAMPBELL, J. F.; RAMASWAMY, S. B. Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema iobrave* against the stored-product insect-pests *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. **Biological Control**, San Diego, v. 40, n. 1, p. 15-21, Jan. 2007.

RECEITA AGROWIN. **Sistema de receituário agrônômico**: manual do Usuário. Curitiba, PR, 2006.

REIS, P. R.; SOUZA, J.C. de. **Cigarras do cafeeiro, dano e controle**. Belo Horizonte: EPAMIG/CRSM, 1991. 5 p. (Circular Técnica)

REIS, P. R.; SOUZA, J.C. Manejo integrado das pragas do cafeeiro em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 193, p. 17-25, 1998.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C. de; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 214/215, p. 83-99, 2002.

SANBORN, A. F. A first contribution to a knowledge of the cicada fauna of El Salvador (Homoptera: cicadoidea). (scientific note). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 84, n. 3, p. 449-450, Sept. 2001a.

SANBORN, A. F. Distribution of the cicadas (Homoptera: cicadidae) of the Bahamas. (scientific note). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 84, n. 4, p. 733-734, Dec. 2001b.

SCHROER, S.; EHLERS-U., R. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). **Biological Control**, San Diego, v. 33, n. 1, p. 81-86, Apr. 2005.

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

SOPER, R. S.; DELYZER, A. J.; SMITH, L. F. R. The genus *Massospora* entomopathogenic for cicadas. Part II. Biology of *Massospora levispora* and its host *Okanagana rimosa*, with notes on *Massospora cicadina* on the periodical cicada. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 13, n. 1, 72-82, Jan. 1976.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R.; MELLES, C. C. A. **Cigarras-do-cafeeiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle**. Belo Horizonte, 1983. 28 p. (Boletim Técnico EPAMIG, 5).

STUART, R. J.; POLAVARAPU, S.; EDWIN, E. L.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vaccinii* (Homóptera: Pseudococcidae) to Entomopathogenic nematodes (Rhabdita: Heterorhabditidae and Steinernematidae), **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 90, n. 4, p. 925-932, July 1997.

STUART, R. J.; BARBERCHECK, M. E.; GREWAL, P. S.; TAYLOR, R. A. J.; HOY, C. W. Population biology of entomopathogenic nematodes: concepts, issues and models. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 80-102, July 2006.

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

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

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

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

WENNEMANN, L.; SHANKS, C. H.; SMITH, S. A. Movement of entomopathogenic nematodes in soils of *Fragaria* spp. **Communications Agricultural Applied Biological Science**, Hamilton, v. 69, n. 3, p. 347-357, 2004.

WHITE, J.; GANTER, P.; McFARLAND, R.; STANTON, N.; LLOYD, M. Spontaneous, field-tested and tethered flight in healthy and infected *Magicicada septendecium* L. **Oecology**, Berlin, v. 57, p. 281-286, 1983.

WHITE, J.; LLOYD, M. A pathogenic fungus, *Massospora cicadina* Peck (Entomophthorales), in emerging nymphs of periodical cicadas (Homoptera: Cicadidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 12, n. 4, p. 1245-1252, Aug. 1983.

WILLIAMS, E. C.; WALTERS, K. F. A. Foliar application of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* against leafminer on vegetables. **Biocontrol Science and Technology**, Hants, v. 10, p. 61-70, 2000.