



ELSA JUDITH GUEVARA AGUEDELO

**AVALIAÇÃO DE NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS (Rhabditida:
Steinernematidae e Heterorhadtidae)
E INTERAÇÃO COM O PREDADOR
Macrolophus basicornis (Stål) (Hemiptera: Miridae)
NO MANEJO INTEGRADO DE
Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)
EM CULTIVOS DE TOMATE**

LAVRAS - MG

2014

ELSA JUDITH GUEVARA AGUEDELO

**AVALIAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
(Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhadtidae) E INTERAÇÃO COM
O PREDADOR *Macrolophus basicornis* (Stål) (Hemiptera: Miridae) NO
MANEJO INTEGRADO DE *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:
Gelechiidae) EM CULTIVOS DE TOMATE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Alcides Moino Junior

LAVRAS – MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Guevara Agudelo, Elsa Judith.

Avaliação de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) e interação com o predador *Macrolophus basicornis* (Stål) (Hemiptera: Miridae) no manejo integrado de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em cultivo de tomate / Elsa Judith Guevara Agudelo. – Lavras : UFLA, 2014.

121 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Alcides Moino Júnior.

Bibliografia.

1. *S.carpocapsae*. 2. *H. amazonensis* JPM4. 3. *Macrolophus basicornis*. 4. *Tuta absoluta*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 632.96

ELSA JUDITH GUEVARA AGUEDELO

**AVALIAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
(Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhadtidae) E INTERAÇÃO COM
O PREDADOR *Macrolophus basicornis* (Stål) (Hemiptera: Miridae) NO
MANEJO INTEGRADO DE *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:
Gelechiidae) EM CULTIVOS DE TOMATE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 04 de setembro de 2014.

Dra. Vanda Bueno	UFLA
Dr. Luis Cláudio Paterno Silveira	UFLA
Dr. Juan Pablo Molina	CORPOICA
Dr. Ricardo Sousa Cavalcanti	IFMG – Campus Bambuí

Dr. Alcides Moino Junior
Orientador

LAVRAS – MG

2014

A Deus todo poderoso
A minha filha, Valeria Siabato
Aos meus pais, Rosa e Jorge,
A minha irmã Martha e a minha sobrinha
Carolina e ao meu irmão Edgar,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por esta oportunidade na minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia (DEN), pela oportunidade para a realização do doutorado.

À Corporacion Colombiana de Investigacion Agropecuária (CORPOICA), eu agradeço por todo apoio e confiança.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Alcides Moino Jr, pela confiança, orientação e ajuda.

À professora Dra. Vanda Helena Paes Bueno, pelo apoio, pela amizade, confiança e orientação neste estudo.

Aos professores do Departamento de Entomologia, pelo carinho, e ensinamentos.

A minha filha Valeria Siabato, que trabalhou todo tempo no desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os colegas do laboratório de Patologia de Insetos, em especial à Fernanda e Dona Irene, que ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Martin Pareja, ao meu colega Jordano Salamancae, ao meu amigo Peruano Sly, pela sua ajuda na estatística deste trabalho.

Aos meus amigos Ana Calixto e Nazaret pela ajuda na criação do predador *M. basicornis*.

Aos parceiros e amigos Valkiria, Dejane, Juraci, Valeria, Aleia, Flavio Julinho, Marlici, William e Adriano, que foram os responsáveis pelos melhores momentos no DEN.

Um agradecimento adicional e muito especial a minha amiga Natalia Mertz, que me ajudou nos momentos em que eu mais precisava.

A meus amigos Colombianos Kiliany, Cristian, Edwin e Yuli e o Peruano Sly, que compartilharam comigo a estadia neste belo país.

A meus colegas de trabalho de CORPOICA, Eulalia, Salvador, Jorge e Juan Pablo, que sempre me apoiaram, mesmo tão longe de mim.

A todos os colegas da pós-graduação pela sua amizade e carinho. Deus abençoe a Todos.

A minha família lá na Colômbia!!!

.

Obrigada a todos!

EU SÓ TENHO A AGRADECER...

"Eu agradeço ao Senhor:

Pelas vezes em que eu me perdi, e o Senhor me achou; Pelos erros que cometi,
e o Senhor perdoou; Pelas vezes que me entristeci, e o Senhor me alegrou;
Pelas lágrimas derramadas, que o Senhor enxugou; Pelas vezes que me enfureci,
e o Senhor me acalmou; Pelas vezes que ofendi alguém, e o Senhor me revelou
seu amor;

Pelas vezes que me afastei, e o Senhor me encontrou; Pelas vezes que quase caí,
e o Senhor me levantou e me salvou; Por esta chance de ir em frente, de ser
feliz.

Agradeço por estar viva, por existir.

Pela esperança, que me dá forças para prosseguir.

Eu te agradeço Deus por estar comigo,

Em todos os instantes da minha vida".

OBRIGADA DEUS.... Obrigada MESMO!!!

RESUMO GERAL

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma praga importante nos cultivos protegidos de tomateiro na América do Sul e em parte da Europa. Estratégias de controle biológico com nematoides entomopatogênicos (NEP) e predadores têm sido estudadas com grande sucesso. Os objetivos deste trabalho foram determinar a virulência e eficácia dos NEP *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 sobre *T. absoluta* e a interação destes nematoides com o predador *Macrolophus basicornis*. A avaliação da virulência sobre *T. absoluta* foi realizada, em cinco concentrações de juvenis infectantes (JI)/mL para os dois nematoides. As aplicações foram realizadas nas lagartas dentro das minas e nas pupas. Melhor virulência foi obtida com 1500 JI/mL para os dois nematoides em larvas e pupas. As mortalidades encontradas para as larvas e as pupas foram respectivamente de 94 e 13% com *S. carpocapsae* e de 68 e 8% para *H. amazonensis* isolado JPM4. Também a eficácia desses NEP após aplicação foliar das plantas de tomate infetadas com *T. absoluta* e mantidas em casa de vegetação e em laboratório (fitotrom). A aplicação foliar dos nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonenses* em casa de vegetação mostrou uma eficácia de 86% e 84% respectivamente sem diferença significativa entre os nematoides. Em fitotrom as mortalidades para *T. absoluta* com *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JMP4 foram de 93 e 87% respectivamente. Estes resultados mostraram a potencialidade desses nematoides sobre *T. absoluta*. Para determinação da interação destes nematoides com o predador *M. basicornis*, os adultos e os diferentes estados ninfais do predador foram colocados em contato direto com os nematoides com e sem chance de escolha, fornecendo larvas inoculadas com nematoides a fêmeas de *M. basicornis*. Verificou-se que a partir do segundo instar ninfal e até o adulto de *M. basicornis* foi suscetível aos nematoides. A maior mortalidade dos adultos foi obtida por *S. carpocapsae* (28%). Nos testes com chance e sem chance de escolha, a fêmea de *M. basicornis*, se alimenta tanto das larvas saudáveis quanto das infectadas, sem exibir diferenças significativas no consumo nem apresentar mortalidade. Diante disso, estes inimigos naturais podem se considerar como eficazes no controle de *T. absoluta* para serem usados dentre pacotes de manejo integrado do tomate.

Palavras-chave: *S. carpocapsae*. *H. amazonensis* JPM4. *Macrolophus basicornis*. *Tuta absoluta*.

GENERAL ABSTRACT

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) is an important pest in the protected cultivations of tomato in South America and in part of Europe. Strategies of biological control using entomopathogenic nematodes (EPN) and predators have been successfully studied. The objectives of this work were to determine the virulence and efficiency of the EPN *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 over *T. absoluta* and the interaction of these nematodes with the predator *Macrolophus basicornis*. The evaluation of the virulence over *T. absoluta* was performed in five concentrations of infective juveniles (JI)/mL for both nematodes. The applications were performed on the caterpillars inside the mines and on the pupas. The best virulence was obtained with 1500 JI/mL for both nematodes in larvae and pupas. The mortalities found for the larvae and pupas were, respectively, 94 and 13% with *S. carpocapsae* and 68 and 8% for *H. amazonensis* isolate JPM4. We also found the efficiency of these EPN after the foliar application of the tomato plants infected with *T. absoluta* and maintained in greenhouse and in laboratory (fitotrom). The foliar application of the *S. carpocapsae* and *H. amazonensis* nematodes in greenhouse presented an efficiency of 86% and 84%, respectively, without significant difference between the nematodes. In fitotrom, the mortalities for *T. absoluta* with *S. carpocapsae* and *H. amazonensis* JMP4 were of 93 and 87%, respectively. These results show the potential these nematodes present over *T. absoluta*. To determine the interaction of these nematodes with the *M. basicornis* predator, the adults and the different stages of nymphs were placed in direct contact with the nematodes, with and without chance of choosing, providing the female *M. basicornis* with larvae inoculated with the nematodes. It was verified that, from the second nymph instar up to the *M. basicornis* adult, the predators were susceptible to the nematodes. The higher mortality of the adults was obtained by the *S. carpocapsae* (28%). In the tests with and without chance of choosing, the female *M. basicornis* feeds on either healthy or infected larvae without exhibiting significant differences in intake or presenting mortality. Thus, these natural enemies may be considered effective in controlling *T. absoluta*, and may be used among the tomato integrated management packages.

Keywords: *S. carpocapsae*. *H. amazonensis* JMP4. *Macrolophus basicornis*. *Tuta absoluta*

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1	A cultura do Tomate.....	19
2.2	Pragas do Tomate.....	20
2.2.1	<i>Tuta absoluta</i>	20
2.2.2	Aspectos Biológicos.....	21
2.2.3	Injurias	22
2.3	Inimigos naturais de <i>Tuta absoluta</i>	23
2.3.1	Nematoides.....	24
2.3.2	<i>Macrolophus basicornis</i> (STAL, 1860) (Hemiptera: Miridae)	26
2.4	Interação nematoides entomopatogênicos × predadores	28
	REFERÊNCIAS	30
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	37
	ARTIGO 1 Potencial de nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditis e Steinernema) para o controle de <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomate.....	37
1	INTRODUÇÃO	39
2	MATERIAL E MÉTODOS	42
2.1	Produção de nematoides entomopatogênicos.....	42
2.2	Criação de <i>Tuta absoluta</i>	42
2.3	Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos sobre <i>Tuta absoluta</i> em condições de laboratório	43
2.4	Seleção de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações diretas sobre larvas e pupas de <i>Tuta absoluta</i>	44
2.5	Seleção de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações foliares para controle de larvas de <i>Tuta absoluta</i>	45
2.6	Virulências de <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 no controle de pupas de <i>Tuta absoluta</i> e de larvas em aplicação foliar	46
3	RESULTADOS	48
3.1	Seleções de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações diretas sobre larvas e pupas de <i>Tuta absoluta</i>	48
3.2	Seleção de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações foliares para o controle de larvas de <i>T. absoluta</i> em minas	49
3.3	Virulências <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 sobre larvas e pupas de <i>Tuta absoluta</i>	50

4	DISCUSSÃO	54
	REFERÊNCIAS	61
	ARTIGO 2 Eficácia de <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 (Rhabditidae) sobre larvas de <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em folíolos de tomate sob condições de laboratório (fitotrom) e casa de vegetação	66
1	INTRODUÇÃO	68
2	MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1	Produção de nematoides entomopatogênicos	72
2.2	Criações de <i>Tuta absoluta</i>	72
2.3	Eficácia de <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 em larvas de <i>Tuta absoluta</i>	73
3	RESULTADOS	77
3.1	Eficácia de <i>S. carpocapsae</i> e <i>H. amazonensis</i> JPM4 sobre larvas de <i>T. absoluta</i> em fitotrom e casa de vegetação	77
4	DISCUSSÃO	78
	REFERÊNCIAS	82
	ARTIGO 3 Interação entre os nematoides <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 (Rhabditidae) e instares e adulto do predador <i>Macrolophus basicornis</i> (Hemiptera: Miridae)	89
1	INTRODUÇÃO	91
2	MATERIAL E MÉTODOS	95
2.1	Produção de nematoides entomopatogênicos	95
2.2	Criação de <i>Tuta absoluta</i>	95
2.3	Criação de <i>Macrolophus basicornis</i>	96
2.4	Efeitos da aplicação de nematoides <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 sobre os diferentes estágios ninfais e adulto do predador <i>Macrolophus basicornis</i>	97
2.5	Testes de predação	98
2.5.1	Teste de predação com chance de escolha de <i>Macrolophus basicornis</i> com larvas sadias e infectadas por nematoides	98
2.5.2	Teste de predação sem chance de escolha por larvas sadias ou infectadas pelos nematoides	100
2.6	Análises dos dados	102
3	RESULTADOS	103
3.1	Efeito da aplicação de nematoides <i>Steinernema carpocapsae</i> e <i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4 sobre os diferentes instares ninfais e o adulto do predador <i>Macrolophus basicornis</i>	103
3.2	Testes de predação com chance de escolha de <i>Macrolophus basicornis</i> com larvas sadias e infectadas por nematoides	104

3.3	Teste de predação sem chance de escolha por larvas sadias ou infectadas pelos nematoides	106
3.4	Teste de sobrevivência de <i>Macrolophus basicornis</i>	107
4	DISCUSSÃO	108
	REFERÊNCIAS	116
5	CONCLUSÕES GERAIS	121

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O tomate *Lycopersicon esculentum* Mill é uma, hortaliça importante representando 30% da produção das hortaliças no mundo, é o segundo produto oleícola mais cultivado, sendo a quantidade produzida superada apenas pela batata (SIMÃO; RODRIGUEZ, 2012). É originário da América do Sul, porém cultivado em várias partes do mundo e nos últimos 20 anos a sua produção global foi duplicada. Na atualidade, a busca por alimentos mais saudáveis favorece o crescimento da venda do produto fresco, já que é um alimento funcional, possuindo altos teores de vitaminas A e C, além de ser rico em licopeno, substância que ajuda na prevenção de cânceres relacionados ao aparelho digestivo (CARVALHO; PAGLIUCA, 2007).

No Brasil, o tomate é o um das principais hortaliças, movimentando uma cifra anual superior a R\$ 2 bilhões (cerca de 16% do PIB gerados pela produção de hortaliças) e considerado como um importante gerador de emprego na atividade rural no Brasil (SIMÃO; RODRIGUEZ, 2012). A produção brasileira de tomate cresceu 5,2% em 2013. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2013) a área plantada em tomate para o ano 2013 foi de 58,7 mil hectares com 3,6 milhões de toneladas produzidas, das quais cerca de 30% são para processamento e o restante para consumo em natural, segundo dados da Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina (2012 - 2013), sendo o estado de Goiás o maior produtor do fruto com 14,5 mil hectares e o estado de Minas Gerais é terceiro produtor com 7,7 mil hectares.

O tomate é plantado em ambientes protegidos, o que tem gerado um incremento na produtividade, rentabilidade e qualidade do produto

(SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA, 2010). Os ambientes protegidos caracterizam-se pela proteção do local onde são cultivadas as plantas, o que facilita o controle das condições como a temperatura, a umidade, a luminosidade e aeração. No entanto, essas condições tornam o ambiente propício para o desenvolvimento de pragas e doenças (VAN LENTEREN, 2000; MADEIROS; VILLAS; CARRIJO, 2009).

Nesse contexto, o tomate pode ser afetado por várias pragas, entre as quais a *Tuta absoluta* (MEYRICK, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) também denominada a traça-do-tomateiro é considerada um inseto limitante na produção de tomate. Esta praga ocorre em diferentes regiões produtoras de tomate no Brasil e se apresenta em todo o desenvolvimento da cultura (GIUSTOLIN et al., 2001). *T. absoluta* ataca as gemas e os brotos terminais, construindo galerias transparentes nas folhas, causadas pelo consumo do mesófilo e quando ataca os frutos, os danifica completamente. Os danos podem oscilar entre 50 e 100% e sua presença também limita a exportação do produto (MIHSFELDT; PARRA, 1999; ARNÓ; GABARRA, 2011). Devido a sua importância na cultura do tomate, a *European and Mediterranean Plant Protection Organization* (EPPO) insere *T. absoluta* na regulação para quarentena de pragas limitantes desde 2004 na Europa (EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION ORGANISATION EUROPÉENNE ET MÉDITERRANÉENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES, 2005).

Embora o controle de *T. absoluta* seja feito principalmente com inseticidas químicos (até 36 pulverizações por cultivo), esta forma de manejo não pode ser a única a ser adotada devido aos altos custos econômicos, ecológicos e destruição de inimigos naturais que fazem o controle de outras pragas associadas ao cultivo. Portanto, a racionalização do uso de produtos fitossanitários é importante para o controle da traça-do-tomateiro (RODRIGUES et al., 1999), precisando a busca de técnicas de manejo desta praga, como o uso

de agentes de controle biológico que permitam a produção sustentável do produto.

O controle biológico em sistemas protegidos é uma possibilidade viável e vantajosa por não apresentar impacto ambiental, não afetar os produtores e não haver antecedentes de resistência ao inimigo natural. Dentre os inimigos naturais promissores e potenciais para o controle de *T. absoluta* em sistemas protegidos encontram-se os nematóides entomopatogênicos (NEP) e os insetos predadores.

Os nematóides entomopatogênicos (NEP) pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae são considerados excelentes agentes de controle biológico, demonstrando grande potencialidade contra insetos-praga do solo e da parte aérea da planta (GARCIA; RAETANO; LEITE, 2008). Os resultados de várias pesquisas com as espécies das famílias Steinernematidae e Heterorhabditida mostraram entre 70 e 100% de eficiência sobre várias pragas agrícolas de diferentes ordens e famílias como *Plutella xilostella* (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), *Bemisia tabaci* (GENNADIUS, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae), *Mocis latipes* (GUENÉE, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae), *Helicoverpa armigera* (HÜBNER, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae), *Phithorimaea operculella* (ZELLER, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae), *Sphenophorus Levis* (VAURIE, 1978) (Coleoptera: Curculionidae) e *T. absoluta* entre outras (BAUR; KAYA; THURSTON, 1995; GONZALES et al., 2000; NAVON et al., 2002; CUTHBERTSON et al., 2007; BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA, 2010; GIOMETTI et al., 2011; HASSANI; KARIMI; HOSSEINI, 2013). Além da eficácia os resultados indicaram que as aplicações de NEPs diminuíram a presença da praga e danos econômicos (BEN et al., 1998; YAN; WANG; HAN, 2014).

Além dos NEP, os predadores têm destaque como agentes de controle biológico de *T. absoluta*, sendo que vários estudos (URBANEJA et al., 2012; RASDI; FAUZIAH; MOHAMAD, 2009; BUENO; LENTEREN, 2012; ARNÓ;

GABARRA, 2011) principalmente em mirídeos têm demonstrado que estes hemípteros podem se adaptar a esta praga invasiva contribuindo para o seu uso como agentes de controle biológico de *T. absoluta* em tomate.

No manejo integrado de pragas, a ação de agentes de mortalidade de insetos fitófagos está associada a práticas culturais que visam o incremento e a preservação destes, nas áreas de cultivo (GONRING et al., 2003). É por isso que os cultivos protegidos favorecem o uso do controle biológico. Assim, programas de controle biológico usam, simultaneamente, vários inimigos naturais não específicos para manejar pragas que ocorrem em agroecossistemas. No entanto, estes predadores polífagos, além de causarem a mortalidade de vários insetos-pragas, frequentemente podem alimentar-se de outros controladores biológicos, fenômeno conhecido como predação intraguilda (MALLAMPALLI; CASTELLANOS; BARBOSA, 2002). Esse comportamento torna-se importante no controle biológico, pois pode diminuir a taxa de predação do inseto-praga, impedindo o sucesso do programa quando, por exemplo, um predador pouco eficiente alimenta-se de um inimigo natural mais efetivo (GONRING et al., 2003).

A utilização do controle biológico aplicado usando predadores e nematoides entomopatogênicos simultaneamente seria uma estratégia desejável, quando as características de cada organismo e abundância da praga favorecem a co-existência. Porém, a capacidade para desenvolver programas de sucesso, com a combinação destes inimigos naturais no controle biológico de pragas como *T. absoluta*, precisa reforçar estudos que abordem a complexidade das interações tróficas no agroecossistema. Ainda mais, com o conhecimento de que tanto os nematoides entomopatogênicos quanto os predadores mirídios têm mostrado alta capacidade de controle sobre *T. absoluta*. Neste contexto o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a patogenicidade e virulência de nematoides entomopatogênicos sobre *T. absoluta* e estudar os efeitos da interação dos NEP

o predador *M. basicornis*, com o propósito de esclarecer e contribuir para o uso destes inimigos naturais dentro de um manejo integrado desta praga. Para tal, foram redigidos três artigos com os seguintes objetivos:

Artigo 1:

- Determinar a patogenicidade de linhagens nativas e espécies de nematoides entomopatogênicos sobre *T. absoluta* em condições de laboratório;
- Definir a melhor virulência entre cinco concentrações em dois nematoides entomopatogênicos, os quais mostraram maior patogenicidade sobre *T. absoluta*.

Artigo 2:

- Alcançar mortalidades de 90% sobre larvas de *T. absoluta* por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 em fitotrom;
- Alcançar mortalidades de 90% sobre larvas de *T. absoluta* por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 em casa-de-vegetação.

Artigo 3:

- Determinar em laboratório, o efeito dos diferentes estados ninfais e adultos de *M. basicornis*, expondo-os ao contato direto com os nematoides *S. carpocapsae* ou *H. amazonensis* JPM4;
- Determinar, em laboratório, o efeito do consumo de fêmeas de *M. basicornis* quando oferta das larvas de *T. absoluta* infectadas por *S. carpocapsae* ou *H. amazonensis* JPM4 a larvas saudáveis como opção alimentar;
- Determinar, em laboratório, o efeito do consumo por fêmeas de *M. basicornis* quando ofertadas larvas de *T. absoluta* infectadas por *S.*

carpocapsae ou *H.amazonensis* JPM4.

- Conhecer a mortalidade das fêmeas de *M. basicornis* quando alimentadas apenas com larvas infectadas pelos nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonenses* JPM 4.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do Tomate

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) pertence à família das Solanáceas, originário da América do Sul e cultivado em grande parte do mundo, sendo uma das hortaliças mais importantes, após a batata. Nos últimos 20 anos a sua produção duplicou como resposta ao incremento no consumo, o qual se deve à presença de grandes quantidades de vitaminas A, B e C, ferro e fósforo, além de licopeno, substância que ajuda na prevenção dos cânceres. Os maiores produtores do mundo são: China, Estados Unidos, Turquia, Índia, Itália, Irã, Egito e o Brasil (NAIKA et al., 2006).

O Brasil concentra suas maiores áreas produtoras nas regiões do Sudeste, sendo o estado de Goiás o principal produtor, responsável por 23% da área cultivada e 27,5% da produção nacional. Os estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Bahia completam o grupo dos cinco maiores produtores em área e produção nacional (SÍNTESE ANUAL DA AGRICULTURA DE SANTA CATARINA, 2011). Dessa forma, o tomate é considerado o principal destaque do setor de hortaliças, movimentando cerca de R\$ 2 bilhões por ano, além de gerar emprego na atividade rural do Brasil (SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA, 2010).

O ciclo do tomateiro é de 90 a 120 dias dependendo da variedade (NAIKA et al., 2006). Assim, pode ser uma cultura de campo aberto ou de ambiente protegido, onde a produção pode ocorrer em épocas adversas, favorecendo o mercado e a oferta do produto em qualquer época do ano, proporcionando maior produtividade e melhor qualidade de frutos (CARRIJO et al., 2004).

2.2 Pragas do Tomate

O aumento da produção de tomate favorece o aparecimento de insetos que podem provocar prejuízos à cultura. Com isso, em muitas ocasiões devido ao medo em perder as lavouras (já que o investimento é alto), o uso intensivo de agrotóxicos pelos agricultores faz com que ocorram consequências como ressurgência de pragas, resistência aos pesticidas, aumento de filófagos potenciais entre outros, principalmente em cultivos protegidos onde não existem produtos registrados (QUEIROZ; SHINZATO; ALVES, 2007).

As principais pragas dos cultivos de tomate segundo Malta (1999) e Pinho et al. (2012) são: os tripés *Frankliniella schultzei* (TRYBOM, 1910) e *Thrips palmi* (KARNY, 1925) (Thysanoptera: Thripidae), mosca-branca *Bemisia tabaci* (GENNADIUS, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae), os pulgões *Myzus persicae* (SULZER, 1776) e *Macrosiphum euphorbiae* (THOMAS, 1878) (Homoptera: Aphididae) e a traça do tomateiro *Tuta absoluta* (MEYRICK, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Dentre estas, *T. absoluta* é considerada como uma praga limitante na produção de tomateiro devido ao fato de que as larvas destroem as folhas e danificam os frutos ao se alimentar destes, além de facilitar a contaminação por patógenos. Os danos podem atingir até 100% (DESNEUX et al., 2010).

2.2.1 *Tuta absoluta*

A traça do tomateiro *T. absoluta* é um micro lepidóptero, praga originária da América do Sul, ataca solanáceas, preferencialmente o tomate, mas também ataca *Solanum melongena* (berinjela), *Solanum tuberosum* (batata), *Solanum muricatum* (pepino) e infestantes como *Solanum nigum* (erva moira) e *Datura stramonium* (figueira do inferno) entre outras solanáceas. Caracteriza-se

por ser muito prolífica e com atividade durante todo o desenvolvimento dos cultivos (RAMOS, 2011).

As larvas alimentam-se de todas as partes da planta em qualquer etapa de desenvolvimento. Este inseto ataca intensamente as gemas e os brotos terminais, construindo galerias nas folhas devido ao consumo do mesófilo, além disso, podem afetar diretamente a produção ao atacar os frutos (MIHSFELDT; PARRA, 1999). As suas larvas causam perdas comerciais entre o 60 e 100%. *T. absoluta* tem um potencial reprodutivo alto (pode chegar a 12 gerações por ano) e os adultos são de hábito noturno. Apesar de sua origem, *T. absoluta* já foi encontrada em várias partes do mundo. Na Europa foi reportada inicialmente na Espanha em 2006, já em 2007 foi reportada na França e finalmente em 2008 e 2009 foi encontrada em Portugal, na Itália, Marrocos, Argélia e Tunes (RAMOS, 2011).

2.2.2 Aspectos Biológicos

A espécie *T. absoluta* apresenta quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto. Os ovos são depositados no terço superior da planta, nas folhas, caules e em algumas ocasiões nos frutos. As fêmeas depositam os ovos isolados na parte de baixo das folhas do terço superior das plantas do tomate e também podem ser depositados nos caules, flores e frutos. Uma fêmea pode ovipositar entre 55 e 130 ovos no decorrer da vida (entre três a sete dias) (BARRIENTOS et al., 1998; HAJI et al., 1988; TORRES et al., 2001).

As larvas crescem dentro de galerias nas folhas e frutos, onde se alimentam e passam por quatro instares. As larvas, perto da muda, saem das minas, mudam e novamente entram para iniciar sua alimentação (RODRIGUES et al., 1999). Logo que as larvas completam o último instar, elas saem das minas e alcançam o solo através de um fio de seda para empupar. As pupas também

podem se encontrar dentro das folhas principalmente na parte de baixo ou junto ao cálice do fruto. Quando as larvas pupam na planta, elas se protegem com um casulo branco e sedoso (RAMOS, 2011; RODRIGRES et al., 1999).

Tabela 1 Duração meia do ciclo de vida de *Tuta absoluta* em diferentes temperaturas

Estádios	Dias		
	14 °C	20 °C	27 °C
Ovo	14,1	7,8	5,13
Larva	38,1	19,8	12,2
Pupa	24,2	12,1	6,5
Total	76,4	39,7	23,8

Fonte: Barrientos, Apablaza, Estay e Noreno (1997) apud Estay (2000).

2.2.3 Injúrias

Nas folhas as larvas fazem minas onde se alimentam do mesófilo, restando só a epiderme. As minas são superficiais e facilmente observadas através da luz. Este dano direto diminui a superfície foliar útil. Como resultado desta atividade de alimentação a planta altera seu desenvolvimento, apresentando envelhecimento precoce até sua morte (VILLAS BÔAS; CASTELO; MEDEIROS, 2009; RAMOS, 2011). No caso dos danos nos frutos, estes podem ocorrer no momento em que o tomate começa a ganhar peso e pode ser em qualquer parte do fruto. O dano é muito grave porque os buracos feitos pelas larvas nos frutos podem ser a porta para agentes fitopatogênicos (RAMOS, 2011).

As folhas são exclusivamente atacadas por *T. absoluta* quando o nível de sua população é baixo na cultura, porém, se a população da praga é alta, observa-se dano nas folhas, nos frutos pequenos e em algumas ocasiões até no caule. Os frutos maduros podem ser afetados por larvas que saem das minas e

penetram neles. Quando *T. absoluta* faz a sua oviposição no botão floral, as larvas que iniciam sua alimentação nos frutos não saem deles nos primeiros instares larvais, o que dificulta o seu controle. Assim, os frutos danificados ficam impróprios para a comercialização (VILLAS BÔAS; CASTELO; MEDEIROS, 2009; RAMOS, 2011). Segundo Benbenga, Fernandes e Gravena (2007), as plantas de tomate podem ser atacadas em qualquer etapa de desenvolvimento, seja em mudas ou plantas adultas. Nas últimas, os ataques são mais intensos no período de frutificação da cultura, em que as larvas permanecem no interior dos frutos e conseqüentemente não são afetadas pelas ações do controle. Com isso, ocorre a emergência de adultos e a reinfestação das partes vegetativas e reprodutivas das plantas. Quando a praga ataca cultivos protegidos pode causar danos de até 100% sem controle, em culturas que adotam medidas de manejo da praga, os danos se encontram entre 1 a 5% (AGRIPEST, 2011; EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION, 2011), pelo qual é recomendado realizar controle integrado da praga.

2.3 Inimigos naturais de *Tuta absoluta*

Atualmente, o controle biológico é usado em várias partes do mundo para o manejo das populações de *T. absoluta* devido a fatores, como a ressurgência da população e a dificuldade de alcance dos produtos químicos, uma vez que as larvas vivem normalmente dentro das estruturas da planta. Entre os inimigos naturais de *T. absoluta* se encontram vários parasitoides das famílias Braconidae, Chalcididae e Trichogrammatidae (MARCHIORI; SILVA; LOBO, 2003; BACCI et al., 2008). Dentre os predadores, os Mirídeos ocupam um lugar de destaque no manejo desta praga por apresentar alta eficiência no controle de ovos e larvas (BUENO; LENTEREN, 2012). Com relação ao controle

microbiano se encontram principalmente *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e os nematóides entomopatogênicos (GARCIA-DEL-PINTO; ALABERN; MORTON, 2013; RODRIGUES; GERDING; FRANCE, 2006). Contudo, os predadores do gênero *Macrolophus* e os nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterohabditis* apresentam potencialidade como agentes para o controle biológico desta praga (URBANEJA et al., 2012).

2.3.1 Nematóides

Atualmente, os programas de controle microbiológico que usam entomopatógenos e que têm maior sucesso são aqueles que usam patógenos específicos. Dentro destes agentes de controle microbiano estão os nematóides entomopatogênicos principalmente das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae. Estes nematóides entomopatogênicos (NEP) possuem características reguladoras das populações de pragas, o que possibilita seu uso no manejo integrado de pragas (ALVES, 1998; GAULER, 2002).

Nematóides pertencentes às famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae vivem em simbioses respectivamente com bactérias *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, que causam doenças e morte nos insetos em menos de 48 horas. O estado infectante do nematoide são os juvenis, os quais penetram no interior da hemocele do inseto liberando as células bacterianas na hemolinfa, o que faz com que estas excretem as toxinas que causam a morte do inseto entre as 24 a 48 horas depois da inoculação do nematoide. O nematoide no interior do inseto alimenta-se dos tecidos degradados e também da bactéria. Após passar por vários ciclos de multiplicação, os juvenis em simbiose com a bactéria saem do corpo morto do inseto para iniciar outro ciclo de infecção (GAUGLER, 2002).

A eficácia dos nematóides entomopatogênicos tem sido estudada em pragas lepidópteras como na *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) cujas lagartas consomem as folhas e os brotos novos das plantas. Os resultados desta pesquisa mostraram controles de até 95% de lagartas por *S. carpocapsae* (BAUR; KAYA; THURSTON, 1995). Ben et al. (1998) avaliaram *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* em campo e em casa de vegetação, sobre a traça europeia do milho, *Ostrinia nubilalis* (HUBNER, 1796) (Lepidoptera: Pyralidae), encontraram diminuição entre 5 e 20% dos danos econômicos quando realizaram pulverizações destes organismos entomopatogênicos sobre as plantas.

González et al. (2000) mediram a susceptibilidade de larvas, pré-pupas e pupas de *Mocis latipes* (GUENÉE, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae); praga que consome as folhas principalmente de gramíneas, ao nematoide *H. bacteriophora* em condições de laboratório e encontraram que as larvas e pré-pupas foram as mais susceptíveis a *H. bacteriophora*, sendo a taxa de mortalidade entre 22,5 a 100%, já para pupa a mortalidade foi de 27,5 a 41%. Os resultados sugerem que *H. bacteriophora* é agente potencial de controle biológico para *M. latipes*.

Navon et al. (2002) também avaliaram a mortalidade ocasionada por *S. carpocapsae*, quando aplicado em formulações com gel, sobre larvas pertencentes a duas pragas importantes *Spodoptera littoralis* (BOISDUVAL, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa armigera* (HUBNER, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae). Eles encontraram mortalidades de 100% em larvas de quarto estágio dos dois insetos pragas quando estes foram alimentados com 1000 juvenis infectivos (em gel) por 24 horas. Já em larvas de outros estágios as mortalidades encontradas foram de 70 a 100%. O estudo mostra a eficácia da formulação e sugere realizar mais estudos sobre as formulações de nematoides em mistura com gel para favorecer o controle.

Por ultimo, um estudo realizado por Batalla-Carrera, Morton e Garcia (2010) avaliou a susceptibilidade de larvas e pupas de *T. absoluta* utilizando três espécies de NEP (*S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *H. bacteriophora*) em condições de laboratório e casa de vegetação. Os resultados mostraram mortalidades de 76 a 92% para larvas e menos de 10% para pupas, em condições de laboratório. Em casa de vegetação a mortalidade das larvas foi de 77.1 a 97%. Além destes resultados, os tratamentos em casa de vegetação reduziram a infestação de *T. absoluta* nas plantas de tomate entre 87 e 95%. Estes resultados mostraram a capacidade que tem estas espécies de nematoides de penetrar nas galerias e matar a larvas de *T. absoluta*, indicando a grande eficácia para o controle de larvas em galerias de tomate.

2.3.2 *Macrolophus basicornis* (STAL, 1860) (Hemiptera: Miridae)

Durante os primeiros anos de proliferação de *T. absoluta* na Europa foram identificados predadores polípagos (Mirídeos) realizando controle com sucesso sobre esta praga do tomateiro, após a sua detecção em alguns países do Mediterrâneo como Argelia, França, Israel, Itália, Espanha e Turquia. Os predadores principalmente *Nesidiocoris tenuis* (REUTER, 1895) e *Macrolophus pygmaeus* (RAMBUR, 1839) foram observados predando ovos e o primeiro instar larval da praga (ARNO; GABARRA, 2011). Estes estudos mostraram que tanto *M. pygmaeus* quanto *N. Tenuis* limitam o crescimento populacional de *T. absoluta* em altas densidades da praga sob condições de campo, e que ambos mirídeos são inimigos naturais endêmicos que comumente aparecem em culturas de tomate. Estes predadores podem ser criados em massa e liberados principalmente para fazer controle em outras pragas do tomateiro como Mosca branca, em tripé, em pulgões, ácaros e outros lepidópteros (URBANEJA et al., 2012)

Dentro do gênero *Macrolophus*, a espécie *Macrolophus pygmaeus* Ramburé foi usada com sucesso no controle biológico de *Tuta absoluta* Meyrick em cultivos protegidos na Europa (LINS et al., 2014, URBANEJA et al., 2012). No Brasil, a espécie *Macrolophus basicornis* (STAL, 1860) foi registrada no estado de Minas Gerais em plantas de *Nicotina tabacum* L. (Solanaceae) (BUENO et al., 2013; FERREIRA; SILVA; COELHO, 2001). A partir deste reporte, *M. basicornis* tem sido objeto de estudos devido à eficácia deste predador nativo no controle biológico de *T. absoluta* (BUENO; LENTEREN, 2012).

As fêmeas de *M. basicornis* ovipositam na nervura principal das folhas e no caule de plantas. Os ovos são inseridos no tecido da planta ficando somente como opérculo visível. O desenvolvimento do predador ovo-adulto é de $28,9 \pm 0,20$ a 24 °C (MONTES, 2013). A fase ninfal é composta por cinco instares independente da temperatura em que foram expostos (MONTES, 2013) e tem a facilidade de sobreviver e reproduzir em plantas de tomate. Estudos realizados por Bueno et al. (2013) mostram que *M. basicornis* tem taxas de predação semelhante às reportadas para os mirídeos, os quais são usados no controle biológico em casa de vegetação na Europa. As ninfas e adultos forrageiam constantemente os vegetais, e em plantas de tomate que têm folhas com trichomas, o predador é capaz de caminhar sem dificuldade na busca de ovos e lagartas do inseto praga (BUENO et al., 2013).

As características de *M. basicornis* são: períodos relativamente curtos de desenvolvimento, baixa mortalidade nas fases ninfais, alta fecundidade média e altas taxas de predação de ovos e lagartas, além de se reproduzirem com sucesso nas plantas de tomate. Sendo assim, tem-se considerado este predador como agente de controle biológico promissor no manejo de *T. absoluta* (BUENO et al., 2013).

2.4 Interação nematoides entomopatogênicos × predadores

As relações entre predadores e os nematoides é importante por quanto a persistência e infectividade dos NEP depende de seu desenvolvimento dentro do hospedeiro. Segundo Baur, Kaya e Strong (1998), o fato de o predador consumir só uma parte do hospedeiro dos NEP pode causar a morte dos nematoides por ressecamento do cadáver. Esta circunstância pode se dar devido aos hospedeiros dos NEP permanecerem intactos enquanto se desenvolvem os nematoides dentro do corpo destes e este tempo pode levar de 7 a 15 dias (KAYA, 2002), tempo em que os hospedeiros podem ficar suscetíveis à predação, já que sua defesa é reduzida (FOLTAN; PUZA, 2009). Com isso, a predação do hospedeiro pode afetar a população dos NEP e com isso a regulação da praga. Assim, também a relação do predador e os nematoides pode afetar a população do predador indiretamente quando o nematoide causa a morte do hospedeiro ou diretamente, através de sua infecção e consequente morte (ROSENHEIM et al., 1995). Isto acontece devido aos NEP atuarem regulando populações de diferentes espécies de insetos (KAYA, 2002; LACEY et al., 2001).

Porém, a ocorrência simultânea de dois organismos usados para o controle biológico pode também afetar negativamente o controle, devido a interações que podem acontecer entre eles. Desta forma, pode se dar a predação intraguilda, entendida como uma interação entre dois competidores que eventualmente possam interagir como predador - presa (POLIS; MYERS, 1989; EVERARD; GRIFFIN; DILLON, 2008). Infelizmente, a maioria dos estudos destinados à predação intraguilda entre nematoides e outros inimigos naturais enfoca, principalmente, os parasitoides, sendo escassas as informações desta relação entre nematoides e predadores (EVERARD; GRIFFIN; DILLON, 2008).

Considerando-se que este predador fosse liberado no mesmo ambiente que os NEP e se alimenta das larvas de *T. absoluta* que podem ser hospedeiras

dos mesmos, um dos objetivos deste trabalho foi avaliar a suscetibilidade do predador *M. basicornis* a dois nematoides, que apresentaram alta eficiência no controle de *T. absoluta*. Além disso, devido à possibilidade de o predador encontrar larvas contaminadas por nematoides no cultivo de tomate aplicado com os NEP, os outros objetivos do trabalho foram avaliar o consumo e o efeito da alimentação de *M. basicornis* a presas hospedando NEP.

REFERÊNCIAS

- AGRIPEST. *Tuta absoluta*. **Tuta Absoluta Information Network**, New York, 2011. Disponível em: <<http://www.tutaabsoluta.es/tuta-absoluta>>. Acesso: 07 fev. 2012.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Editora da FEALQ, 1998.
- ARNO, J.; GABARRA, R. Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). **Journal of Pest Science**, Amsterdam, v. 84, n. 4, p. 513–520, Dec. 2011.
- BACCI, L. et al. Inimigos naturais da traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 2808-2812, jul./ago. 2008.
- BARRIENTOS, R. et al. Temperatura base y constante termica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago de Chile, v. 25, n. 3, p. 133–137, Sept./Dec. 1998.
- BATALLA-CARRERA, L.; MORTON, A.; GARCIA, F. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta Absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 55, n. 4, p. 523-530, Mar. 2010.
- BAUR, M. E.; KAYA, H. K.; STRONG, D. R. Foraging ants as scavengers on entomopathogenic nematode-killed insects. **Biological Control**, Orlando, v. 12, n. 3, p. 231-236, July 1998.
- BAUR, M.; KAYA, H.; THURSTON, G. Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 77, n. 3, p. 239-250, Dec. 1995.
- BEN, Y. et al. Evaluation of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on sweet corn in Israel. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 26, n. 2, p. 101-108, June 1998.

BENVENGA, S.; FERNANDES, A.; GRAVENA, S. Tomada de decisão de controle de traça-do-tomateiro através de armadilhas com feromônio sexual. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 164-169, 2007.

BUENO, V. et al. New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by Brazilian Hemiptera predatory bugs. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 137, n. 1, p. 29-34, Feb. 2013.

BUENO, V. H. P. Desenvolvimento e multiplicação de percevejos e predadores do gênero *Orius* Wolff. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: Editora da UFLA, 2000. Cap. 6, p. 69-90.

BUENO, V. H. P.; LENTEREN, J. C. V. Predatorybugs (Heteroptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Insectbio ecology and nutrition for integrated pest management**. New York: CRC Press, 2012. p. 539-569.

CARRIJO, O. A. et al. Produtividade do tomateiro em diferentes substratos e modelos de casas de vegetação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 05-09, jan./mar. 2004.

CARVALHO, J.; PAGLIUCA, L. Tomate: um mercado que não pára de crescer globalmente. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 58, p. 6-14, jun. 2007.

CUTHBERTSON, A. et al. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Setinernema feltiae*, against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) under laboratory and glasshouse conditions. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 97, n. 1, p. 9-14, Feb. 2007.

DESNEUX, N. et al. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Amsterdam, v. 83, n. 3, p. 197–215, Aug. 2010.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION ORGANISATION EUROPÉENNE ET MÉDITERRANÉENNE POUR LA PROTECTION DES PLANTES. Data sheets on quarantine pests Fiches informatives sur les organismes de quarantaine. **Bulletin**, Venezuela, v. 35, p. 434–435, 2005.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. **Joint international symposium on management of *Tuta absoluta***. Marocco: IOBC, 2011. Disponível em: <http://archives.eppo.org/MEETINGS/2011_conferences/tuta_absoluta.htm>. Acesso: 8 fev. 2012.

EVERARD, A.; GRIFFIN, C.; DILLON, A. Competition and intraguild predation between the braconid parasitoid *Bracon hylobii* and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis downesi*, natural enemies of the large pine weevil, *Hylobius abietis*. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 99, n. 2, p. 151-161, Apr. 2008.

FERREIRA, D. F. 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, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FERREIRA, P. S. F.; SILVA, E. R. da; COELHO, L. B. N. Miridae (Heteroptera) fitófagos e predadores de Minas Gerais, Brasil, com ênfase em espécies com potencial econômico. **Iheringia, Série Zoológica**, Porto Alegre, v. 91, n. 1, p. 159-169, nov. 2001.

FOLTAN, P.; PUZA, V. To complete their life cycle, pathogenic nematode-bacteria complexes deter scavengers from feeding on their host cadaver. **Behavioural Processes**, Amsterdam, v. 80, n. 1, p. 76-79, Jan. 2009.

GARCIA, L. C.; RAETANO, C. G.; LEITE, L. G. Tecnologia de aplicação para os nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) para controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 3, p. 305-311, May/June 2008.

GARCIA-DEL-PINTO, F. G.; ALABERN, X.; MORTON, A. Efficacy of soil treatments of entomopathogenic nematodes against the larvae, pupae and adults of *Tuta absoluta* and their interaction with the insecticides used against t. This insect. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 58, p. 723-731, 2013.

GAUGLER, R. **Entomopathogenic entomology**. New York: Cabi, 2002.

GIOMETTI, F. et al. Virulência de nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 81-86, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052011000100013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 mar. 2013.

GIUSTOLIN, T. A. et al. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) criada em dois genótipos de tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 417-421, 2001.

GONRINGA, H. R. et al. Naturalbiological control and key mortality factors of *Diaphania hyalinata* (Lepidoptera:Pyralidae) incucumber. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 361-366, Oct. 2003.

GONZALES, M. et al. Susceptibility of *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 4, p. 1105-1108, Apr. 2000.

HAJI, F. N. P. et al. Flutuação populacional da traça-do-tomateiro no submédio São Francisco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 7-14, jan. 1988.

HASSANI, K.; KARIMI, J.; HOSSEINI, M. Efficacy of entomopathogenic nematodes against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 146-159, Oct. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.
Levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro: Centro de documentação e disseminação de informações, 2013.

KAYA, H. K. Natural enemies and other antagonists. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic entomology**. New York: Cabi, 2002. p. 189–204.

LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biological Control**, Orlando, v. 21, n. 3, p. 230-248, July 2001.

LINS, J. et al. Response of the zoophitophagous predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nswidiocoris tenuis* to voláteis of uninfested plants and to plants infested by prey or conspecifics. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 24, n. 12, p. 1339-1348, 2014.

MADEIROS, M. A.; VILLAS, B. G. L.; CARRIJO, A. O. Estudo preliminar do controle biológico da traça-do-tomateiro com o parasitoide *Trichogramma pretiosum* em ambientes protegidos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 80-85, jan. 2009.

MALLAMPALLI, N.; CASTELLANOS, I.; BARBOSA, P. Evidence for intraguild predation by *Podisus maculiventris* on a ladybeetle, *Coleomegilla maculata*: implications for biological control of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa de celineata*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 47, n. 4, p. 387-398, June 2002.

MALTA, A. W. O. **Flutuação populacional e calibração de níveis de ação para o manejo integrado de pragas do tomateiro na mesorregião metropolitana de Belo Horizonte**. 1999. 91 p. Teses (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

MARCHIORI, C. H.; SILVA, C. G.; LOBO, A. P. Primeira ocorrência do parasitoide Conurasp. (Hymenoptera:Chalcididae)em pupas de *Tuta absoluta* (Meyrick,1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em cultivar de tomate em Lavras, MinasGerais, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo,v.70, n. 1, p. 115-116, jan./mar. 2003.

MIHSFELDT, L. H.; PARRA, J. R. P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 769-776, Oct./Dec. 1999.

MONTES, F. **Características biológicas dos estágios imaturos de três predadores * Hem: Miridae) alimentados com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.:Pyralidae) em cinco temperaturas**. 2013. 58 p. Teses (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MULLER, C.; BRODEUR, J. Intraguild predation in biological control and conservation biology. **Biological Control**, Orlando, v. 25, p. 216-223, 2002.

NAIKA, S. et al. **A cultura do tomate**. Wageningen: Fundação Agromisa, 2006.

NAVON, A. et al. Effectiveness of entomopathogenic nematodes in an alginate gel formulation against lepidopterous pests. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 12, n. 6, p. 737-746, Dec. 2002.

PINENT, S. M. J.; CARVALHO, G. S. Biologia de *Frankliniella schultzei* (Trybom) (Thysanoptera: Thripidae) em tomateiro. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 4, p. 519-524, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-80591998000400003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 22 maio 2013.

POLIS, G.; MYERS, A. C. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat other. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 20, p. 297-330, Nov. 1989.

QUEIROZ, J.; SHINZATO, A.; ALVES, M. Producao de tomate. **Bioscience Journal**, Uberlandia, v. 23, n. 2, p. 07-15, Apr./June 2007. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAP10AL/producao-tomate#>>. Acesso em: 18 fev. 2012.

RAMOS, C. **La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una plaga muy agresiva**. México: [s.n.], 2011. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?aq=f&ix=seb&sourceid=chrome&ie=UTF-8&q=g#hl=pt-BR&scient=psy-ab&q=La+polilla+del+tomate+Tuta+absoluta+\(Meyrick\)%2C+una+plaga+muy+agresiva.+Ing.>](http://www.google.com.br/search?aq=f&ix=seb&sourceid=chrome&ie=UTF-8&q=g#hl=pt-BR&scient=psy-ab&q=La+polilla+del+tomate+Tuta+absoluta+(Meyrick)%2C+una+plaga+muy+agresiva.+Ing.>). Acesso em: 07 mar. 2012.

RASDI, M.; FAUZIAH, I.; MOHAMAD, W. Biology of *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) Predator of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). **International Journal of Biology**, Oxford, v. 1, n. 2, p. 63-70, July 2009.

RODRIGUES, M.; GERDING, M.; FRANCE, A. Efectividad de aislamientos de Hongos entomopatenos sobre larvas de la Polilla del Tomate *Tuta absoluta* Meryrick (Lepidoptera: Gelechiidae). **Agricultura Técnica**, Chillán, v. 66, n. 2, p. 159-165, Apr./June 2006.

RODRIGUES, R. et al. Aspectos biológicos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em dois genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-Tridecanona nos folíolos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 247-251, abr./jun. 1999.

ROSENHEIM, J. A. et al. Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. **Biological Control**, Orlando, v. 5, n. 3, p. 303-335, Sept. 1995.

SIMÃO, R.; RODRÍGUEZ, T. D. M. EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO DE TOMATE DE MESA NO ESTADO DE RONDÔNIA. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2012, Rio Branco. **Anais...** Rio Branco: Sober, 2012.

SINTESE ANUAL DA AGRICULTURA DE SANTA CARARINA. **Tomate:** concentração da produção por microrregião. Joaçaba: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, 2011. Disponível em: <http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/Sintese_2011/sintese%202010-2011.pdf>. Acesso em: 06 de nov. 2012.

SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. **Lavoura**. Rio de Janeiro: Sociedade Nacional de Agricultura, 2010. Disponível em: <<http://www.sna.agr.br/artigos/676/ALAV676-tomatelucr.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2012.

TORRES, J. B. et al. Within-plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immatures in processing tomatoes, with notes on plant phenology. **International Journal of Pest Management**, London, v. 47, n. 3, p. 173-178, Nov. 2001.

URBANEJA, A. et al. Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) in tomatoes of the Mediterranean basin. **Pest Management Science**, Valência, v. 68, n. 9, p. 1215, 2012. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.3344/pdf>>. Acesso em: 07 nov. 2012.

VAN LENTEREN, J. C. A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? **Crop Protection**, Berlin, v. 19, n. 6, p. 375-384, July 2000.

VILLAS BÔAS, G.; CASTELO, M.; MEDEIROS, M. **Manejo integrado da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*) em sistema de produção integrada de tomate indústria (PITI)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, Washington, v. 66, n. 1, p. 302-303, Sept. 1927.

YAN, X.; WANG, X.; HAN, R. Utilisation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. And *Steinernema* spp., for the control of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) in China. **Nematology**, Leiden, v. 16, n. 1, p. 31-40, Nov. 2014.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 Potencial de nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditis e Steinernema) para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomate

Elsa Judith Guevara AGUEDELO¹

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme
instrução do Manual de Normalização da UFLA.

¹ Laboratório de Patologia de Insetos, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, judilavras@hotmail.com

RESUMO

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma praga-chave nos cultivos protegidos de tomateiro na América do Sul e em parte da Europa. Conhecida a suscetibilidade de *T. absoluta* a algumas espécies de nematoides entomopatogênicos, foi realizado uma seleção de isolados sob condições de laboratório com nove populações de nematoides nativos do gênero *Heterorhabditis* (RSC3, Nepet11, JPM3, Ijaci e Alho) e as espécies *H. amazonensis* JPM4, *H. amazonensis* RSC 5, *H. indica* e *Steinernema carpocapsae*, com aplicação de 500 (JI)/mL dos nematoides sobre as larvas *Tuta absoluta* e 1000 (JI)/mL sobre pupas e larvas em minas nos folíolos de tomateiro. Com os nematoides *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4, que causaram as maiores mortalidades, foram determinadas a virulência sobre *T. absoluta* em cinco concentrações: 500, 750, 1.000, 1.250 e 1.500 juvenis infectantes (JI)/mL. Foram feitas aplicações nas larvas no interior das minas dos folíolos de tomate e aplicações nas pupas. A melhor eficácia de *S. carpocapsae* nas larvas em minas ocorreu para a concentração de 1.500 JI/mL com 91% de mortalidade. As concentrações de 1.250, 1.000, 750 e 500 JI/mL promoveram mortalidades entre 84, 74, 60, 44% respectivamente, e a melhor concentração para as pupas foi de 16% com 1.500 JI/mL. Já para *H. amazonensis* JPM4, as concentrações de 1.500 e 1.250 JI/mL promoveram as maiores mortalidades de larvas nas minas com 68 e 51% respectivamente e, em pupas, a maior mortalidade foi de 8% obtida com 1.500 JI/mL. O resultado desta pesquisa indica que *T. absoluta* tem maior suscetibilidade no estágio de larvas, em relação às pupas, e que existe a possibilidade de inserção destes nematoides entomopatogênicos no manejo da praga na cultura do tomateiro no Brasil.

Palavras-chave: Controle biológico. Nematoides entomopatogênicos. *S. carpocapsae*. *H. amazonensis* JPM4. *T. absoluta*.

1 INTRODUÇÃO

Tuta absoluta (Meyrick) é uma praga originária da América do Sul e está presente na maioria das regiões produtoras de tomate no mundo. As larvas desta espécie atacam as gemas e os brotos terminais durante todo o ciclo da cultura de tomate (GIUSTOLIN et al., 2001), consumindo os mesófilos das folhas, o que leva à formação de minas transparentes causando destruição total das folhas. As fêmeas depositam os ovos individualmente na parte abaxial da folha. As larvas emergem e passam por quatro instares larvais e todas se alimentam da planta de tomate. Podem ser encontradas pupas tanto nas folhas quanto no solo, dependendo da densidade populacional do inseto na planta (DESNEUX et al., 2010). Os danos nos frutos podem oscilar entre 50 e 100% (MINSFELDT; PARRA, 1999; AGRIPEST, 2011; EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION, 2005).

Atualmente o controle de *T. absoluta* é feito, principalmente, com inseticidas químicos, porém, com baixa eficácia, pois as características biológicas de sobreposição de gerações e o hábito alimentar das larvas com construção de minas, torna difícil e oneroso o controle (com até 36 pulverizações por cultivo), com altos custos ecológicos, além de eliminar inimigos naturais. Por tanto, a racionalização do uso de produtos fitossanitários e a busca de técnicas de manejo das populações da traça-do-tomateiro com o controle biológico são algumas das alternativas que permitem a produção sustentável deste cultivo (OLIVEIRA et al., 2008).

Nesse contexto os nematoides entomopatogênicos pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae são consideradas

excelentes agentes de controle biológico de fitófagos (GREWAL; EHLERS; SHAPIRO, 2005; HAZIR et al., 2013), sendo eficientes no controle de importantes pragas do solo e da parte aérea de plantas (GREWAL; EHLERS; SHAPIRO, 2005; CUTHBERTSON et al., 2007; BATALLA; MORTON; GARCIA, 2010; HUSSEIN; ADEL; GERBIC, 2012; NIEKERK; MALAN, 2012). O seu êxito no controle das pragas reside em vários fatores, como a ampla gama de hospedeiros, suas estratégias de forrageamento, sua tolerância a certos efeitos ambientais como temperatura, salinidade, conteúdo de matéria orgânica dos solos e a presença de certos produtos sanitários (GLAZER, 2001, GREWAL; EHLERS; SHAPIRO, 2005; CAMPBELL; KAYA, 2002).

Estes agentes de controle biológico possuem uma relação mutualística altamente específica com bactérias (do gênero *Xenorhabdus* com nematoides do gênero *Steinernema* e *Photorhabdus* com *Heterorhabditis*) que faz com que estes nematoides levem os insetos hospedeiros à morte rapidamente (entre 48 e 72 horas depois de infectados) (FORST; CLARKE, 2002; HAZIRT et al., 2013).

Estudos conduzidos por Batalla-Carrera, Morton e Garcia (2010) determinaram o potencial de controle de *T. absoluta* de três espécies: *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* e *Heterorhabditis bacteriophora* sobre larvas de *T. absoluta* em minas nas folhas, e obtiveram mortalidades variando entre 77 e 100%. Houve baixa mortalidade nas pupas que, embora seja baixa, provaram que o inseto é relativamente susceptível nesta fase de desenvolvimento.

Baseado no que foi mencionado anteriormente, neste estudo foi determinado a susceptibilidades de larvas e pupas de *T. absoluta* a

nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* do banco de nematoides do laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras. Uma vez identificados os dois melhores nematoides, procurou-se estabelecer a melhor concentração para causar a maior mortalidade de pupas e larvas dentro das minas nos folíolos de tomateiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras, localizada em Lavras, no estado de Minas Gerais, Brasil. Todos os insetos utilizados foram retirados de criações mantidas no laboratório.

2.1 Produção de nematoides entomopatogênicos

Os nematoides utilizados foram multiplicados pelo método *in vivo* de Wonodring e Kaya (1998), em lagartas de *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) criadas segundo a metodologia descrita por Dutky, Thompson e Cantwe (1964) e ajustada por Parra (1998). Os JI (juvenis infectantes) viáveis após serem coletados, foram contabilizados e usados imediatamente nos experimentos.

2.2 Criação de *Tuta absoluta*

Adultos de *T. absoluta* provenientes de plantas de tomateiro mantidas em casa de vegetação foram confinados em laboratório dentro de gaiolas de policloreto de vinila com dimensões de 47×47×47 cm com uma folha de tomateiro fixada em espuma fenólica de 3×22×10 cm devidamente umedecidas com água e colocadas dentro das gaiolas para oviposição. As folhas de tomateiro com ovos foram colocadas em outras gaiolas acondicionadas com espumas fenólicas nas quais foram adicionadas, a cada três dias, folhas de tomateiro para permitir a

alimentação das larvas e seu desenvolvimento. Desta maneira, a criação de *T.absoluta* foi mantida a 27 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase 12h para fornecer larvas e pupas necessárias aos experimentos.

2.3 Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos sobre *Tuta absoluta* em condições de laboratório

Com objetivo de determinar a capacidade de controle dos nematoides do banco de isolados do laboratório de patologia de insetos, do departamento de Entomologia da UFLA, foi realizada uma seleção de isolados (*screened*) (Tabela 1), os quais foram testados em aplicação direta sobre larvas e pupas e indireta em larvas dentro das minas nos folíolos de tomate sob condições de laboratório.

Tabela 1 Linhagens de nematoides entomopatogênicos usados na seleção de isolados sobre larvas e pupas de *Tuta absoluta*. Laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras, Lavras (MG)

Nematoide	Linhagens	Procedência
<i>Steinernema carpocapsae</i>	<i>Steinernema</i>	Exotico
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> isolado RSC 5	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> JPM4.	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis</i> isolado JPM 3	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis</i> isolado RSC 3	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis</i> isolado NEPET 11	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis indica</i>	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis</i> isolado IJACI	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo
<i>Heterorhabditis</i> ALHO	<i>Heterorhabditis</i>	Nativo

2.4 Seleção de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações diretas sobre larvas e pupas de *Tuta absoluta*

Foram utilizados larvas de 3° e 4° instar e pupas, todas provenientes da criação do laboratório da Ufla. As unidades experimentais foram placas de Petri de 5 cm de diâmetro.

No experimento com larvas, foi depositado dez gramas de areia esterilizada (em autoclave por 30 minutos, a 121 °C), dentro da placa de Petri de 5 cm de diâmetro e sobre a areia foi adicionada uma larva. Em seguida, foi aplicado 1 mL da solução padronizada com 500 JI de um dos nematoides citados na Tabela 1. Nos bioensaios com pupas, as placas de Petri continham três discos de papéis-filtro esterilizados com as mesmas dimensões da placa, e sobre estes foi adicionada a pupa e nesta, aplicada 1 mL da suspensão padronizada com 1.000 JI. As soluções padronizadas usadas neste experimento para larvas e pupas foram determinadas mediante a realização de seis pré-testes, os quais indicaram as soluções de 500 e 100 JI de nematoides para ser testados em larvas e pupas de *T. absoluta* respectivamente.

Em ambos os experimentos, o tratamento testemunha consistia dos insetos nas mesmas condições (larvas de terceiro e quarto instar e pupas da mesma criação), porém, com a aplicação de 1 mL de água destilada. Todas as aplicações foram realizadas com ajuda de uma pipeta e as placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, considerando-se cada

tratamento um nematoide (espécie ou linhagens) e cada placa, uma repetição. A mortalidade das larvas e pupas foi verificada após 72 horas da aplicação e constatada a mortalidade pela presença dos NEP, mediante dissecados.

2.5 Seleção de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações foliares para controle de larvas de *Tuta absoluta*

Foram utilizadas larvas de 3^o e 4^o instar localizadas dentro das minas construídas pelas mesmas em folíolos de tomate para sua alimentação. As unidades experimentais foram placas de Petri de 9 cm de diâmetro.

Os folíolos de tomate utilizados no experimento foram retirados da criação de *T. absoluta* em laboratório. Para cada unidade experimental foi utilizado um folíolo infestado com 2 a 20 larvas, e este foi colocado dentro de uma placa de Petri, e sobre ele foi aplicado 1 mL da suspensão padronizada de 1.000 JI/ml, de um dos nematoides citados na Tabela 1. As aplicações das suspensões foram realizadas com um bico pulverizador ligado a um compressor de ar, regulado com pressão de 10 Psi, e pulverizando-se o conteúdo nos dois lados do folíolo de maneira igual. A concentração de 1.000 JI/ml usada neste experimento seguiu o protocolo de Batalla- Carrera, Morton e Garcia (2010). No tratamento controle, foi utilizado um folíolo de tomate nas mesmas condições dos demais tratamentos, porém com a pulverização de 1 mL de água destilada. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 26 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 15 repetições por tratamento, sendo cada tratamento um nematoide descrito na Tabela 1. Após 72 horas da pulverização, as folhas foram vistoriadas e verificadas a mortalidade das larvas, sendo que os mortos foram dissecados para verificar a presença de nematoides. Para cada unidade experimental de cada tratamento, o valor da mortalidade utilizado foi a razão entre o número de larvas mortas por nematoide e o número total de larvas infestadas por folíolo.

2.6 Virulências de *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 no controle de pupas de *Tuta absoluta* e de larvas em aplicação foliar

A partir dos resultados da seleção de isolados, foram avaliadas cinco diluições seriadas e padronizadas (500, 750, 1.000, 1.250 e 1.500 Jls/ml) das espécies *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 quanto à virulência sobre larvas no interior das minas e em pupas.

Os folíolos de tomate utilizados no experimento foram retirados da criação de *T. absoluta* em laboratório. Para cada unidade experimental, foi utilizado um folíolo infestado com 2 a 20 larvas, que foi colocado dentro de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro, e sobre ele foi aplicado 1 mL de suspensão padronizada das concentrações de cada nematoide. As aplicações das suspensões foram realizadas com um bico pulverizador ligado a um compressor de ar, regulado com pressão de 10 Psi e pulverizando-se o conteúdo nos dois lados do folíolo de maneira igual. No tratamento controle, foi utilizado um folíolo de tomate nas mesmas

condições dos demais tratamentos, porém com a pulverização de 1 mL de água destilada. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 26 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Para avaliação sobre as pupas, foi aplicado 1 mL das soluções padronizadas que continham 1.000 JI infectantes dos nematoides, sobre placas de Petri de 5 cm de diâmetro, que continham três discos de papel filtro e uma pupa em cada placa. As aplicações foram realizadas com o auxílio de uma pipeta. No tratamento controle, foi inoculado 1 mL de água destilada, usando uma pipeta.

Os biensaio foram realizados com 15 repetições por tratamento. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 26 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A mortalidade das larvas e pupas foi verificada 72 horas após aplicação e constatada a mortalidade por nematoides, mediante dissecação.

Nos experimentos de seleção de isolados sobre larvas diretas e larvas no interior dos folíolos de tomate, foram realizados análises de variância (Anova) e posteriormente foi efetuado o Teste de Tukey ($P < 0,05$). Na seleção de isolados sobre pupas, foram realizadas análises de Kruskal-wallis.

Para a determinação da virulência dos nematoides sobre *T. absoluta* foi realizada regressão logística (GLM com função *logit* e erro binomial). A regressão logística foi utilizada como um modelo preditivo para estimar a mortalidade da população de *T. absoluta*. A separação de médias e a regressão logística foram conduzidas no *software* R (R Development Core Team, 2013).

3 RESULTADOS

3.1 Seleções de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações diretas sobre larvas e pupas de *Tuta absoluta*

Houve grande susceptibilidade das larvas a todos os nematoides e grande variabilidade na patogenicidade dos mesmos, com mortalidades variando entre 26 e 100%. Os resultados mostraram que o nematoide *Heterorhabditis* sp isolado Alho causou 100% de mortalidade, seguido de seis nematoides do mesmo gênero, sendo eles o *H. amazonensis* RSC5, *Heterorhabditis* sp. isolado Nepet11, *Heterorhabditis* sp. isolado JPM3, *Heterorhabditis* sp. isolado Ijaci, *Heterorhabditis* sp. isolado RSC3 e *H. amazonensis* JPM4 os quais provocaram mortalidades entre 73 e 93%. A espécie *S. carpocapsae* causou 60% de mortalidade das larvas e o nematoide *H. indica* 26% das larvas (Figura 1) ($F(15,94) = 22, P < 0,05$). Não foram observadas larvas mortas no tratamento controle.

Quanto às pupas, estas mostraram baixa suscetibilidade aos nematoides, não havendo diferença entre os tratamentos com os nematoides e a testemunha. A porcentagem de mortalidade oscilou entre 0 e 20% ($F(0,94) = 0,4, P \leq 0,05$).

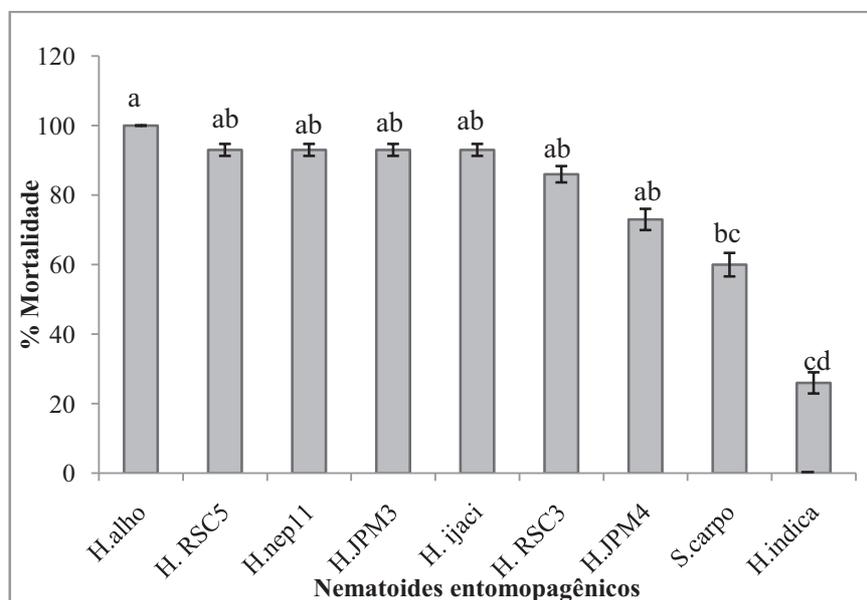


Figura 1 Mortalidade (% \pm EP) de larvas de *T.absoluta* por nematoides entomopatogênicos

Legenda: Médias com a mesma letra não diferem significativamente ($P < 0,05$) segundo o teste de Tukey.

3.2 Seleção de linhagens de nematoides entomopatogênicos em aplicações foliares para o controle de larvas de *T. absoluta* em minas

Com relação ao controle das larvas presentes nas minas dos folíolos de tomate, os mesmos nematoides utilizados nos testes anteriores demonstraram grande variabilidade na sua patogenicidade causando mortalidades entre 41 e 90% ($F(15,6) = 2,2$ $P \leq 0,05$). Os melhores resultados foram obtidos com *S.carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM 4 com mortalidade média de 80 e 90,7% respectivamente, seguido por *Heterorhabditis* sp. isolado RSC3 com 74,4% e *Heterorhabditis* sp.

isolado JPM3 com 73%. Os nematoides *H. amazonensis* RSC5 e *Heterorhabditis* sp. isolado Nepet 11, Ijaci e Alho causaram mortalidades entre 58 e 64%. A menor mortalidade foi observada com *H. indica* com média de 41,6% (Figura 2). O tratamento controle não apresentou mortalidade.

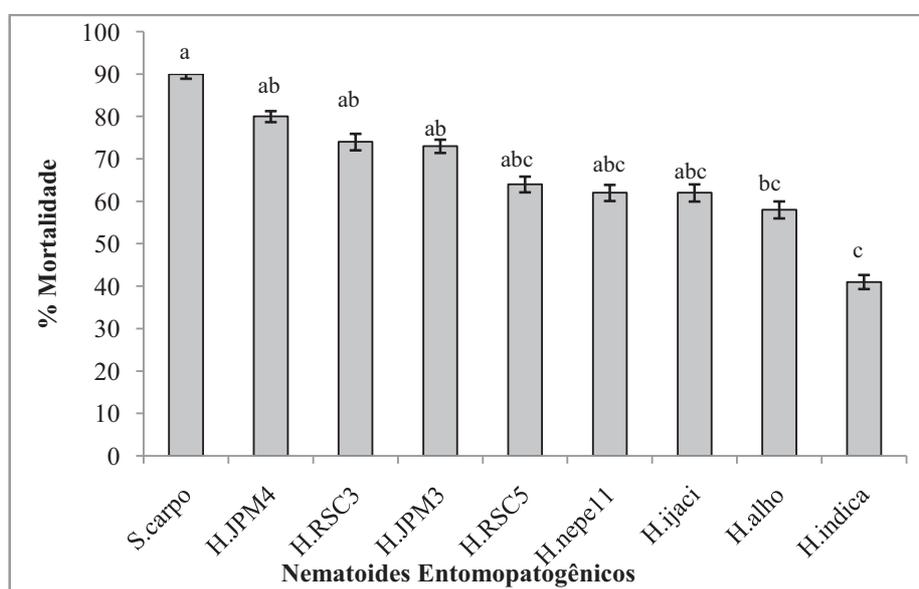


Figura 2 Mortalidade (% \pm EP) de larvas de *T. absoluta* no interior das minas em folíolos de tomate

Legenda: Médias com a mesma letra não diferem significativamente ($P < 0,05$) segundo o teste de Tukey.

3.3 Virulências *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 sobre larvas e pupas de *Tuta absoluta*

De forma geral, a aplicação de *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 mostrou que as larvas de *T. absoluta* dentro das minas possuem

grande susceptibilidade nas diferentes concentrações dos dois nematoides (500 até 1.500 JI/mL), sendo que ela foi proporcional à quantidade de juvenis infectantes em cada tratamento. Já as pupas apresentaram baixa suscetibilidade a todos os tratamentos.

Para as larvas no interior das minas, a melhor virulência foi 91% e obtida por *S. carpocapsae* na concentração de 1.500 JIs/mL. Posteriormente, as concentrações de 1.250, 1.000, 750 e 500 JIs/mL deste nematoide mostraram mortalidades de 84, 74, 60, 44% respectivamente (Figura 3). Já para *H. amazonensis* JPM 4, a melhor mortalidade foi de 68% com 1.500 JIs/mL. As outras concentrações (1.250, 1.000, 750 e 500 JIs/mL) mostraram mortalidades de 60, 51, 42 e 34% respectivamente (Figura 3).

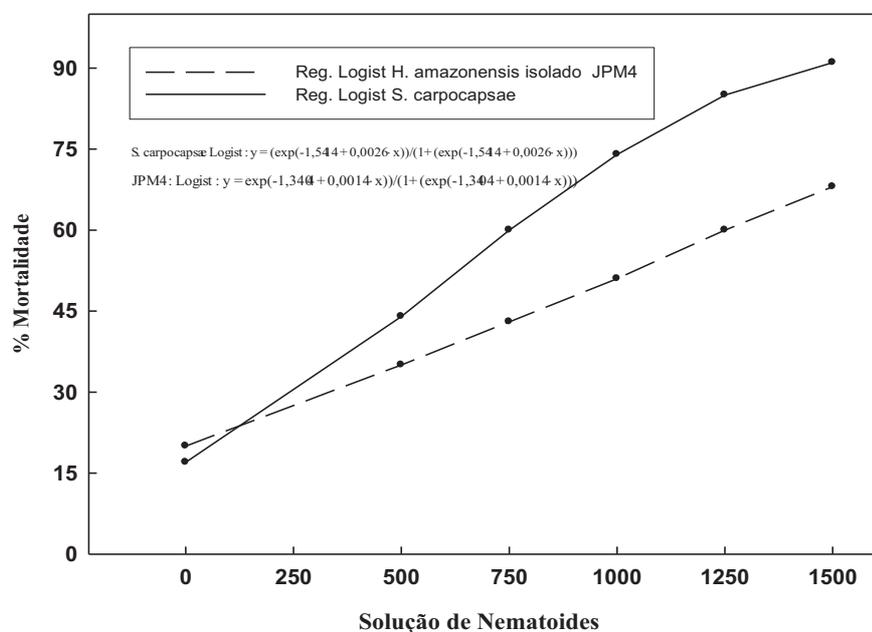


Figura 3 Mortalidade de larvas de *T. absoluta* no interior das minas nos folíolos de tomate por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4

Com relação às pupas, a maior mortalidade foi obtida por *S. carpocapsae* sendo de 16% de pupas mortas com 1.500 JIs /mL, seguido de 7, 2 e 1% de mortalidade quando foram aplicados 1.250, 1.000 e 750 JIs/mL respectivamente, não havendo pupas mortas quando aplicados 500 JIs/mL, assim como no tratamento testemunha (Figura 4). No bioensaio com *H. amazonensis* JPM4, as mortalidades foram de 8, 4 e 1% nas aplicações de 1.500, 1.250 e 1.000 JIs/mL respectivamente. As outras concentrações e o tratamento controle não causaram mortalidade de pupas (Figura 4).

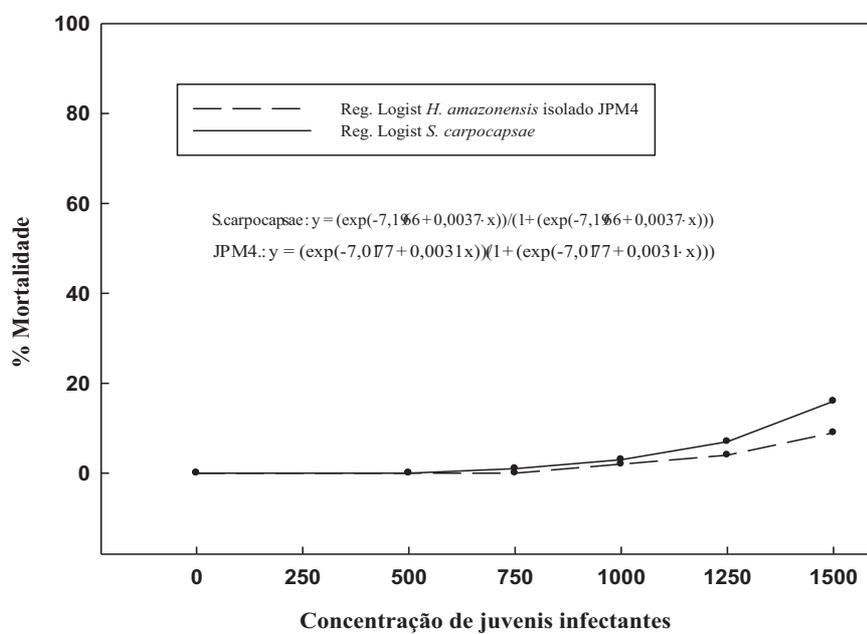


Figura 4 Mortalidade de pupas de *T. absoluta* por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4

4 DISCUSSÃO

No presente estudo foi observada a grande variabilidade de resposta na patogenicidade dos diferentes espécies e isolados dos nematoides entomopatogênicos sobre lagarta e pupa de *T. absoluta*. Os nematoides mostraram grande potencialidade no controle das larvas em aplicações diretas ou dentro das minas feitas pelas larvas nos folíolos de tomateiro. Já para as pupas, os nematoides não tiveram bom controle, as mortalidades obtidas foram baixas e variaram 0 a 20% não diferindo significativamente do controle. Estes resultados são similares aos encontrados por Garcia-del-Pino, Alabern e Morton (2013), quando foram realizadas aplicações no solo sobre larvas e pupas de *T. absoluta* e encontraram mortalidade de 100, 52,3 e 96% de infectadas por *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *H. bacteriophora* respectivamente, mas não foi observada mortalidades nas pupas. Igualmente Batalla-Carreta, Morton e Garcia (2010), avaliaram os mesmos três nematoides sob condições de laboratório e obtiveram entre 100 e 70% de mortalidade de larvas e apenas 10% de mortalidade em pupas. O fato de a pupa ser menos suscetível que as larvas pode ser devido à falta de aberturas naturais (boca e ânus) que facilitem a invasão dos nematoides nas pupas (LINDEGREN et al., 1993; GONZALES et al., 2000; REYES, 2003). Além disso, sabe-se que as pupas de lepidópteros são mais resistentes aos nematoides quando comparadas com os coleópteros (SHAHINA et al., 1999) devido, possivelmente, a que as pupas dos lepidópteros são tipo oblecta com os apêndices ligados no corpo, o que pode impedir a entrada do nematoide por ser dura. Pelo contrário, as pupas dos coleópteros são exarada com os

apêndices visíveis e agastada do corpo, tornando-as suscetíveis aos nematoides por serem de cobertura mole.

No trabalho com aplicação dos nematoides diretamente sobre lagartas de *T. absoluta*, observou-se as maiores virulências (73 e 100%) obtidas com os sete nematoides pertencentes ao gênero *Heterorhabditis* (as espécies *Heterorhabditis amazonensis* isolados JPM 4 e RSC 5, e *Heterorhabditis* sp isolados Alho, Nepet 11, JPM 3, Ijací, e RSC 3), o que é promissor, já que se tratam de nematoides nativos da região.

Vários trabalhos demonstraram o bom desempenho de nematoides do gênero *Heterorhabditis* no controle *in vitro* de lagartas de lepidópteros, como os realizados por Canhilal (2013) no qual nove nematoides deste gênero causaram mortalidades entre 53,6 a 100% de lagartas de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Rosa e Simões (2004) também encontraram mortalidades entre 32 e 100% como resultado das avaliações de 28 isolados de *H. bacteriophora* sobre larvas de sexto instar do lepidóptero de *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) considerada praga de pastagens.

Contudo, a elevada taxa de mortalidade das larvas deve ser considerada com moderação nestes estudos, já que os nematoides têm maior possibilidade de contato com as larvas nas placas de Petri (REYES, 2003), quando na realidade as larvas de *T. absoluta* normalmente são encontradas dentro das minas foliares feitas por elas para sua alimentação do mesófilo foliar.

Dos nove nematoides avaliados sobre larvas presentes nas minas nos folíolos de tomateiro, observou-se que todos tiveram capacidade de penetrar o mesófilo do folíolo e atingir as larvas, proporcionando níveis

de mortalidade entre 41 e 90%. Apesar da maioria dos nematoides avaliados pertencerem ao gênero *Heterorhabditis* (8), apenas um desse grupo (*H. amazonensis* JPM4) foi selecionado entre os dois mais virulentos com 80% de mortalidade, sendo o outro *S. carpocapsae* com 90% da mortalidade e único pertencente ao gênero *Steinernem*. Este resultado confirma o encontrado por várias pesquisas, as quais consideram o *S. carpocapsae* como uma gradiente de controle biológico para várias pragas de importância econômica como *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae); *Phthorimaea operculella* (ZELLER, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae); *Sesamiacretica* (LEDERER, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae); *Synanthedon pictipes* (GROTE & ROBINSON, 1868) (Lepidoptera: Sesiidae) entre as que se encontra *T. absoluta*. (YAN; WANG; HAN, 2014; GARCIA-DEL-PINO; ALABERN; MORTON, 2013; HASSANI; KAKHKI; HOSSEINI, 2013; GOZEL; GUNES, 2013; SHAPIRO-ILAN et al., 2010; BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA, 2010). A importância desta escolha, além da virulência, é que estes nematoides têm forrageamento diferente, o que pode facilitar o controle por um ou outro nematoide.

No teste das diferentes concentrações sobre larvas em minas feitas pelas larvas de *T. absoluta* em folíolos de tomateiro, com as espécies *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4, obteve-se um aumento gradativo na mortalidade das larvas em função do aumento das concentrações. Para os dois nematoides, a maior concentração (1.500 JIs/mL) foi a que causou a maior mortalidade. Porém, *H. amazonensis* JPM4 necessita de 1.000 JIs/mL para matar mais de 50% das larvas, enquanto *S. carpocapsae*, para causar a mesma mortalidade, necessita de 750 JIs/mL, indicando que *S.*

carpocapsae controla melhor as larvas de *T. absoluta* que *H. amazonensis* JPM4.

Resultados semelhantes foram obtidos no Brasil em aplicações de campo com o nematoide *H. indica* usado para o controle da lagarta do cartucho de milho (*Spodoptera frugiperda*: Lepidoptera, noctuidae), em que os resultados mostraram que esta espécie de *Heterorhabditis* sp. deve ser aplicada em doses maiores para conseguir mortalidades semelhantes às realizadas por *Steinernema* (GARCIA; RAETANO; LEITE, 2008).

Resultados semelhantes foram encontrados por Batalla-Carrera, Morton e Garcia (2010) para o nematoide *S. carpocapsae*, já que eles observaram 88% de mortalidade nas larvas de *T. absoluta* no interior das minas, quando usaram 5.000 JI/mL. Neste contexto, o a mortalidade causada por *S. carpocapsae* em *T. absoluta* neste estudo é considerado eficaz no controle das larvas de *T. absoluta* no interior das minas. Assim, este resultado ratifica a capacidade de controle de *S. carpocapsae* contra várias pragas, incluindo os lepidópteros, desde que seja aplicado em soluções como foi descrito anteriormente ou aplicado em forma de gel como no estudo realizado em *Spodoptera littoralis* (BOISDUVAL, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa armigera* (HUBNER, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae), sobre as quais foram obtidas mortalidades de 100% em lagartas quando alimentadas com 1.000 JI em gel por 24 horas (NAVON et al., 2002).

De forma geral, a mortalidade obtida pelos dois nematoides sobre larvas nas minas é muito importante, embora o mesófilo do folíolo possa atuar como uma barreira, limitando a busca e a entrada no hospedeiro (SMITH, 1999). Contudo, quando os nematoides entomopatogênicos

conseguem alcançar o hospedeiro, as minas formadas pelas larvas fornecem aos nematoides um excelente *habitat* para evitar fatores ambientais prejudiciais e antagonistas ao seu desenvolvimento, como dessecação e luz ultravioleta (ARTHURS; HEINZ; PRASIFKA, 2004) e permite o ótimo desempenho destes no controle. Consequentemente, este estudo indica que *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 mostraram maior agilidade para atravessar o mesofilo, particularidade que permitiu escolhê-los para determinar a melhor concentração com a qual se causou a maior mortalidade nas larvas, visando o manejo de *T. absoluta* em cultivos de tomate.

Na avaliação das dosagens sobre as pupas de *T. absoluta*, o estudo mostrou aumento gradativo na mortalidade em função do aumento das dosagens, embora as virulências fossem baixas (entre 1 e 16%) para os dois nematoides, o que indicou baixa eficácia no controle.

Finalmente é interessante ressaltar a capacidade que os nematoides apresentaram para atingir as larvas no interior das minas nos folíolos de tomateiro, e o destaque a considerar são as altas virulências conseguidas pelos nematoides nativos, que já estão adaptados às condições climáticas como também à entomofauna local. Devido a estas características, entre outras, a utilização de nematoides nativos deve ter prioridade sobre os exóticos, que devem ser aplicados em último caso, respeitando-se as condições impostas pela legislação vigente (DOLINSKP; MOINO JÚNIOR, 2006).

No entanto, ensaios em condições de casa de vegetação devem ser realizados a fim de obter resultados que sejam ajustados às condições

reais da presença de *T. absoluta* em plantas de tomate em cultivo protegido.

Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: *Heterorhabditis* e *Steinernema*) for biological control of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato.

ABSTRACT

Tuta absoluta is a pest (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) of tomato plants in South America and part of Europe. *T. absoluta* has a susceptibility to some species of entomopathogenic nematodes. Was made a selection of isolated under laboratory conditions with nine populations of genus native nematodes *Heterorhabditis* (RSC3, Nepet11, JPM3, Ijaci and Alho) and the species *H. amazonensis* JPM4, *H. amazonensis* RSC 5, *H. indica* and *Steinernema carpocapsae*, applying 500(JI)/mL and 1000 (JI)/mL of nematodes on larvae, pupes and larvae, respectively, all this applied on tomato leafs. Nematodes as *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 caused high mortality. Were used to determinate the virulence on *T. absoluta* in five concentrations: 500, 750, 1000, 1250, 1500 (JI)/mL of infective juveniles (IJs). These concentrations were applied in pupes, and larvae. The best efficiency of *S. Carpocapsae* on larvae was with 1500 JI /mL, representing 91% of mortality. Concentrations with 1250, 1000, 750 and 500 JI /mL caused mortality of 84%, 74%, 60% and 44% respectively. The best concentration for pupes was 1500 JI/mL represent at 16%. For *H. amazonensis* JPM4H, the concentrations 1500 JI/mL and 1250 JI/mL reached higher mortality in larvae, showing 68% and 51% respectively. For pupes mortality was 8% using 1500 JI /mL of concentration. The result of this research showed that *T. absoluta* has more susceptibility in larvae in relation with pupes. To use EPNs can be efficient as biocontrol strategies of *T. absoluta* in Brazil.

Key words: Biological control. Entomopathogenic nematodes. *S. carpocapsae*. *H. amazonenses* JPM4. *T. absoluta*.

REFERÊNCIAS

- AGRIPEST. *Tuta absouta*. **Tuta Absouta Information Network**, New York, 2011. Disponível em: <<http://www.tutaabsoluta.es/tuta-absoluta>>. Acesso: 07 fev. 2012.
- ARTHURS, S.; HEINZ, K. M.; PRASIFKA, J. R. An analysis of using entomopathogenic nematodes against aboveground pests. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 94, n. 4, p. 297-306, Aug. 2004.
- BATALLA-CARRERA, L.; MORTON, A.; GARCIA, F. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta Absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 4, p. 523-530, Aug. 2010.
- CAMPBELL, J. F.; KAYA, H. K. Variation in entomopathogenic nematode (Steinernematidae and Heterorhabditidae) infective-stage jumping behavior. **Nematology**, Leiden, v. 4, n. 4, p. 471-482, 2002.
- CANHILAL, R. Virulence of new South Carolinian Heterorhabditis isolates (Rhabditida: Heterorhabditidae) to the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. **African Journal of Microbiology Research**, Turkey, v. 7, n. 50, p. 5669-5676, Dec. 2013.
- CUTHBERTSON, A. et al. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Setinernema feltiae*, against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) under laboratory and glasshouse conditions. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 97, p. 9-14, 2007.
- DESNEUX, N. et al. Biological invasion of European tomato crops by *Tutaabsoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Amsterdam, v. 83, n. 3, p. 197-215, Aug. 2010.
- DOLINSKP, C.; MOINO JÚNIOR, A. Utilização de nematoides entomopatogênicos nativos ou exóticos: o perigo das introduções. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 139-149, maio 2006.

DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWE, 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.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. Data sheets on quarantine pests Fiches informatives sur les organismes de quarantaine. **Bulletin**, Venezuela, v. 35, p. 434–435, 2005.

FORSTS, S.; CLARKE, D. Bacteria-nematodesymbiosis. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 57-77.

GARCIA, L. C.; RAETANO, C. G.; LEITE, L. G. Tecnologia de aplicação para os nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) para controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, p. 305-311, 2008.

GARCIA-DEL-PINO, F.; ALABERN, X.; MORTON, A. Efficacy of soil treatments of entomopathogenic nematodes against the larvae, pupae and adults of *Tuta absoluta* and their interaction with the insecticides used against. **BioControl**, Dordrecht, v. 58, n. 6, p. 723–731, Dec. 2013.

GIUSTOLIN, T. A. et al. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) criada em dois genótipos de tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 417-421, Sept. 2001.

GLAZER, I. Survival biology. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology**. New York: CABI Publishing, 2001. p. 169-187.

GONZALES, M. et al. Susceptibility of *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) to heterorhabditis bacteriophora (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 4, p. 1105-1108, Aug. 2000.

GOZEL, U.; GUNES, C. Effect of entomopathogenic nematode species on the corn stalk borer (*Sesamia cretica* led. Lepidoptera: Noctuidae) at different temperatures. **Türkiye Entomoloji Derneği & Dergisi**, Turkey, v. 37, n. 1, p. 65-72, Nov. 2013.

GREWAL, P.; EHLERS, R.; SHAPIRO, I. **Nemodes as biological control**. Wallingford: CABI Publishing, 2005.

HASSANI, K.; KARIMI, J.; HOSSEINI, M. Efficacy of entomopathogenic nematodes against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 146-159, 2013.

HAZIR, S. et al. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turkish Journal of Biology**, Turkish, v. 27, p. 181-202, Jan. 2013.

HUSSEIN, H.; ADEL, M.; GELBIC, I. Effectiveness of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in agar gel formulations against larvae of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Central European Journal of Biology**, Czech, v. 7, n. 1, p. 77-82, Feb. 2012.

LINNAEUS, C. **Systema naturae**: genus homo. 10. ed. Laurentii: Holmiae, 1758.

LINDEGREN, J. E. et al. Susceptibility of pink boll-worm (Lepidoptera: Gelechiidae) soil associated stages to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). **Southwestern Entomologist**, London, v. 182, p. 113–120, June 1993.

MIHSFELDT, L. H.; PARRA, J. R. P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, Oct. 1999.

NAVON, A. et al. Effectiveness of entomopathogenic nematodes in an alginate gel formulation against lepidopterous pests. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 12, p. 737-746, Dec. 2002.

OLIVERA, A. de et al. Captura de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) com armadilha luminosa na cultura do tomateiro tutorado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 38, n. 3, p. 153-157, jul./set. 2008.

PARRA, J. R. P. Raising insects for studies of pathogens. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Microbialcontrol of insects**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 1015-1037.

R Development Core Team. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013.

REYES, M. A. **Nematodos entomopatogenos (Nematoda: Steinernematidae, Heterorhabditidae) em larvas y pupas de mosca de la fruta. *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae)**. 2003. 129 p. Tesis (Maestro en Ciencias) - Universidad de Colima, México.

ROSA, J. S.; SIMOES, N. Evaluation of twenty-eight strains of *Heterorhabditis bacteriophora* isolated in Azores for biocontrol of the armyworm, *Psudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, Orlando, v. 29, n. 3, p. 409-417, Mar. 2004.

SHAHINA, F. et al. Mortality response of some insects by entomopathogenic nematode *Steinernema* BS266. **Pakistan Journal of Nematology**, Karachi, v. 17, n. 2, p. 125-128, 1999.

SHAPIRO-ILAN, D. I. et al. Efficacy of *Steinernema carpocapsae* form control of the lesser peachtree borer, *Synanthedon pictipes*: improved aboveground suppression with a novel gel application. **Biological Control**, Orlando, v. 54, p. 23-28, 2010.

SIMITH, K. Factor affecting efficacy of optimal use of insecticidal nematode in pest management. In: POLAVARAPU, S. (Ed.). **Brunswick**. New Jersey: Rutgers University, 1999. p. 37-43.

VAN NIEKERTK, S.; MALAN, A. Potential of South African entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) for control of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Psudococcidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 111, n. 2, p. 166-174, Oct. 2012.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematidae and heterorhabditidae nematodes**: handbook of biology and techniques. Arkansas: Agricultural Experimental Station, 1998.

YAN, X.; WANG, X.; HAN, R. Utilisation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., for the control of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) in China. **Nematology**, Leiden, v. 16, n. 1, p. 31-40, 2014.

ARTIGO 2 Eficácia de *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 (Rhabditidae) sobre larvas de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em folíolos de tomate sob condições de laboratório (fitotrom) e casa de vegetação

Elsa Judith Guevara AGUEDELO²

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme instrução do Manual de Normalização da UFLA.

² Laboratório de Patologia de Insetos, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, judilavras@hotmail.com

RESUMO

A traça do tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:Gelechiidae), é considerada uma das pragas da América do Sul mais devastadora que afeta o cultivo de tomate, apresentando perdas entre 60 e 100%. Atualmente, *T. absoluta* é controlada principalmente com tratamentos químicos. No entanto, a ênfase está sendo colocada no estabelecimento de estratégias ambientalmente seguras. Visando ao controle biológico desta praga, a eficácia dos nematoides entomopatogênicos *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4, após a aplicação foliar de plantas de tomate em vaso foi avaliada em laboratório (fitotrom) e casa de vegetação. A aplicação foliar dos nematoides em laboratório (fitotrom) teve uma eficácia de 93% de mortalidade para *S. carpocapsae* e 87% para *H. amazonensis* JPM4 sem apresentar diferença significativa entre os nematoides. No experimento em casa de vegetação, as mortalidades também não apresentaram diferença entre os nematoides, mas foram menores que as obtidas no laboratório (fitotrom): *S. carpocapsae* teve 86% e *H. amazonensis* JPM4 causou 84% da mortalidade nas larvas, mostrando desta forma uma alta eficácia nos experimentos. Os resultados indicam que estes nematoides entomopatogênicos poderiam ser utilizados com grande potencialidade no controle de *T. absoluta* dentro de pacotes de manejo integrado em cultivos protegidos de tomate, com relevância por *H. amazonensis* JPM4, dado que é um nematoide entomopatogênicos nativo do Brasil.

Palavras-chave: Controle biológico. Nematoides entomopatogênicos. *S.carpocapsae*. *H. amazonensis* JPM4. *T. absoluta*.

1 INTRODUÇÃO

A traça do tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae) é uma praga-chave para a produção de tomate, tanto em condições de campo como em cultivo protegido e, desde 1970, está distribuída em grande parte da América do Sul. Recentemente, a *T. absoluta* foi encontrada em várias partes da Europa e na região do mediterrâneo como Espanha França, Itália, Marrocos, Argélia e Malta (RAMOS, 2011).

T. absoluta se desenvolve entre 20 a 45 dias, dependendo das condições ambientais. Os ovos são colocados na parte inferior das folhas, individualmente. A larva causa dano ao se alimentar da planta. Elas passam por quatro instares e quando completam esta fase de desenvolvimento, transformam-se em pupa nas folhas ou no solo. Depois de 7 a 21 dias emergem os adultos, segundo as condições ambientais. As fêmeas acasalam-se imediatamente após a emergência, voam e ovipositam de 55 a 130 ovos durante sua vida. Os adultos podem viver aproximadamente 10 dias (BARRIENTOS et al., 1998; HAJI et al., 1988; TORRES et al., 2001). O maior dano feito pelas larvas é causado quando estas penetram nos tecidos vegetais mais tenros minando os folíolos e bloqueando o caule, além de perfurarem as brotações apicais, atacar os frutos depreciando-os para a comercialização, e, em casos extremos, ocasionam a morte das plantas (MICHEREFF FILHO; GUIMARÃES; MOURA, 2013). A diminuição em rendimentos pode ser entre 50 e 100% de acordo com a severidade dos ataques (ARNO; GABARRA, 2011;

AGRIPEST, 2011; EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION, 2011).

O controle de *T. absoluta* tem sido feito, em geral, através de aplicações múltiplas, de inseticidas que além de onerar os custos de produção e causar efeitos adversos sobre o meio ambiente, têm se mostrado um método pouco eficiente, já que desde a década de 1980 vem se constatando a resistência destes insetos a alguns inseticidas como Abamectrin, Cartap e Permethrina (SIQUEIRA; GUEDES; PICANO, 2000).

Estratégias de manejo integrado de pragas estão sendo desenvolvidas para *T. absoluta* como o uso de feromônios sexuais sintéticos (SALAS, 2004), de cultivares resistentes (GILARDON et al., 2002; SUINAGA et al., 2003; JIN; HAN; CONG, 2011) práticas de campo, como rotação de culturas e combinação de agentes de controle biológico (parasitoides e predadores) (VILLAS; FRANCA, 1996; TORRES et al., 2001).

Dentre as alternativas biológicas para o manejo de *T. absoluta* em ambiente protegido, nematoides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae se destacam por causarem a morte de várias pragas de importância econômica (CURHBERTSON et al., 2007; TRDAN; VIDRIH; VALI, 2006; HUSSEIN; ADEL; GELBIC, 2012). Juvenis infectantes (IJ) carregam bactérias simbióticas que são liberadas na hemolinfa de seus hospedeiros, o que resulta em sua morte em até 48 horas (CAMPELL; KAYA, 2002; CROSS et al., 1999; ARTHURS; HEINZ; PRASIFKA, 2004). Esta capacidade de causar a

morte rápida do hospedeiro torna os nematoides entomopatogênicos grandes alternativas para o manejo de pragas.

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas utilizando nematoides entomopatogênicos para o controle de pragas de folhagens como *Steinernema carpocapsae* (Nematodea: Sterninermatidae) para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) praga importante de plantas crucíferas, cujas lagartas consomem as folhas e os brotos novos das plantas, sendo que os resultados alcançaram até 95% de controle das lagartas (BAUR; KAYA, 1995). Em trabalho realizado por Ben et al. (1998), foi avaliado potencial entomopatogênico de *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis bacteriophora* (Nemtaotodea: Heterorhabditidae) em campo sobre a traça do milho, *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae), obtendo-se diminuição de 25% dos danos econômicos quando realizada pulverizações destes organismos entomopatogênicos sobre as plantas. Dentre as pragas que penetram no mesófilo foliar, também tem sido estudada a susceptibilidade de *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzadea) a *Steinernma feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) para o seu controle em cultivos protegidos comerciais de alface, obtendo-se $82 \pm 5\%$ da mortalidade média após uma aplicação (WILLIAMS et al., 2002).

Por outro lado, aplicações de nematoides na parte aérea das plantas podem ter a eficiência de controle prejudicada devido aos efeitos nocivos das radiações UV e da temperatura, o que aumenta a taxa de dessecação dos JIs. (SHAPIRO-ILAN; COTTRELL, 2006; HEAD; LAWRENCE; WALTERS, 2004). Mas pesquisas mostram a redução destes efeitos antagonistas do ambiente quando os nematoides entomopatogênicos são aplicados junto com adjuvantes que aumentam a

área de cobertura e a persistência deles sobre as folhas (HEAD; LAWRENCE; WALTERS, 2004; JIN; HAN; CONG, 2004). Além disso, aplicações de nematoides entomopatogênicos em cultivos protegidos reduzem esses riscos, já que, nestes ambientes, há a possibilidade de regulação de temperatura e umidade, além de redução na incidência de raios solares. Diante destes fatos, pesquisas recentes procuram estratégias para melhorar a eficácia dos nematoides contra pragas de folhagens. (CURHBERTSONET et al., 2007; LAZNIK et al., 2010; LAZNIK; ANIDARCIC; TRADAN, 2011).

Quanto ao controle sobre *T. absoluta* estudos realizados por Batalla-Carrera, Morton e Garcia (2010), avaliaram a susceptibilidade de larvas de *T. absoluta* em casa de vegetação utilizando três espécies de NEPs (*S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *H. bacteriophora*) e encontraram mortalidade larval de 77 a 97%, o que mostra a alta capacidade destas espécies de nematoides em penetrar nas galerias e matar a larva. Além destes resultados, os tratamentos reduziram a infestação em 87-95% de *T. absoluta* nas plantas de tomate em casa de vegetação.

Com isto, o objetivo do presente estudo foi determinar a susceptibilidade das larvas de *T. absoluta* aos nematoides entomopatogênicos *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 em plantas de tomate em laboratório (fitotrom) e em casa de vegetação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos em Laboratório (fitotrom) e em casa de vegetação foram realizados no departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, no estado de Minas Gerais, Brasil. Os insetos utilizados foram retirados de criações mantidas no laboratório de patologia de insetos do mesmo departamento.

2.1 Produção de nematoides entomopatogênicos

Os nematoides usados neste experimento foram *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 multiplicados pelo método *in vivo* de Wonodring e Kaya (1998), em lagartas de *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) criadas segundo a metodologia descrita por Dutky, Thompson e Cantwe (1964) e ajustada por Parra (1998). Os JI viáveis foram coletados e imediatamente usados nos experimentos.

2.2 Criações de *Tuta absoluta*

Adultos de *T. absoluta* provenientes de plantas de tomate mantidas em casa de vegetação foram confinados em laboratório dentro de gaiolas de policloreto de vinila com dimensões de 47×47×47 cm com uma folha de tomateiro fixada em espuma fenólica de 3×22×10 cm devidamente umedecida com água e colocada dentro das gaiolas para oviposição. As folhas de tomateiro com ovos foram colocadas em outras gaiolas, acondicionadas com espumas fenólicas nas quais foram adicionadas a

cada três dias, folhas de tomateiro para permitir a alimentação e desenvolvimento das larvas. Desta maneira, a criação de *T. absoluta* foi mantida a 27 ± 2 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h para fornecer larvas e pupas necessárias aos experimentos.

2.3 Eficácia de *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 em larvas de *Tuta absoluta*

Com o objetivo de controlar 90% das larvas de *T. absoluta* dentro das minas no interior dos folíolos de tomateiro, por meio de aplicações de *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4, foram realizados estudos em fitotrom e em casa de vegetação e em ambos, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado e com 20 repetições por tratamento. O cultivar utilizado para estes experimentos foi a variedade Santa Clara e as condições ambientais no fitotron foram de 24 ± 2 °C, UR de $78 \pm 10\%$ e em casa de vegetação foram de 26 ± 3 °C, UR de $73 \pm 6\%$.

As concentrações dos nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 usadas para este estudo foram determinadas a partir de bioensaios em laboratório mediante a avaliação de mortalidade por cinco concentrações para cada nematoide, aplicadas sobre as larvas de *T. absoluta* no interior de folíolos de tomateiro. Com os dados, foram realizadas regressões logísticas, nas quais foi possível determinar a concentração necessária para matar 90% das larvas com *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* isolado JPM4, com isto, as doses foram 1.500 e 2.500 JI/mL respectivamente.

As unidades experimentais foram vasos plásticos (19 × 15 cm) onde foi cultivada uma planta de tomate por vaso em casa de vegetação. Quando as plantas alcançaram 30 cm de comprimento (cerca de 30 dias após o cultivo), cada planta foi infestada com 20 larvas de segundo e terceiro instar de *T. absoluta* provenientes da criação no laboratório, tanto para o experimento em laboratório no fitotrom quanto para a avaliação em casa de vegetação. O volume da solução (40 mL/planta) e os intervalos de tempos para a aplicação foram obtidos mediante quatro pré-testes realizados em laboratório e em casa de vegetação. Os tratamentos foram aspergidos com aplicador manual de 1,5 L procurando molhar todos os folíolos das folhas nas plantas.

Para o experimento no fitotrom, as plantas foram levadas ao laboratório no momento da infestação das larvas e, após 72 horas, as larvas penetraram completamente no mesófilo dos folíolos. As plantas foram colocadas dentro do fitotrom e realizadas as aplicações dos nematoides. Porém, 15 minutos antes de realizar as aplicações, foi aspergida, em todas as plantas, água para manter a umidade e favorecer a busca das larvas de *T. absoluta* pelos nematoides. Cada tratamento foi determinado com uma espécie de nematoide, contendo 20 plantas por tratamento e uma planta/vaso. Foram aplicados 40 mL/planta da solução em duas aplicações a intervalos de 24 horas (a primeira aplicação foi de 30 mL de solução e a segunda de 10 mL de solução por planta). As doses dos nematoides foram: 1.500 JI/mL para *S. carpocapsae* e 2500 JI/mL para *H. amazonensis* JPM4. As soluções continham 0,05% de VEGET'OIL[®] (adjuvante oleoso) para facilitar a aderência dos nematoides aos folíolos. O tratamento controle foi aplicado com água

destilada e 0,05% de VEGET'OIL[®] ao mesmo volume (40 mL/planta) usado para as soluções dos nematoides e aplicado nos mesmos intervalos de tempo (24 horas) utilizados nos tratamentos com os nematoides.

Já para o estudo em casa de vegetação, as plantas foram colocadas sobre bancadas de ferro afastadas entre elas. Depois, de 72 horas, as larvas penetraram completamente no mesófilo dos folíolos e com isto foram realizadas as aplicações de nematoides, porém, 15 minutos antes de realizar as aplicações foram aspergidas todas as plantas com água para manter a umidade e favorecer a busca das larvas de *T. absoluta* pelos nematoides. Cada tratamento foi determinado como uma espécie de nematoide, contendo 20 plantas por tratamento e uma planta/vaso. Foram aplicados 40 mL/planta da solução em duas aplicações a intervalos de 24 horas (a primeira aplicação foi de 30 mL de solução e a segunda de 10 mL de solução por planta). As doses dos nematoides foram: 1.500 JI/mL para *S. carpocapsae* e 2.500 JI/mL para *H. amazonensis* JPM4. As soluções continham 0,05% de VEGET'OIL[®] (adjuvante oleoso) para facilitar a aderência dos nematoides aos folíolos. O tratamento controle foi aplicado com água destilada e 0,05% de VEGET'OIL[®] ao mesmo volume (40 mL/planta) usado para as soluções dos nematoides e aplicado nos mesmos intervalos de tempo (24 horas) utilizados nos tratamentos com os nematoides.

Após de 96 horas (quatro dias) da última pulverização, foi realizada a avaliação dos tratamentos, na qual as larvas mortas foram removidas das plantas para serem dissecadas e assim confirmar a mortalidade por nematoides. Para cada planta de cada tratamento, o valor da mortalidade utilizado foi a razão entre o número de larvas mortas por

nematoide (constatada por dessecação das lagartas) e o número total de larvas infestadas por planta.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (Anova) e posteriormente foi efetuado o Teste de Tukey ($P < 0,05$). A separação de médias foi conduzida no *software* R, (R Development Core Team, 2013).

3 RESULTADOS

3.1 Eficácia de *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 sobre larvas de *T. absoluta* em fitotrom e casa de vegetação

A eficácia dos nematoides sobre as larvas no interior das minas nos folíolos de tomateiro foi eficaz em laboratório (fitotrom) e na casa de vegetação. Desta forma, as mortalidades sobre as larvas de *T. absoluta* causadas pelos dois nematoides não apresentaram diferença significativa em laboratório (fitotrom) ($F = 242,2$ $df = 2,2$ $P \leq 0,05$) e em casa de vegetação ($F = 1028,3$; $df = 2,2$, $P \leq 0,05$). Os tratamentos controles não ocasionaram mortalidades nas larvas nos dois lugares avaliados (laboratório e casa de vegetação).

Assim, no experimento em fitotrom, *S. carpocapsae* causou 93% da mortalidade e *H. amazonensis* JPM4 87% sobre as larvas dentro das minas nos folíolos de tomateiro. Os resultados em casa de vegetação também mostraram que as larvas de *T. absoluta* podem ser atingidas por nematoides. O nematoide *S. carpocapsae*, em casa de vegetação, causou 86% da mortalidade e *H. amazonensis* JPM4 causou 84% das larvas em minas dos folíolos.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que as larvas de *T. absoluta* no interior das minas nos folíolos de tomateiro são suscetíveis aos nematoides, *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4, obtendo altas mortalidades para os dois nematoides. Portanto, aplicações foliares destes nematoides podem atingir um controle bem sucedido desta praga. No fitotrom, o comportamento dos nematoides foi semelhante ao acontecido na casa de vegetação, só que com mortalidade maior (93% para *S. carpocapsae* e 87% para *H. amazonensis* JPM4), evento esperado devido ao fato das condições do ambiente serem mais constantes (24 ± 2 °C, UR de $78 \pm 10\%$).

Estes resultados obtidos no fitotrom e em casa de vegetação confirmam, assim como outras pesquisas, o potencial de controle dos nematoides entomopatogênicos no manejo de pragas de folhagem, principalmente em cultivos protegidos (GREWAL; EHKERSM; SHAPIRO, 2005), para o qual é necessário diminuir os obstáculos para manter a temperatura e a persistência destes na superfície das folhas em aplicações foliares (SHAPIRO-ILAN; COTTRELL, 2006; HEAD; LAWRENCE; WALTERS, 2004). Estudos realizados com os gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, contra outras pragas de insetos que habitam dentro dos caules como *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae), *Synanthedon pictipes* (GROTE and ROBINSON, 1868) (Lepidoptera: Sesiidae) e *Melittia cucurbitae* (HARRIS, 1828) (Lepidoptera: Sesiidae) (BELLINI; DOLINSKI, 2012; SHAPIRO-ILAN; HAN; DOLINSKI, 2012; CANHILAL; CARNER,

2006) também mostram grande eficiência de controle. Isso se deve ao fato destes insetos terem *habitats* crípticos (furos em caules ou minas nas folhas), que são favoráveis para evitar fatores ambientais prejudiciais (dessecação e luz ultravioleta). Assim, são mais eficazes para o controle do que quando aplicados na folhagem exposta (SHAPIRO et al., 2001).

Neste estudo, embora a virulência procurada de 90% só foi observada por *S. carpocapsae* (93%) em fitotrom, as outras virulências obtidas em casa de vegetação por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 também tiveram elevada eficácia, já que as mortalidades atingidas foram altas 86 e 84% respectivamente. Os resultados alcançados por *S. carpocapsae* em casa de vegetação são compatíveis como os obtidos por Batalla-Carrera, Morton e Garcia (2011) que, trabalhando com esta mesma espécie de nematoide para o controle de *T. absoluta* em casa de vegetação, encontrou 88% de mortalidade, sendo considerado eficiente agente de controle para *T. absoluta*.

Quanto ao *H. amazonensis* JPM4, os resultados obtidos foram de grande importância, já que se trata de um nematoide nativo da região de Minas Gerais, nunca antes avaliado para o controle de *T. absoluta*, alcançando a mesma eficácia de *S. carpocapsae*, nematoide recomendado para o controle de *T. absoluta* na Europa (BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA, 2010). O fato de ser uma espécie nativa é de fundamental importância já que é recomendado que as espécies de nematoides utilizadas para o controle biológico de pragas sejam compatíveis com a cadeia ecológica presente no solo, evitando-se assim, riscos de desequilíbrios no ambiente (ALMENARA et al., 2010).

Neste estudo, a diferença necessária entre as concentrações de *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 para-se atingir mortalidades semelhantes, pode ser devido às necessidades e atributos próprios e específicos de cada nematoide e de sua bactéria simbiote para que ocorra a infecção. Dentre as diferenças, os modos de reprodução de cada gênero são muito importantes, por exemplo, *Heterorhabditis* spp. tem reprodução por hermafroditismo e anfimixia que parecem ser regulados pelas condições ambientais, e já para *Steinernema* spp., o modo de reprodução é só por anfimixia. Estas e outras propriedades como o comportamento dos juvenis infectantes favorecem ou não a eficácia o que pode causar diferença no manejo destes (FUGA; FERNANDES; LOPES, 2012; HAZIR et al., 2003). As virulências encontradas neste trabalho são semelhantes à encontrada por Garcia, Raetano e Leite (2008) no Brasil, os quais utilizaram *H. indica* no controle de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), praga do milho em campo. Eles mostraram que esta espécie nativa produz resultados semelhantes aqueles obtidos por *Steinernema* sp, embora no caso de *Heterorhabditis* as quantidades de JIs infectantes aplicadas fossem maiores.

Os resultados encontrados nesta pesquisa são promissores, pois foram encontradas altas mortalidades mesmo com aplicações foliares em casa de vegetação com temperatura média de 26 ± 3 °C, condições que favorecem a dessecação dos nematoides, tornando-os menos ativos na busca ao hospedeiro (GREWAL; EHKERSM; SHAPIRO, 2005). Para prevenir esta situação, as aplicações foram realizadas depois das plantas serem aspergidas com água e aplicada a solução dos nematoides com adjuvante oleoso (0,05%), já que segundo estudos realizados por Jin, Han

e Cong (2004), as aplicações com adjuvantes beneficiam a sobrevivência e persistência dos nematoides. Além disso, as aplicações foram realizadas durante o período noturno, a fim de que os nematoides tivessem, no mínimo 8 horas após a aplicação, condições favoráveis de maior umidade, menores temperaturas e sem radiações solares, favorecendo assim o seu desempenho (ARTHURS; HEINZ; PRASIFKA, 2004). Para atingir mais de 50% da mortalidade, que pode ser obtida nas primeiras 3 horas de exposição aos nematoides, estes usam os orifícios de entrada dos túneis feitos pelas larvas evitando a dessecação e a luz ultravioleta para finalmente causar a infecção na lagarta (BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA, 2010). Mesmo não havendo registros, no presente trabalho, já foram observadas larvas mortas com sintomatologia característica de infecção por nematoides após 12 horas da primeira aplicação.

Logo, pequenas adaptações para as aplicações de nematoides para o controle de pragas diminuem os efeitos dos fatores abióticos adversos, facilitando ótimo comportamento dos nematoides para o manejo da praga.

Finalmente, diante dos resultados obtidos, verifica-se que os nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 mostraram-se patogênicos e com potencial de uso aplicado em solução sobre larvas no interior das minas dos folíolos de tomateiro.

***Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis amazonensis* JPM4
(Rhabditidae) Efficacy on larvae of *Tuta absoluta* (Meyrick)
(Lepidoptera: Gelechiidae), in tomato leaf under laboratory conditions
(Fitotrom) and greenhouse**

ABSTRACT

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) is considered one of the most devastated plague affecting tomato crops in South America reporting losses within 60% and 100%. Actually *T. Absoluta* is controlled principally with chemistry treatments, but now the priority is to establish safety environmental strategies. Was evaluated the efficiency of entomopatogens nematodes as *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 after application on tomato leaves in laboratory (fitotrom) and greenhouse. This application had a mortality efficiency of 93% to *S. carpocapsae*, and 87% to *H. amazonensis* JPM4 without significant difference between them. The mortality results for greenhouse reached 86% for *S. carpocapsae* and 84% for *H. amazonensis* JPM4. The difference between nematodes species was not significant. The results determinate that these entomopatogens nematodes could be used as a big potentiality to controlled *T. absoluta* for pest controls in tomato.

Key words: *M.basicornis*. *H. amazonensis* JPM4. *Tuta absoluta*.
Biological control. Intraguild predation.

REFERÊNCIAS

- AGRIPEST. *Tuta absouta*. **Tuta Absouta Information Network**, New York, 2011. Disponível em: <<http://www.tutaabsoluta.es/tuta-absoluta>>. Acesso: 07 fev. 2012.
- ALMENARA, D. et al. Nematoides entomopatogênicos: as duas faces de uma simbiose. Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, USP. **Revista da Biologia**, São Paulo, n. 6b, p. 1-6, jul. 2010.
- ARNO, J.; GABARRA, R. Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *macrolophus pygmaeus* and *nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). **Journal of Pest Science**, Amsterdam, v. 84, n. 4, p. 513–520, 2011.
- ARTHURS, S.; HEINZ, K. M.; PRASIFKA, J. R. An analysis of using entomopathogenic nematodes against aboveground pests. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 94, n. 4, p. 297-306, Aug. 2004.
- BARRIENTOS, R. et al. Temperatura base y constante termica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago de Chile, v. 25, n. 3, p. 133–137, 1998.
- BATALLA-CARRERA, L.; MORTON, A.; GARCIA, F. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta Absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 4, p. 523-530, Aug. 2010.
- BAUR, M.; KAYA, H.; THURSTON, G. Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 77, n. 3, p. 239-250, 1995.

BELLINI, L.; DOLINSKI, C. Foliar application of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) for de control of *Diatraea saccharalis* in greenhouse. **Semina: Ciências Agrarias**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 997-1004, maio/jun. 2012.

BEN, Y. et al. Evaluation of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on sweet corn in Israel. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 26, n. 2, p. 101-108, June 1998.

CAMPBELL, J. F.; KAYA, H. K. Variation in entomopathogenic nematode (Steinernematidae and Heterorhabditidae) infective-stage jumping behavior. **Nematology**, Leiden, v. 4, n. 4, p. 471-482, 2002.

CANHILAL, R.; CARNER, G. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditidae: Steinernematidae and Heterorhabditidae) against the Squash Vine Borer, *Melittia cucurbitae* (Lepidoptera: Sesiidae) in South Carolina. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Clemson, v. 23, n. 1, p. 27-39, 2006.

CROSS, J. et al. Biocontrol of pest of apples and pears in northern and central Europe. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 9, n. 2, p. 125-149, 1999.

CUTHBERTSON, A. et al. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Setinernema feltiae*, against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) under laboratory and glasshouse conditions. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 97, p. 9-14, 2007.

DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWE, 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.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. **Joint international symposium on management of *Tuta absoluta***. Marocco: IOBC, 2011. Disponível em: <http://archives.eppo.org/MEETINGS/2011_conferences/tuta_absoluta.htm>. Acesso: 8 fev. 2012.

FUGA, C. A. G.; FERNANDES, R. H.; LOPES, E. A. Nematoides entomopatogênicos. Centro de Ciências Agrárias e Ambientais- Universidade Federal do Maranhão, MA. **Revista Tropic: Ciências Agrárias e Biológicas**, Maranhão, v. 6, n. 3, p. 56-75, 2012.

GARCIA, L. C.; RAETANO, C. G.; LEITE, L. G. Tecnologia de aplicação para os nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) para controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, p. 305-311, 2008.

GILARDON, E. et al. Resistencia de líneas de tomate a la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyr.) en laboratorio y a campo. **Producción y Protección Vegetales**, Madrid, v. 17, n. 1, p. 35-42, 2002.

GREWAL, P.; EHKERSM, R.; SHAPIRO, I, D. **Nematodes as biocontrol agents**. Wallingford: CAB International, 2005.

HAJI, F. N. P. et al. Flutuação populacional da traça-do-tomateiro no submédio São Francisco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 7-14, jan. 1988.

HAZIR, S. et al. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turkish Journal of Biology**, Turkish, v. 27, p. 181-202, Jan. 2013.

HEAD, J.; LAWRENCE, A.; WALTERS, K. A Efficacy of entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against *Bemisia tabaci* in relation to plant species. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 128, n. 8, p. 543-547, Sept. 2004.

HUSSEIN, H.; ADEL, M.; GELBIC, I. Effectiveness of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in agar gel formulations against larvae of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Central European Journal of Biology**, Czech, v. 7, n. 1, p. 77-82, Feb. 2012.

JIN, Y.-L.; HAN, R. C.; CONG, B. Effects of application parameters and adjuvants on the foliar survival and persistence of entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* all strain on cabbages. **Insect Science**, Elmsford, v. 11, n. 2, p. 99-112, June 2004.

KAYA, H. K.; HARA, A. H.; REARDON, R. C. Laboratory and field evaluation of *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida:Steinernematidae) against the elm leaf beetle (Coleoptera:Chrysomelidae) and the western spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 113, p. 787-793, 1981.

LAZNIK, Z. et al. Control of the colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) on potato under field conditions: a comparison of the efficacy of foliar application of two strains of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiametoxam. **Jornal of Plant Diseases and Protection**, Oxford, v. 117, n. 3, p. 129-135, 2010.

LAZNIK, Z.; ANIDARCIC, D.; TRADAN, S. Control of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) adults on glasshouse-grown cucumbers in four different growth substrates: an efficacy comparison of foliar application of *Steinernema feltiae* (Filipjev) and spraying with thiamethozam. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Turkish, v. 35, n. 6, p. 631-640, 2011.

MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A.; MOURA, A. P. de. **A traça do tomateiro no mundo**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013.

PARRA, J. R. P. Raising insects for studies of pathogens. In: Alves, S.B.; ed. **Microbial control of insects**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 1015-1037.

RAMOS, C. **La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una plaga muy agresiva**. México: [s.n.], 2011. Disponível em: <

SALAS, J. Capture of *Tuta absoluta* intraps baited with its sex pheromone. **Revista Colombiana de Entomología**, Santafe de Bogota, v. 20, p. 75–78, 2004.

SHAPIRO, F. **Eye movement desensitization and reprocessing, basic principles, protocols and procedures**. 2. ed. New York: The Guilford Press, 2001.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; COTTRELL, T. E. Susceptibility of the lesser *Peachtree borer* (Lepidoptera: Sesiidae) to entomopathogenic nematodes under laboratory conditions. **Environmental Entomology**, College Park, v. 35, n. 2, p. 358-365, Apr. 2006.

SHAPIRO-ILLAN, D. I.; HAN, R.; DOLINKSI, C. Entomopathogenic nematode production and application technology. **Nematology**, Leiden, v. 44, n. 2, p. 206-217, June 2012.

SIQUEIRA, H. Q. A.; GUEDES, R.; PICANO, M. C. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta*. **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 2, n. 2, p. 147–153, May 2000.

SUINAGA, F. et al. Genetic dissimilarity among sources of resistance of *Lycopersicon* spp., to *Tuta absoluta* (MEYRICK, 10917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 4, p. 371-376, out./dez. 2003.

TORRES, B.; EVANGELISTA, W. S.; GUEDES, R. Dispersal of *Podisus nigrispinus* nymphs preying on tomato leafminer: effect of predator release time, density and satiation level. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 126, n. 6, p. 326–332, July 2002.

TORRES, J. B. et al. Within-plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immatures in processing tomatoes, with notes on plant phenology. **International Journal of Pest Management**, London, v. 47, n. 3, p. 173-178, 2001.

TRDAN, S.; VIDRIH, M.; VALI, N. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. **Jornal of Plant Diseases and Protection**, Oxford, v. 113, n. 4, p. 168-173, Jan. 2006.

VILLAS, B.; FRANCA, F. H. Use of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* for control of Brazilian tomato pinworm in tomato grown in the greenhouse. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 223–225, 1996.

WILLIAMS, R. et al. Assessing the potential of entomopathogenic nematodes to control the grape root borer *Vitacea poliformis* (Lepidoptera: Sesiidae) through laboratory and greenhouse e bioassays. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 12, p. 35-42, 2002.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematidae and heterorhabditidae nematodes**: handbook of biology and techniques. Arkansas: Agricultural Experimental Station, 1998.

ARTIGO 3 Interação entre os nematoides *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 (Rhabditidae) e instares e adulto do predador *Macrolophus basicornis* (Hemiptera: Miridae)

Elsa Judith Guevara AGUEDELO³

Artigo formatado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2003), conforme instrução do Manual de Normalização da UFLA.

³ Laboratório de Patologia de Insetos, Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, judilavras@hotmail.com

RESUMO

Estudos com inimigos naturais de *T. absoluta* vêm sendo realizados, com o intuito de avaliar o uso em programas de controle biológico da praga. Nesse sentido, o predador *Macrolophus basicornis* e os nematoides entomopatogênicos podem ser uma ferramenta importante para o manejo de larvas de *T. absoluta*. Este trabalho teve por objetivo determinar a interação entre o predador *M. basicornis* e os NEP, pelo compartilhamento de larvas de *T. absoluta* como recurso. Experimentos de laboratório com os diferentes estados ninfais e adultos do predador, foram realizados expondo-os ao contato direto com os nematoides entomopatogênicos, e experimentos com e sem chance de escolha, fornecendo larvas de primeiro e segundo instar de *T. absolutas* sadias e inoculadas com *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 as fêmeas de *M. basicornis* como presas. Verificou-se que a partir do segundo instar ninfal e até o adulto o predador foi suscetível a *S. carpocapsae* com mortalidades de (28%) nos adultos. Para *H. amazonensis* JPM4 os estados ninfaes susceptíveis foram segundo, terceiro, quarto e adultos com mortalidades semelhantes entre estes (1.3%). Nos estudos sobre chance e sem chance de escolha, observou-se que a fêmea de *M. basicornis*, se consegue alimentar das larvas sadias quanto das infectadas, sem exibir diferenças significativas no consumo, nem apresentar mortalidade no tempo da avaliação da sobrevivência, percebendo uma relação que não interfere negativamente entre eles. Diante disso, observa-se que estes inimigos naturais e *T. absoluta* podem ser aplicados como alternativas de controle biológico desta praga.

Palavras-chave: *M. basicornis*. *H. amazonensis* isolado JPM4. *Tuta absoluta*. Controle biológico. Predação intraguilda.

1 INTRODUÇÃO

Nematoides entomopatogênicos (NEP) das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae são patógenos que podem se usados no controle biológico de insetos (GREWAL; EHLERS; SHAPIRO-ILAN, 2005). As duas famílias estão simbioticamente associadas a bactérias nos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente. Quando um juvenil infectante entra na cavidade do corpo de um hospedeiro, as bactérias são libertadas, se multiplicam e levam o hospedeiro à morte em 48 horas. Os nematoides se desenvolvem e se reproduzem dentro do cadáver do inseto, alimentando-se da bactéria simbiótica e tecidos do hospedeiro degradado (GAUGLER, 2002; SMART et al., 1995).

O juvenil infectante entra no inseto hospedeiro através da boca, ânus, espiráculos ou penetram diretamente através da cutícula. Se o modo de entrada é pela boca ou ânus, o nematoide penetra na parede do intestino para alcançar o hemocele, e se por espiráculos, ele penetra a parede traqueal. A morte do hospedeiro é causada quando a bactéria atinge a hemocele e multiplica-se rapidamente na hemolinfa (BURMAN, 1982).

Os hospedeiros dos nematoides estão distribuídos em diversas ordens de insetos, como Coleópteros, Lepidópteros, Dípteros, Thysanopteros e Ortópteros (MELO et al., 2009; TRDAN; VIDRIH; VALI, 2006; CUNTHBERTSON et al., 2007; BAUR; KAYA; THURSTON, 1995; GONZALEZ-RAMIREZ et al., 2000; NAVON et al., 2002; BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA, 2010). Nematoides entomopatogênicos são usados comercialmente em programas

de controle biológico, comumente aplicados inundativamente (BARBARA et al., 2006; TOEPFER et al., 2010) ou inoculativamente (ARTHURS; HEINZ; PRASIFKA, 2004; DILLON et al., 2007; WILSON et al., 2003). Dado que os NEP têm uma grande gama de ordens hospedeiras, além de serem adotadas grandes concentrações de juvenis infectantes (JI) nos programas de controle de pragas, é possível que estes organismos possam causar algum impacto sobre populações de insetos não alvo. Isto deve ser avaliado, principalmente, em programas de manejo integrado de pragas (MIP), nos quais os métodos de controle devem ser seguros para artrópodes não alvo (LEWIS; CAMPELL; GAULER, 1997).

Segundo Putman (1994) reportado por Silva et al. (2012), os organismos que se encontram dentro de um ecossistema, formariam parte de um sistema complexo e interdependente de tal maneira que a dinâmica de todos é afetada mutuamente. Nesse contexto, essas ligações gerariam relações específicas e, às vezes, inesperadas quando são estabelecidas táticas de controle biológico. Em tais situações, dentro de estratégias que inserem vários organismos como plantas, patógenos, nematódeos e artrópodes, é importante considerar as relações que podem ocorrer quando duas espécies compartilham um mesmo recurso, gerando uma competência. Estas competências (relações tritróficas) também foram observadas em microrganismos dentro de organismos vivos, predados por organismos maiores (ROSENHEIM et al., 1995; POLIS; MYERS; HOLT, 1989).

Vários trabalhos avaliaram a ação da aplicação direta de NEP sobre a mortalidade de diversas espécies de organismos não alvo, sendo

que em alguns deles, foi demonstrada a suscetibilidade de inimigos naturais, principalmente em predadores (GREWAL et al., 2002; POWELL; WEBSTER, 2004; SHAPIRO-ILAN; COTTRELL, 2005).

Os mirídeos são considerados importantes predadores generalistas pela sua elevada polifagia, que é relatada em vários estudos (RASDI; FAUZIAH; MOHAMAD, 2009; ENKERGAARD; BRODSGAARD; HANSEN, 2001; BUENO; VAN LENTEREN, 2012; BUENO et al., 2013; CALVO et al., 2012). Espécies do gênero *Macrolophus* spp. (Heteroptera: Miridae) são percevejos predadores que têm demonstrado eficiência no controle de pragas principalmente em cultivos protegidos (PERDIKIS; FANTINO; LYKOURESSIS, 2011) e tem o hábito de se alimentar de materiais das plantas. As fêmeas do predador *Macrolophus basicornis* (Hemiptera: Miridae) ovipositam na nervura principal das folhas e no caule de plantas como o tomateiro. Os ovos são inseridos no tecido da planta ficando somente como opérculo visível. O estágio ninfal é composto por cinco instares, independente da temperatura a que foram expostos (MONTES, 2013). As ninfas e adultos forrageiam constantemente as plantas, na busca de ovos e larvas como *T. absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), considerada importante praga em cultivos de tomate e cujas infestações podem chegar a 100% (BUENO; VAN LENTEREN, 2012). Tanto as populações de *Macrolophus basicornis* quanto as de *T. absoluta*, podem se desenvolver e se estabelecer dentro do cultivo no mesmo intervalo de temperaturas (MONTES, 2012).

Por outro lado, trabalhos comprovam que *T. absoluta* é suscetível a nematoides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, sendo que o uso de nematoides no controle de *T.*

absoluta pode ser uma ferramenta eficaz para seu controle (BATALLA-CARRERA; MORTON; GARCIA, 2010). Além deste inimigo natural, pesquisas recentes mostram que o predador *M. basicornis* é capaz de preda lagartas de *T. absoluta* em plantas de tomate, por picadas através da epiderme de folhas e atingir as lagartas dentro da mina. Este é o primeiro registro da capacidade desta espécie, sendo este resultado relevante por quanto *M. basicornis* é um inseto nativo para o Brasil (BUENO et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a susceptibilidade do predador *M. basicornis* aos nematoides *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4, considerados eficazes no controle de *T. absoluta*. Além disso, estudo avaliou o consumo e o efeito da alimentação de *M. basicornis* nas larvas de *T. absoluta* hospedando os nematoides.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras, localizada em Lavras, no estado de Minas Gerais, Brasil. Todos os insetos utilizados foram obtidos de criações mantidas nos laboratórios do Departamento de Entomologia.

2.1 Produção de nematoides entomopatogênicos

Os nematoides utilizados foram multiplicados pelo método *in vivo* de Wonodring e Kaya (1998), em lagartas de *Galleria mellonella* (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) criadas segundo a metodologia descrita por Dutky, Thompson e Cantwe (1964) e ajustada por Parra (1998). Os JI (juvenis infectantes) viáveis após serem coletados foram contabilizados e usados imediatamente nos experimentos

2.2 Criação de *Tuta absoluta*

Adultos de *T. absoluta* provenientes de plantas de tomate mantidas em casa de vegetação foram confinados em laboratório dentro de gaiolas de policloreto de vinila com dimensões de 47×47×47 cm com uma folha de tomateiro fixada em espuma fenólica de 3×22×10 cm devidamente umedecidas com água e colocadas dentro das gaiolas para oviposição. As folhas de tomateiro com ovos foram colocadas em outras gaiolas acondicionadas com espumas fenólicas nas quais, foram adicionadas, a cada três dias, folhas de tomateiro para permitir a alimentação das larvas

e seu desenvolvimento. Desta maneira, a criação de *T.absoluta* foi mantida a 27 ± 2 °C UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. As larvas provenientes desta criação foram utilizadas nos experimentos.

2.3 Criação de *Macrolophus basicornis*

Os adultos de *M. basicornis* foram coletados da criação do laboratório de Controle Biológico do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

A criação *M. basicornis* é realizada de acordo com a metodologia proposta por Agusti e Gabarra (2009) e Bueno et al. (2013). Os adultos (machos e fêmeas) de *M. basicornis* são liberados em gaiolas de acrílico de $30 \times 30 \times 60$ cm, contendo uma planta de tabaco (*Nicotiana tabacum* cv. TNN) e ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), oferecidos como alimento três vezes por semana. A cada sete dias, é feita a substituição de uma nova planta para oviposição das fêmeas e a continuidade da criação de adultos. As plantas contendo os ovos dos predadores são colocadas individualmente em outras gaiolas de acrílico ($30 \times 30 \times 60$) para o desenvolvimento das ninfas. Esta criação é mantida em condições de 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Os indivíduos provenientes desta criação foram usados nos experimentos.

2.4 Efeitos da aplicação de nematoides *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 sobre os diferentes estágios ninfais e adulto do predador *Macrolophus basicornis*

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada instar ninfal e adulto do inseto e 15 indivíduos por repetição para cada nematoide. As concentrações utilizadas foram de 1.500 JI/mL para *S. carpocapsae* e 2.500 JI/mL *H. amazonensis* JPM4. Estas foram as concentrações mais eficazes no controle de larvas de *T. absoluta* em experimentos sob condições de laboratório (fitotrom) e casa de vegetação em plantas de tomate.

As placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram colocados tubos de eppendorf com ágar sólido e tampados com fita adesiva. Dentro dele, foi inserido o pecíolo do folíolo de tomateiro aplicado com 1 mL da solução dos nematoides com as concentrações antes mencionadas. A aplicação foi realizada com um compressor de ar, regulado com pressão de 10 Psi, pulverizando-se o conteúdo nos dois lados do folíolo de maneira igual. Imediatamente depois da aplicação foram colocados os 15 indivíduos correspondentes a cada tratamento ninfal ou adulto de *M. basicornis*. Como alimento para o predador, colocou-se ovos de *A. kuehniella*.

As placas de Petri foram fechadas com fita adesiva para evitar a saída dos insetos. As placas foram mantidas em câmara climatizada a 26 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. As avaliações foram realizadas 72 horas após a aplicação, registrando-se o número de

predadores mortos. Estes foram removidos, dissecados e, assim, confirmada a mortalidade por nematoide.

2.5 Testes de predação

Para os testes de alimentação, os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, considerando-se cada tratamento um nematoide. Os testes foram realizados com fêmeas de *M. basicornis* porque em pré-teste (seis) verificou-se um maior consumo de larvas de *T. absoluta* quando comparadas com os machos. As larvas usadas foram de primeiro e segundo instar, devido à fêmea do predador ter preferência por estes instares. As aplicações foram realizadas com um compressor de ar, regulado com pressão de 10 Psi, pulverizando-se o conteúdo de 1 mL de solução nos dois lados de um folíolo de tomateiro que continha as larvas. Após as aplicações, estes folíolos foram isolados por 24 horas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro que foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 26 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. As seguintes metodologias variam de acordo com o teste de alimentação que serão descritos na continuação.

2.5.1 Teste de predação com chance de escolha de *Macrolophus basicornis* com larvas sadias e infectadas por nematoides

Com o intuito de avaliar se o predador consome entre duas opções em uma situação em que há a disponibilidade de ambas as presas, foram

realizados dois experimentos: um com chance de escolha entre larvas sadias e infectadas e outro experimento com chance de escolha entre larvas infectas pelos dois nematoides.

O propósito deste estudo foi avaliar se o predador tem a capacidade de se alimentar de larvas que contêm o nematoide em seu interior ou de larvas sadias sem entopatógeno. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 20 repetições e uma fêmea por repetição. Em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com uma lâmina de ágar sólido no fundo, foram acondicionadas 10 larvas vivas (porque o predador consome presas vivas) de *T. absoluta* em minas no interior de folíolos de tomateiro. 24 horas antes do experimento, metade das larvas recebeu uma aplicação da solução de nematoides nas seguintes concentrações 1.500 JI/mL para *S. carpocapsae* e 2.500 JI/mL para *H. amazonensis* JPM4, e a outra metade recebeu uma aplicação do mesmo volume de água destilada (a metodologia de aplicação está descrita no item 2.5). Após 24 horas das aplicações, em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, foram colocadas as larvas sadias e infectada pelos nematoides e uma fêmea de *M. basicornis* em jejum por 48 horas. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

O teste com chance de escolha entre presas infectadas por nematoides teve o objetivo de avaliar se o predador possui preferência alimentar entre larvas com diferentes espécies de nematoides. O estudo foi realizado com larvas de *T. absoluta*, as quais ocupavam minas em folíolos de tomateiro que receberam, 24 horas antes do experimento, uma pulverização de solução com nematoides seguindo a mesma metodologia

de aplicação e concentrações utilizadas no experimento anterior para cada espécie de nematoide. Após 24 horas das aplicações, em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, foram colocadas as larvas infectadas com os nematoides e uma fêmea de *M. basicornis* em jejum por 48 horas. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

O experimento foi conduzido inteiramente causalizado com dois tratamentos (*S. carpocapsae* e *H. amazonensis* isolado JPM4), 20 repetições e uma fêmea por repetição.

A avaliação do consumo foi realizada 24 horas após o predador ser adicionado à placa. Para cada tratamento, o valor do consumo utilizado foi a razão entre o número das larvas ingeridas pela fêmea de *M. basicornis* (constatada com ajuda do estereoscópio, os resíduos da pele transparente das larvas de *T. absoluta* dentro das minas dos folíolos de tomateiro) e o número total de larvas colocadas como presa.

2.5.2 Teste de predação sem chance de escolha por larvas sadias ou infectadas pelos nematoides

Este experimento tem como finalidade avaliar se a fêmea de *M. basicornis* se alimenta ou não quando submetida a apenas uma opção alimentar, isto é, somente com larvas infectadas por nematoides ou só com larvas saudáveis (tratamento controle). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (*S. carpocapsae*, *H. amazonensis* JPM4 e o controle), 20 repetições e uma fêmea por repetição.

Em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com uma lâmina de ágar sólido ao fundo, foram acondicionadas 5 larvas vivas de primeiro e segundo instarde *T. absoluta* em minas no interior de folíolos de tomateiro, sendo que estas larvas receberam, 24 horas antes, uma aplicação de solução dos nematoides *S.carpocapsae* ou *H. amazonensis* JPM4 contendo 1.500 JI/mL ou 2.500 JI/mL respectivamente. O tratamento controle recebeu uma aplicação de água destilada apenas. Após 24 horas das aplicações, em cada placa de Petri, foi colocada uma fêmea de *M. basicornis* em jejum por 48 horas com as larvas sadias ou infectadas com nematoides. As placas foram vedadas com parafilme e mantidas em câmara climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. As aplicações foram realizadas com um compressor de ar, regulado com pressão de 10 Psi.

A avaliação do consumo foi realizada 24 horas após o predador ser adicionado à placa. Para cada tratamento, o valor do consumo utilizado foi a razão entre o número de larvas ingeridas pela fêmea de *M. basicornis* (constatada com ajuda do estereoscópio, os resíduos da pele transparente das larvas de *T. absoluta* dentro das minas dos folíolos de tomateiro) e o número total de larvas colocada como presa. Além disso, foi avaliada a sobrevivência do predador.

Para o estudo da sobrevivência do predador, as fêmeas de *M. basicornis* removidas de cada uma dos três tratamentos foram isoladas em tubos de vidro e alimentadas com ovos de *A. kuehniella* e algodão umedecido, para hidratação. Os tubos foram fechados com parafilme. A cada dois dias, foram trocados os ovos de *A. kuehniella* e, diariamente, o algodão, umedecido. As fêmeas de *M. basicornis* foram observadas

diariamente até 6 dias após retirados do experimento. Os tubos de vidro foram mantidos em câmara climatizada a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 20 repetições, sendo cada predador, uma repetição.

2.6 Análises dos dados

As porcentagens de mortalidade quanto de consumo para todos os experimentos deste artigo, foram submetidas ao teste de Shapiro-Wilk, para testar a normalidade e teste de Kruskal-Wallis (K-W) para testar as médias. Os testes estatísticos foram conduzidos no *software* R (R Development Core Team, 2013).

3 RESULTADOS

3.1 Efeito da aplicação de nematoides *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis amazonensis* JPM4 sobre os diferentes instares ninfais e o adulto do predador *Macrolophus basicornis*

Os resultados mostraram que os dois nematoides não causaram mortalidade no primeiro instar ninfal do predador. As mortalidades só foram observadas a partir do segundo instar ninfal até o adulto de *M. basicornis*, sendo que o *S. carpocaps* causou as maiores mortalidade em *M. basicornis* (Tabela1).

Observou-se que os dois últimos instares ninfais (4° e 5°) e o adulto foram os mais susceptíveis, apresentando mortalidades de 20%, 16% e 28% respectivamente. As menores mortalidades foram obtidas para os segundos e terceiros instares ninfais com 2,67 e 4% respectivamente (Tabela1). Os resultados obtidos por *S. carpocapsae* nos diferentes instares e adultos de *M. basicornis* apresentaram diferença significativa (K-W = 14,776 df = 5 p-value = 0,01136) Já quando o *M. basicornis* tem contato direto com nematoides *H. amazonensis* isolado JPM4, não foram observadas mortalidades tanto para o 1° instar ninfal quanto para o 4° instar do predador. A susceptibilidade de *M. basicornis* a *H. amazonensis* JPM4 foi observada no 2°, 3° e 5° instar ninfal e para o adulto com mortalidades semelhantes para todos eles (1,33%) (Tabela1) ((K - W: $x^2 = 2,016$ df = 5 p-value = 0,8469).

Tabela1 Percentagem de mortalidade (\pm EP) dos diferentes instares ninfais e do adulto de *M. basicornis* quando há contato direto com os nematoides entomopatogênicos

Instares/Adulto	n**	<i>S. carpocapsae</i>	<i>H. amazonensis</i> <i>JPM4</i>
1º	75	—	—
2º	75	2,6 \pm 0,24C	1,33 \pm 0,19A
3º	75	4 \pm 0,24Bc	1,33 \pm 0,19A
4º	75	20 \pm 1,13Ab	—
5º	75	16 \pm 0,39Ab	1,33 \pm 0,19A
Adulto	75	28 \pm 1,06A	1,33 \pm 0,19A

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula nas colunas em inísculas nas linhas, não diferem entre si. ($p < 0,05$).

**n = Número de indivíduos

3.2 Testes de predação com chance de escolha de *Macrolophus basicornis* com larvas sadias e infectadas por nematoides

Ao avaliar a predação da fêmea adulta entre presas sadias e infectadas por nematoides, os resultados mostraram que *M. basicornis* pode se alimentar de larvas de *T. absoluta* sadias ou infectadas. Logo, quando havia a opção entre larvas sadias vs larvas infectadas com *H. amazonensis* JPM4, não houve diferença significativa no consumo, sendo consumidas 2,9 larvas sadias e 2,1 larvas infectadas com *H. amazonensis* JPM4 ($K - W: \chi^2 = 1,5283$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0,2164$) (Figura 1). Ao contrário, quando ofertadas larvas sadias e larvas infectadas com *S. carpocapsae*, os resultados mostraram consumo médio de 3,1 larvas sadias e 1,8 larvas infectadas com *S. carpocapsae*, com diferença significativa entre as opções ($K - W: \chi^2 = 20,48$ $df = 1$, $p\text{-value} = 6,026 \times 10^{-6}$) (Figura 1).

Quando foram oferecidas apenas larvas infectadas, pelos dois nematoides, a fêmea de *M. basicornis* não mostrou preferência alimentar sendo as duas opções de presas consumidas aleatoriamente ($K - W: \chi^2 = 0,20$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0,64$). A fêmea de *M. basicornis* consumiu 2,6 larvas infetadas por *H. amazonensis* JPM4 e 2,4 larvas infectadas por *S. carpocapsae* (Figura 1).

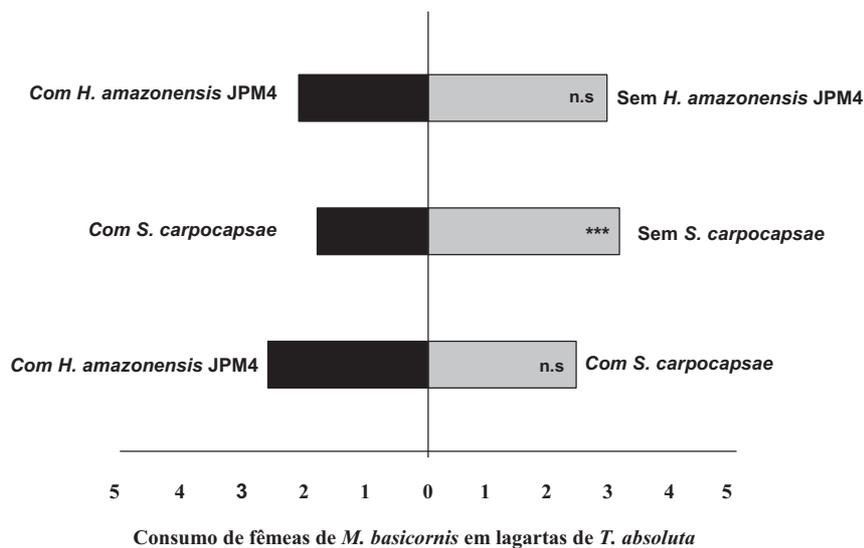


Figura 1 Consumo de fêmeas de *M. basicornis* em testes de chance de escolha entre larvas de *T. absoluta* sadias e infectadas por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4

3.3 Teste de predação sem chance de escolha por larvas sadias ou infectadas pelos nematoides

A fêmea adulta não mostrou preferência alimentar quando foi ofertada só uma opção de presa, não havendo diferença significativa entre a quantidade consumida de presa infectada ou saudável ($\chi^2 = 5,030$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0,080$). As fêmeas do predador consumiram 1,6 de larvas infectadas por *S. carpocapsae*, 1,9 larvas infectadas por *H. amazonensis* JPM4 e 2,6 o tratamento controle (larvas sadias) (Figura 2).

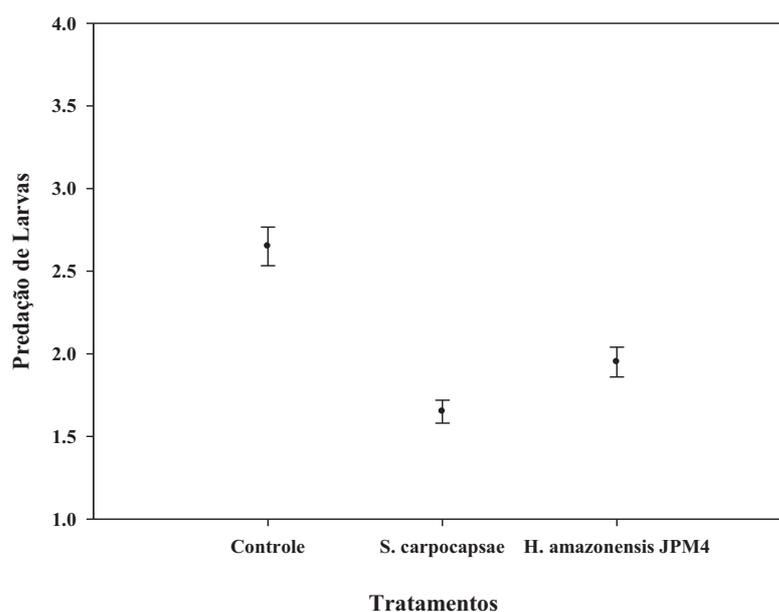


Figura 2 Consumos por fêmeas de *Macrolophus basicornis* de larvas de primeiro e segundo instar de *T. absolutas* sadias e infectas por *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4

3.4 Teste de sobrevivência de *Macrolophus basicornis*

No estudo sobre a sobrevivência das fêmeas depois de consumirem lagartas infectadas pelos nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* isolado JPM4, não foram observadas mortalidades do predador para os seis dias após consumo de presas infectadas pelos nematoides.

4 DISCUSSÃO

De forma geral, os resultados mostraram que o predador *M. basicornis* é susceptível quando entra em contato com os nematoides. Porém, as mortalidades obtidas só ocorreram a partir do 2º instar ninfal do predador e as percentagens foram baixas para os dois nematoides.

O fato de as mortalidades mais baixas do predador obtidas por *S. carpocapsae* sejam nos menores instares ninfais, pode ser influenciado pelo rápido forrageamento que tem o predador nestas instares, o que possivelmente reduz o contato com os juvenis e conseqüentemente leva à evasão da infecção. Outra razão seria pelo estilete do predador ser muito estreito para a entrada do nematoide, já que muitos fatores biológicos dos insetos como estágios de desenvolvimento, comportamento de evasão e principalmente aparelhos bucais estreitos em insetos sugadores, o que evita a entrada dos nematoides entomopatogênicos e afetam a eficácia dos mesmos (HAZIR et al., 2013). Em suma, os resultados mostram que os maiores instares e os adultos do predador *M. basicornis* foram as mais susceptíveis a *S. carpocapsae*.

Já o nematoide *H. amazonensis* isolado JPM4 foi responsável por mortalidades de no máximo 1,3% nos instares 2º, 3º e 5º e adultos. Desta forma, o nematoide *H. amazonensis* JPM4 foi menos prejudicial do que *S. carpocapsae* quando entram em contato direto com os diferentes instares e adultos do predador *M. basicornis*. Resultados semelhantes com *H. amazonensis* isolado JPM4 foram encontrados por Mertz (2013) com o predador *Calosoma granulatum* (PERTY, 1830) (Coleoptera: Carabeidae), quando foram avaliados os nematoides *H. amazonensis*

JPM4 e *H. amazonensis* RSC5 sobre larvas do predador, observando maior sobrevivência (55%) nas larvas infectadas com *H. amazonensis* JPM4. É importante ressaltar neste estudo a resistência do 1º instar ninfal de *M. basicornis* aos dois nematoides, o que indica que existe algum mecanismo físico ou de defesa, que impede que os nematoides entrem e desenvolvam a infecção no 1º instar ninfal. Por isso, é preciso realizar experimentos no futuro para esclarecer este fato.

As mortalidades observadas neste estudo foram baixas, mesmo, sendo obtidas em condições de laboratório, onde o contato direto entre os nematoides e o predador é extremo e as condições ambientais são garantidas para que ocorra a infecção. Em condições de campo, estudos realizados por Georgis, Kaya e Gaugler (1991) constataram que as espécies tanto de *Steinernema* como de *Heterorhabditis* aplicados como agentes de controle biológico não tiveram impacto significativo em várias comunidades de artrópodes. Koch e Bathon (1993), também não encontraram extinções e impacto em espécies de alguns insetos estudados, quando foram realizadas aplicações de *Steinernema feltiae* e *Heterorhabditis* spp. Em contrariedade, relataram que a abundância de algumas espécies aumentou após as aplicações dos nematoides entomopatogênicos.

No caso de aplicações de nematoides para o controle de pragas foliares, as características dos predadores como a agilidade no deslocamento, o fato de ter vida livre (SANCHEZ; LA SPINA; PERERA, 2012) e os refúgios dentro do cultivo podem não favorecer o contato direto dos nematoides com o predador, o que diminui as mortalidades causadas por estes agentes. Por isso, quando acontecem altas virulências

pelos nematoides em insetos sob condições de laboratório, muitas vezes, os resultados podem ser diferentes (GUIMARAES; FERNANDES; LOPES, 2012). Além disso, as mortalidades observadas neste estudo, só seriam possíveis com aplicações de controle inundativo de nematoides, as quais normalmente são aspergidas em concentrações equivalentes a bilhões de JI/hectare (GEORGIS; KAYA; GAUGLER, 2006). Em conformidade com o que já foi mencionado, as mortalidades realizadas pelos nematoides sobre *M. basicornis* foram muito baixas, o que não indica risco para a espécie.

Os resultados do experimento com chance de escolha entre larvas saudáveis e infectadas por *H. amazonensis* isolado JPM4 mostraram que a fêmea de *M. basicornis* não teve preferência alimentar e consumiu tanto as lagartas infectadas pelo nematoide quanto as saudáveis. Já no experimento com chance de escolha entre larvas sadias e infectadas pelo nematoide *S. carpocapsae*, a fêmea de *M. basicornis* consumiu larvas infectadas em uma proporção inferior (37,5%) em comparação com as larvas sadias (62,5%). O baixo consumo do predador das larvas infectadas com o nematoide foi, possivelmente, porque no momento em que a fêmea de *M. basicornis* procurou larvas com *S. carpocapsae* para se alimentar, as maiores das larvas estavam mortas e o predador só consome pressas vivas. Esta inferência é baseada em estudos realizados por Batalla-Carrera, Morton e Garcia (2010) nos quais eles encontraram que 80% das larvas de *T. absoluta* expostas a este nematoide morreram três horas após a aplicação dos nematoides, sendo este nematoide mais eficaz quando comparado com *Heterorhabditis bacteriophora* o qual causou a morte das larvas infectadas em uma proporção menor de 50% após a aplicação.

Nos experimentos em que foram fornecidas duas opções de lagartas infectadas por nematoides (metade com *S. carpocapsae* e metade com *H. amazonensis*), a fêmea não exibiu nenhuma preferência alimentar. O fato de este predador consumir larvas infectadas pode ser devido à capacidade de comutação, que permite que os predadores sobrevivam quando as presas preferidas são escassas, e desta forma contribui para a estabilidade da população das espécies (MURDOCH, 1973) ou simplesmente, a fêmea não discrimina a infecção nas larvas e consome o que estiver disponível.

No experimento sem chance de escolha, no qual o predador não possuía outra opção por alimento além da ofertada (larvas sadias, larvas infectadas por *H. amazonensis* JPM4 ou larvas infectadas por *S. carpocapsae*), novamente a fêmea de *M. basicornis* consumiu a mesma quantidade de larvas sadias e larvas infectadas (Figura 2). Diante desses resultados, é sugerido que as larvas infectadas e sadias fornecidas a *M. basicornis* não sejam um fator importante na preferência de consumo do predador. Esta inferência é argumentada em estudos realizados por Enkegaard, Brodsgaard e Hansen (2001) que encontraram que a preferência do consumo das fêmeas de *M. caliginosus* (Heteroptera: Miridae) está relacionada principalmente a mudanças no tamanho da presa e ao estágio do próprio predador, fatores que em nosso estudo foram semelhantes em todos os experimentos, o que indica que o predador não foi obrigado a mudar o consumo o que indica que *M. basicornis* agiu simplesmente como um predador com fome frente a sua presa.

Em relação ao teste de sobrevivência, não houve mortalidade das fêmeas de *M. basicornis* após seis dias de consumo de larvas de *T. absoluta* infectadas com os nematoides, indicando que o predador não foi afetado quando consumiu presas contendo os nematoides *S. carpocapsae* ou *H. amazonensis* JPM4 e suas respectivas bactérias simbiotes. O fato do predador não ser infectado pelos nematoides ao se alimentar de uma presa infectada, tem a ver provavelmente com o mecanismo de alimentação dos mirídeos, que possivelmente elimina os nematoides. Segundo Cohen (1989), este mecanismo envolve a injeção de enzimas que atuam na remoção das proteínas, lipídios e ácidos nucleicos dos tecidos das presas, diluindo todo o seu material visceral, o que permite um aproveitamento de 90% do conteúdo das presas, restando apenas estruturas celulares como o exoesqueleto. Esta injeção de enzimas na presa é realizada através de um estilete comprido que é formado por um conjunto de canais que permitem o predador entrar nas partes mais restritas do corpo da presa. Este sistema utilizado por *M. basicornis* para se alimentar das lagartas infectadas, poderia ter destruído os nematoides e seus simbiotes e dessa forma evitar uma possível infecção.

Os processos ecológicos dentro do controle biológico são complexos pela diversidade de organismos envolvidos como artrópodes, nematoides, patógenos e plantas daninhas. Estes organismos muitas vezes se alimentam uns dos outros e competem por recursos compartilhados desenvolvendo relações chamadas de predação intraguilda (IGP), as consequências desta relação são de difícil explicação (BAMPFYLDE; LEWIS, 2007). Ao contrário da predação clássica, nas espécies envolvidas no IGP nem sempre estão bem definidos os papéis; um mesmo

organismo pode ser predador ou presa, dependendo da variedade de fatores (POLIS; MYERS; HOLT, 1989). Por isso, na predação intraguildd tanto os predadores quanto as presas, podem ser atacados por outros predadores generalistas e também por alguns patógenos. Relações intraguilddas também foram observadas em sistemas de controle biológico que involucram nematoides e pragas, porém, tem sido pouco estudadas possivelmente porque involucram comunidades completamente diferentes (ROSENHEIM et al., 1995, MULLER et al., 2002).

Em nosso estudo, foram observadas duas circunstâncias que indicam que existe uma relação entre estes inimigos naturais avaliados no estudo. A primeira relação aconteceu quando os diferentes instares de *M. basicornis* entraram em contato com *H. amazonensis* JPM4 e *S. carpocapsae* e observou-se a mortalidade do predador. A segunda relação ocorreu quando a fêmea de *M. basicornis* consumiu as larvas de *T. absoluta* infectadas com os nematoides. Sendo assim, estes controladores biológicos de *T. absoluta* podem ser presas um dos outros. No caso em que os nematoides causaram mortalidades no predador, poderia se pensar que esta situação afetaria o controle das larvas de *T. absoluta*, resultando na diminuição da população de *M. basicornis* pelos nematoides. Contudo, acredita-se que isso não ocorreria, pois as mortalidades foram muito baixas (como foi explicado nos resultados anteriores), o que indica que não haveria diminuição drástica da população do predador. Já no evento em que o predador consome as larvas infectadas pelos nematoides e não apresenta mortalidade, se estaria diminuindo o sucesso reprodutivo dos nematoides e, por conseguinte afetaria igualmente o controle de *T. absoluta*. No entanto, este fato é complicado de afirmar já que no sistema

de produção (cultivos protegidos) que envolve praticamente aplicações sazonais de nematoides, não haveria impacto negativo por interrupção do desenvolvimento dos mesmos. Isto acontece porque dificilmente estes organismos conseguiriam se estabelecer nos hospedeiros das folhas, uma vez que precisam do solo para completar o ciclo.

Por isso as consequências sobre o impacto que esta relação pode causar para os organismos involucrados e os resultados do controle biológico são geralmente influenciados pelo tamanho, a mobilidade, a densidade de organismos e densidades das presas intraguiladas (POLIS; MYERS; HOLT, 1989, LUCAS et al., 2005; HINDAYANA et al., 2001; BAMPFYLDE; LEWIS, 2007).

Em geral, os resultados permitem concluir que dentro das comunidades de organismos usadas no controle biológico, podem-se observar relações complexas que podem não ser do tipo intraguilda como acontece neste estudo, já que a predação dos NEP por *M. basicornis* não foi direta, mas bem aconteceu por o fato de que as larvas (presas) estavam infectadas pelos nematoides, sem ser esta uma condição para ser predada por *M. basicornis*. Por isso, é importante fazer estudos em campo, sobre as formas de introduzir inimigos naturais (insetos) junto com os nematoides dentro do pacote de controle biológico, com o fim de obter maior conhecimento, sobre as características específicas do comportamento destes. Mas, com certeza, os resultados deste estudo indicaram que não existe risco para estes inimigos naturais serem usados simultaneamente dentro do pacote de controle biológico de *T. absoluta*.

**Interaction between *Steinernema carpocapsae* and
Heterorhabditis amazonensis JPM4 (Rhabditidae) with immature
phases and adults of *Macrolophus basicornis* (Hemiptera: Miridae)**

ABSTRACT

Macrolophus basicornis is a polyphagous predatory bug, plus entomopathogenic nematodes should be an important tool for larvae control of *T. absoluta*. The aim of this research was to determine the interaction between *M. basicornis* and NEPs on *T. absoluta*. Laboratory experiments with different immature phases and adult predators were exposed to direct contact with NEPs, also with different options prey, where the female was able to feed with healthy and infected larvae of first and second instar. The most mortality of adults was obtained by *S. carpocapsae* with 28%. *H. amazonensis* JPM4 caused 1.3% of mortality in second, third, fifth nymphs and adults of predator. Studies about different options prey healthy and infected showed no significant difference of predation. *M. basicornis* do not die after predate infected larvae with NEPs. These results showed that both natural enemies could be used for biocontrol of *T. absoluta*.

Key words: *M. Basicornis*. *H. amazonensis* JPM4. *Tuta absoluta*. Biological control. Intraguild predation.

REFERÊNCIAS

- AGUSTÍ, N.; GABARRA, R. Developmento famass rearing protocol of the polyphagous predator *Dicyphus tamaninii* Wagner (Hemiptera:Miridae). **Boletinde Sanidad Vegetal-Plagas**, Madrid, v. 35, n. 2, p. 205-218, 2009.
- ARTHURS, S.; HEINZ, K. M.; PRASIFKA, J. R. An analysis of using entomopathogenic nematodes against aboveground pests. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 94, n. 4, p. 297-306, Aug. 2004.
- BAMPFYLDE, C.; LEWIS, M. Biological control through intraguil predation: case studies in pest control, invasise species and range expansion. **Bulletin of Mathematical Biology**, Elmsford, v. 69, n. 3, p. 1031-1066, Apr. 2007.
- BARBARA, K. A.; BUSS, E. A. Augmentative applications of *Steinernema scapterisci* (Nematoda:Steinernematidae) for mole cricket (Orthoptera: Gryllotalpidae) control in golf cures. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 89, n. 2, p. 257-262, 2006.
- BATALLA-CARRERA, L.; MORTON, A.; GARCIA, F. Efficay of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta Absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 4, p. 523-530, Aug. 2010.
- BAUR, M.; KAYA, H.; THURSTON, G. Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 77, n. 3, p. 239-250, 1995.
- BUENO, V. et al. New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by brazilian hemiptera predatory bugs. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 137, n. 1-2, p. 29-34, 2013.
- BUENO, V. H. P. et al. Biological control of *Tuta absoluta*: sampling and evaluation of new hemipteran predators found in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF ARTHROPODS, 4., 2013, Pucon. **Proceedings...** Pucon: ISBC, 2013a. v. 1, p. 269-272.
- BUENO, V. H. P.; VAN LENTEREN, J. C. Predatorybugs(Heteroptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. New York: CRC Press, 2012. p. 539-569.

BURMAN, M. *Neoplectana carpocapsae*: toxin production by axenic insect parasitic nematodes. **Nematologica**, Leiden, v. 28, p. 62-70, 1982.

CALVO, J. F. et al. Preplant release of *Nesidiocoris tenuis* and supplementary tactics for control of *Tuta absoluta* and *Bemisia tabaci* in greenhouse tomato. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 143, n. 2, p. 111-119, May 2012.

COHEN, A. Ingestion efficiency na protein consumption by heteropteran predator. **Nematologica**, Leiden, v. 28, n. 1, p. 62-70, 1989.

CUTHBERTSON, A. et al. Efficacy of the entomopathogenic nematode, *Setinernema feltiae*, against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) under laboratory and glasshouse conditions. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 97, p. 9-14, 2007.

DILLON, A. B. et al. Optimizing application of entomopathogenic nematodes to manage large pine weevil, *Hylobius abietis* L. (Coleoptera:Curculionidae) populations developing in pine stumps, *Pinus sylvestris*. **Biological Control**, Orlando, v. 40, n. 2, p. 253-263, Feb. 2007.

DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWE, 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.

ENKEGAARD, A.; BRODSGAARD, H.; HANSEN, D. *Macrolophus caligonosus*: functional response to whiteflies and preference and switching capacity between whiteflies and spider mites. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 101, n. 1, p. 81-88, Oct. 2001.

GAUGLER, R. **Entomopathogenic entomology**. New York: CABI Publishing, 2002.

GEORGIS, R.; KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes (Rhabditida:Steinernematidae and Heterorhabditidae) on nontarget arthropods. **Environmental Entomology**, College Park, v. 20, n. 3, p. 815-822, 1991.

GONZÁLEZ-RAMIREZ, M. et al. Susceptibility of *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 93, n. 4, p. 1105-1108, Aug. 2000.

GREWAL, P. et al. Differences in susceptibility of introduced and native white grub species to entomopathogenic nematodes from various geographic localities. **Biological Control**, Orlando, v. 24, n. 3, p. 230-237, July 2002.

GREWAL, P. S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. **Nematodes as biocontrol agents**. New York: CABI. Publishing, 2005.

GUIMARÃES, F.; FERNADES, R.; LOPES, A. Nematoides entomopatogênicos. **Revista Tropica Ciências Agrarias e Biológicas**, Maranhão, v. 6, n. 3, p. 56-75, 2012.

HAZIR, S. et al. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. **Turkish Journal of Biology**, Turkish, v. 27, p. 181-202, Jan. 2013.

HINDAYANA, D. et al. Poehling, Intraguild predation among the hoverfly *Episyrphus balteatus* de Geer (Diptera: Syrphidae) and other aphidophagous predators. **Biological Control**, Orlando, v. 20, p. 236-246, 2001.

KOCH, U.; BATHON, H. Auswirkungen des Einsatzes entomopathogener Nematoden im Freiland auf die Nichtziel fauna, 1. Teil: Coleoptera. Anzeiger für Schädlingskunde. **Pflanzenschutz Umweltschutz**, Gefahrstoffe, v. 66, p. 65-68, 1993.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J. F.; GAULER, R. The effects of aging on the foraging behaviour of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). **Nematologica**, Leiden, v. 43, p. 355-362, 1997.

LUCAS, E. et al. Intraguild predation among aphidophagous predators. **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 102, n. 3, p. 351-364, 2005.

MELO, E. et al. Nematodos entomopatogênicos nativos (Rhabditida) em quatro departamentos de Colômbia. **Revista Colombiana de Entomologia**, Santafé de Bogotá, v. 35, n. 1, p. 28-33, 2009.

MERTZ, N. R. **Interações entre nematoides entomopatogênicos, o predador *Calosoma granulatum* Perty, 1830 (Coleoptera: Carabidae) e espécies vegetais utilizadas na diversificação agrícola para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)**. 2013. 138 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MONTES, F. **Características Biológicas dos Estágios imaturos de três predadores (Hem: Miridae) Alimentados com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.:Pyralidae) em cinco temperaturas.** 2013. 57 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MULLER, C.; BRODEUR, J. Intraguild predation in biological control and conservation biology. **Biological Control**, Orlando, v. 25, n. 3, p. 216-223, Nov. 2002.

MURDOCH, W. W. The functional response of predators. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 14, p. 335-342, 1973.

NAVON, A. et al. Effectiveness of entomopathogenic nematodes in an alginate gel formulation against lepidopterous pests. **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 12, p. 737-746, Dec. 2002.

PARRA, J. R. P. Raising insects for studies of pathogens. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Microbial control of insects**. Piracicaba: Editora da FEALQ, 1998. p. 1015-1037.

PERDIKIS, D.; FANTINO, A.; LYKOURESSIS, D. Enhancing pest control in annual crops by conservation of predatory Heteroptera. **Biological Control**, Orlando, v. 59, n. 1, p. 13-21, Oct. 2011.

POLIS, G. A.; MYERS, C. A.; HOLT, R. D. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. **Annual Review Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 20, p. 297-330, Nov. 1989.

POWELL, J. R.; WEBSTER, J. M. Interguild antagonism between biological controls: impact of entomopathogenic nematode application on an aphid predator, *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera:Cecidomyiidae). **Biological Control**, Orlando, v. 30, n. 3, p. 110-118, 2004.

PUTMAN, R. J. **Community ecology**. London: Chapman & Hall, 1994.

RASDI, M.; FAUZIAH, I.; MOHAMAD, W. Biology of *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) predator of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). **International Journal of Biology**. v. 1, n. 2, p. 63-70, July 2009.

ROSENHEIM, J. A. et al. Intraguild predation among biological control agents: theory and evidence. **Biological Control**, Orlando, v. 5, n. 3, p. 303–335, Sept. 1995.

SANCHEZ, J.; LA SPINA, M.; PERERA, O. Analysis of the population structure of *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) in the Palearctic region using microsatellite markers. **Ecology and Evolution**, Oxford, v. 2, n. 12, p. 3145-3159, Dec. 2012.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; COTTRELL, T. E. Susceptibility of ladybeetles (Coleoptera:Coccinellidae) to entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 89, n. 2, p. 150-156, June 2005.

SILVA, A. da et al. Interação tritrofica: aspectos gerais e suas implicações no manejo integrado de pragas. **Nucleus**, Jaboticabal, v. 9, n. 1, p. 35-48, abr. 2012.

SMART, J. R. et al. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. **Journal of Nematology**, College Park, v. 27, n. 4S, p. 529-534, Dec. 1995.

TOEPFER, S. et al. The effect of application techniques on field-scale efficacy: can the use of entomopathogenic nematodes reducedamage by western corn rootwormlarvae? **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 389-402, Nov. 2010.

TRDAN, S.; VIDRIH, M.; VALI, N. Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of sitophilus granaries (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. **Jornal of Plant Diseases and Protection**, Oxford, v. 113, n. 4, p. 168-173, Jan. 2006.

WILSON, M. J. et al. Application patternand persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. **Biological Control**, Orlando, v. 26, n. 2, p. 180-188, Feb. 2003.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematidae and heterorhabditidae nematodes**: handbook of biology and techniques. Arkansas: Agricultural Experimental Station, 1998.

5 CONCLUSÕES GERAIS

- a) Todos os isolados avaliados do banco de nematoides entomopatogênicos foram patogênicos a larvas de *T. absoluta*.
- b) As espécies *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 foram os mais virulentos contra as larvas de *T. absoluta* em galerias;
- c) Os nematoides entomopatogênicos avaliados neste estudo não foram eficazes no controle das pupas de *T. absoluta*;
- d) As dosagens maiores dos nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 forneceram as maiores mortalidades de larvas de *T. absoluta* em galerias (91 e 68% respectivamente);
- e) *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4 podem ser agentes eficientes no controle biológico *T. absoluta* e ambos poderiam ser usados dentro de pacotes de manejo integrado em cultivos protegidos com relevância por *H. amazonensis* JPM4, já que é um nematoide nativo da região;
- f) Os estádios ninfais de *M. basicornis* foram pouco afetados pelos nematoides avaliados. A maior mortalidade observada nos diferentes instares e adulto do predador foi obtida por *S. carpocapsae*;
- g) As fêmeas de *M. basicornis* consomem tanto larvas sadias de *T. absoluta* quanto infectadas por nematoides *S. carpocapsae* e *H. amazonensis* JPM4, mas, a sobrevivência do predador não foi afetada para o tempo da avaliação;
- h) Devem ser desenvolvidos estudos de caso em campo com liberações e aplicações de *M. basicornis* e os nematoides *H. amazonensis* JPM4 e *S. carpocapsae* para acrescentar o conhecimento sobre o manejo destes controladores dentro de alternativas biológicas para o controle de *T. absoluta*.