

ARGEMIRO RODRIGUES DOS SANTOS NETO

**COMPATIBILIDADE DE INSETICIDAS COM NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS**

Botucatu

2023

ARGEMIRO RODRIGUES DOS SANTOS NETO

**COMPATIBILIDADE DE INSETICIDAS COM NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientador(a): Silvia Renata Siciliano Wilcken

Coorientador(a): Adriana Aparecida Gabia

Botucatu

2023

S237c

Santos Neto, Argemiro Rodrigues dos
Compatibilidade de inseticidas com nematoides
entomopatogênicos / Argemiro Rodrigues dos Santos Neto. --
Botucatu, 2023
49 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientadora: Silvia Renata Siciliano Wilcken
Coorientadora: Adriana Aparecida Gabia

1. Steinernema. 2. neps. 3. sinergismo. 4. controle biológico.
5. bactérias simbióticas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: COMPATIBILIDADE DE INSETICIDAS COM NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS

AUTOR: ARGEMIRO RODRIGUES DOS SANTOS NETO

ORIENTADORA: SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

COORDINADORA: ADRIANA APARECIDA GABIA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas), pela Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP

Prof.^a Dr.^a ADRIANA ZANIN KRONKA (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu - UNESP

Pesquisadora Dr.^a ANDRESSA LIMA DE BRIDA (Participação Presencial)
Nematologia / CropSolutions - Pesquisa, Tecnologia e Inovação Agropecuária Ltda

Botucatu, 13 de dezembro de 2023

Aos meus pais,
Argemiro e Sonia,
dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua grandiosa misericórdia e graça em me conceder a força necessária para realizar tudo em minha vida.

Aos meus queridos familiares, principalmente minha esposa Andressa e meus filhos, pela motivação e apoio incondicional.

A Prof. Dra. Silvia Renata, pela orientação, ensinamentos, paciência e exemplo de professora.

A Dra. Adriana Gabia, pela coorientação e ensinamentos transmitidos.

A todos os colegas da FCA que me ajudaram durante todo o período que estive no Departamento de Proteção Vegetal, em especial Deucleiton, Matheus e Jéssica.

A todos os meus colegas de trabalho que, de alguma forma, me ajudaram: Breno Fumeiro, Fernando Fonseca, Layzza Medeiros, Jéssica Leal, Patrícia Gubiani e Daniel Lima.

RESUMO

O uso de nematoides entomopatogênicos (NEP) se mostra uma alternativa aos métodos usuais de controle de pragas. Os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* são os principais gêneros de nematoides entomopatogênicos para o controle biológico de pragas agrícolas. Esses nematoides atuam como vetores de determinadas espécies de bactérias, dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, que são o agente de controle dos insetos. A compatibilidade entre nematoides entomopatogênicos e inseticidas vem sendo estudados há tempos para que os NEPs também possam ser utilizados em combinação com os químicos em pulverização. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar o efeito de inseticidas recomendados para o controle de *S. frugiperda* na cultura da soja, sobre os nematoides entomopatogênicos *S. brazilense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95. Os nematoides foram submetidos à exposição em sete tratamentos, sendo seis inseticidas e uma testemunha (1- Testemunha; 2- Metomil (1000 mL/ha), 3- Indoxacarbe (400 mL/ha), 4- Espinetoram (150 mL/ha), 5- Clorfenapir (1200 mL/ha); 6- Clorantraniliprole (200 mL/ha); 7- Ciclaniliprole (800 mL/ha)) utilizando a dose cheia, ou superior, recomendada em bula para o controle de *S. frugiperda*. Após o preparo da calda nos recipientes, cerca de 100 nematoides foram pipetados em cada frasco, os quais permaneceram em meio inseticida durante o período proposto. Os bioensaios foram conduzidos em laboratório em condições controladas a 25 ± 2 °C. As avaliações da mortalidade de nematoides foram realizadas até 4 horas após a inoculação em calda inseticida, sendo realizadas com intervalo de 30 minutos entre si até 240 minutos após imersão em calda inseticida. Os resultados de mortalidade dos nematoides foram submetidos ao teste de variância ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Indoxacarbe apresentou mortalidades de 52,5%, 28,4%, 17,1% e 14,7% respectivamente para *S. brazilense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. rarum* PAM95 e *S. glaseri* CB01. Ainda, quando comparadas as espécies de nematoide, *S. brazilense* CB06 se mostrou significativamente mais suscetível ao indoxacarbe que as demais espécies. Os demais inseticidas ocasionaram mortalidade inferior a 10% para todos os isolados de nematoides avaliados. Os inseticidas metomil (1000 mL/ha), espinetoram (150 mL/ha), clorfenapir (1200 mL/ha), clorantraniliprole (200 mL/ha) e ciclaniliprole (800 mL/ha) foram compatíveis com os nematoides entomopatogênicos *S. brazilense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95 nas condições em que foram testados. O inseticida indoxacarbe (400 mL/ha) apresentou maior toxicidade para os nematoides avaliados. O efeito dos inseticidas testados precisam ser avaliados sobre a infectividade e virulência dos NEPs para aumentar e fundamentar as afirmações de compatibilidade.

Palavras-chave: *Steinernema*; nepes; sinergismo; controle biológico; bactérias simbióticas.

ABSTRACT

The use of entomopathogenic nematodes (EPN) is an alternative to usual pest control methods. The genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* are the main genera of entomopathogenic nematodes for the biological control of agricultural pests. These nematodes are vectors of certain species of bacteria, from the genera *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*, which are the insect control agent. The compatibility between entomopathogenic nematodes and insecticides has been studied for some time so that they can also be applied in combination with chemicals. This work was conducted with the objective of determining the effect of several insecticides recommended for the control of *Spodoptera frugiperda* in soybean crops, on the entomopathogenic nematodes *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 and *S. rarum* PAM95. The nematodes were exposed to 7 treatments, 6 insecticides and 1 control (1- Control; 2- Methomyl (1000 mL/ha), 3- Indoxacarb (400 mL/ha), 4- Spinetoram (150 mL/ha), 5- Chlorfenapyr (1200 mL/ha); 6- Chlorantraniliprole (200 mL/ha); 7- Cyclaniliprole (800 mL/ha)) using the highest dose, or higher, recommended in the leaflet for the control of *S. frugiperda*. After preparing the syrup in the containers, around 100 individuals were pipetted into each bottle, which remained in insecticide medium for the proposed period. The bioassays were conducted in the laboratory under controlled conditions at 25 ± 2 °C. Nematode mortality assessments were carried out up to 4 hours after inoculation in insecticidal mixture, with assessments being carried out 30 minutes apart until 240 minutes after immersion in insecticide mixture. The nematode mortality results were subjected to the ANOVA test and the means compared using the Tukey test at a 5% level of significance. Indoxacarb presented mortality rates of 52.5%, 28.4%, 17.1% and 14.7% respectively for *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. rarum* PAM95 and *S. glaseri* CB01. Furthermore, when comparing nematode species, *S. braziliense* CB06 was significantly more susceptible to indoxacarb than the other species. The other insecticides caused mortality of less than 10% for all EPN isolates. The insecticides methomyl (1000 mL/ha), spinetoram (150 mL/ha), chlorfenapyr (1200 mL/ha), chlorantraniliprole (200 mL/ha) and cyclaniliprole (800 mL/ha) were compatible with the entomopathogenic nematodes *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 and *S. rarum* PAM95 under the conditions under which they were tested. The insecticide indoxacarb (400 mL/ha) showed greater toxicity for the nematodes evaluated. The effect of tested insecticides needs to be evaluated on the infectivity and virulence of EPNs to enhance and substantiate compatibility claims.

Keywords: *Steinernema*; epn; synergism; biological control; symbiotic bacterias.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição dos inseticidas químicos testados quanto a compatibilidade com nematoides entomopatogênicos.....	28
Tabela 2 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) de mortalidade de <i>S. braziliense</i> CB06 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização.....	31
Tabela 3 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) de mortalidade de <i>S. diaprepesi</i> Ponto01 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização.....	31
Tabela 4 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) mortalidade de <i>S. glaseri</i> CB01 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização.....	32
Tabela 5 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) de mortalidade de <i>S. rarum</i> PAM95 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização.....	32
Tabela 6 – Efeito do inseticida Indoxacarbe na porcentagem (%) de mortalidade de nematoides entomopatogênicos <i>S. braziliense</i> CB06, <i>S. diaprepesi</i> Ponto01, <i>S. glaseri</i> CB01 e <i>S. rarum</i> PAM95, avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Nematoides.....	19
2.2	Nematoides entomopatogênicos (NEP).....	19
2.3	Sistemática e morfologia de NEP.....	20
2.3.1	<i>Heterorhabditis</i>.....	21
2.3.2	<i>Steinernema</i>.....	22
2.4	Simbiose Nematóide-bactéria.....	23
2.5	Produção e seleção de nematoides entomopatogênicos.....	24
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1	População de <i>Galleria mellonella</i> (L.) (Lepidoptera: Pyralidae).....	27
3.2	Nematoides Entomopatogênicos.....	27
3.3	Inseticidas utilizados.....	28
3.4	Bioensaios de compatibilidade.....	28
3.5	Delineamento experimental.....	29
3.6	Análise estatística.....	29
4	RESULTADOS.....	30
5	DISCUSSÃO.....	34
6	CONCLUSÕES.....	39
	REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

Por trás dos exorbitantes números que a agricultura exerce na economia mundial, existem desafios fitossanitários que podem comprometer a produtividade das lavouras. Existem diversas recomendações para o manejo integrado de pragas nas culturas, como rotação de cultivos, uso de plantas resistentes, controle macro e microbiológico e químico. O uso convencional de defensivos para o controle de pragas agrícolas ainda é o mais utilizado de forma geral, principalmente pelo efeito de contato, agilidade de controle e como ação preventiva. Muitos dos produtos químicos utilizados possuem amplo espectro de ação, causando mortalidade das pragas e também de controladores biológicos (Cloyd; Bethke, 2011; Wochner, 2020).

Embora as principais pragas das grandes culturas já sejam muito bem conhecidas, seu controle segue sendo uma preocupação aos produtores, visto o crescente apelo ao uso de ferramentas para a proteção de cultivos, tanto inseticidas químicos como biológicos. Ainda, a grande variedade de produtos disponíveis está concentrada em alguns poucos grupos químicos e tal fato permite para o aparecimento de populações de insetos resistentes à determinadas moléculas, como é o caso de lagartas como *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera* a alguns inseticidas (Bolzan, 2019; Chavez *et al.*, 2022; Okuma *et al.*, 2022; Fuhr, 2023). Nesse contexto, faz-se necessário reduzir o número de aplicações de mesmo produtos, rotacionando com ativos de grupos químicos diferente e, se possível, realizá-la em combinação com outros métodos de controle, como o controle biológico, a fim de estender a vida útil e a eficiência dos químicos (Laznik e Trdan, 2014).

Atualmente o controle biológico, em especial com a utilização de bactérias, nematoides e fungos, está cada vez mais sendo utilizado como uma alternativa importante para os inseticidas químicos (Lalitha *et al.*, 2018). O uso de nematoides entomopatogênicos se mostra uma alternativa aos métodos usuais de controle de pragas. Os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* são os principais gêneros de nematoides entomopatogênicos para o controle biológico de pragas agrícolas (Grewal *et al.*, 2005a). O ciclo de vida dos NEPs passa pelas fases de ovo, juvenil (4 estádios) e adulto, sendo que somente o juvenil de estágio 3, conhecido como juvenil infectivo (JI), é responsável pela penetração e consequente parasitismo de insetos (Grewal *et al.*, 2005b). Esses nematoides atuam como vetores de determinadas espécies de bactérias, dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, que são o agente de controle

dos insetos. As bactérias são liberadas pelo nematoide no interior do inseto, se multiplicam e excretam toxinas na hemolinfa, ocasionando alterações na coloração e a morte do inseto em período inferior a 72 horas (Dolinski, 2006; Voss *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2014).

Estudos realizados utilizando os gêneros *Steirnenema* e *Heterorhabditis* mostram a eficiência destes nematoides no controle de larvas de diferentes espécies de insetos-praga de solo e/ou que apresentam ao menos uma fase do desenvolvimento no solo, sendo tão efetivo quanto inseticidas químicos, em condições favoráveis como temperatura e umidade (Grewal *et al.* 2005a; Laznik e Trdan, 2014; 2017). À vista disso, a compatibilidade entre nematoides entomopatogênicos e inseticidas vem sendo estudada há mais de 30 anos para que também possam ser aplicados em combinação com os químicos em pulverização, conferindo redução de tempo e custo para aplicações (Shapiro-Ilan *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2018; Laznik *et al.*, 2012; Ozdemir *et al.*, 2020; Sabino *et al.*, 2018; Ulu *et al.*, 2016). No entanto, também há trabalhos que elucidam os efeitos negativos de inseticidas sobre determinados isolados de NEP, como na mortalidade do nematoide, redução da infectividade e virulência (Alumai e Grewal, 2004; Amizadeh *et al.*, 2019; Negrisoli Junior *et al.*, 2010).

Os NEPs apresentam-se como excelentes agentes biológicos, e novas espécies vem sendo descritas. No entanto, é necessário selecionar o isolado ideal para determinada praga alvo, determinando, além de sua eficácia e infectividade, a compatibilidade com outros agentes de controle químicos ou biológicos, patógenos, predadores além dos fatores abióticos (Shapiro-Ilan *et al.*, 2017; Lacey *et al.*, 2015).

Diante ao exposto, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar o efeito de inseticidas recomendados para o controle de *S. frugiperda* na cultura da soja, sobre os nematoides entomopatogênicos *S. glaseri*, *S. braziliense*, *S. diaprepesi* e *S. rarum* em condições de laboratório.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nematoides

Os nematoides pertencem ao filo Nematoda, caracterizados como seres cilíndricos não segmentados, com hábito alimentar que vai desde vida-livre a parasitas de plantas e animais (Wood, 1988). Os nematoides desenvolveram estruturas especializadas para os diferentes hábitos, principalmente em relação ao aparelho bucal e ornamentações na cutícula (estrias, papilas sensoriais, bursa).

Nematoides fazem associação, seja de forma casual ou obrigatória por parasitismo ou patogênese, com outro invertebrado (Stock, 2005). Por conta dessa associação, os nematoides são popularmente conhecidos por serem prejudiciais para a agricultura. No entanto, existem muitas espécies que são benéficas. Dentre essas espécies destaca-se os nematoides entomopatogênicos.

2.2 Nematoides entomopatogênicos (NEP)

Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) são aqueles capazes de ocasionar mortalidade de insetos. De ocorrência natural no solo, localizam e infestam o hospedeiro por meio de rastros químicos (feromônios), concentração de CO₂ e até vibrações emitidas pelos insetos (Kaya e Gaugler, 1993; Torr *et al.*, 2004). Os NEPs são associados mutualisticamente com bactérias, e todos os estágios, exceto a forma de juvenil infectante (J3), são encontrados exclusivamente dentro de insetos hospedeiros (Grewal *et al.*, 2005). A infecção no inseto acontece por cavidades naturais do hospedeiro, como boca, ânus e espiráculos, e, também, pela cutícula. Após a penetração no inseto, quando atinge a hemocèle do hospedeiro, os juvenis liberam a bactéria simbiótica que é armazenada no intestino do nematoide. A multiplicação bacteriana na hemolinfa proporciona a digestão e morte do inseto, fornecendo alimento para o NEP. O ciclo de vida dos NEP varia de acordo com o gênero e a espécie porém, geralmente se completa dentro de 12-15 dias, podendo estender à 20 dias, com temperatura entre 25-30 °C, considerada ótima para seu desenvolvimento e reprodução (Banu *et al.*, 2017).

Muitas famílias de nematoides são conhecidas pela associação com insetos, como Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Sphaerularidae, Rhabditidae, Steinernematidae e Heterorhabditidae, no entanto as principais que apresentam potencial de biocontrole e maior foco de pesquisas são Steinernematidae e Heterorhabditidae (Van Driesche e Bellows, 1996; Lacey *et al.*, 2015).

Nematoides entomopatogênicos apresentam predileção exclusiva para a classe dos insetos, são seguros para plantas e animais vertebrados, sendo que, até o presente momento, não há relatos de toxicidade aguda ou crônica em humanos ou qualquer outro vertebrado, mesmo que aplicados em campos, pastagem e na jardinagem. Tal menção corrobora o fato de que alguns órgãos de proteção ambiental como por exemplo, nos EUA, Índia, Austrália e países da União Europeia, isentaram a necessidade de requerimentos para regulamentação e registro de produtos à base de NEPs (Dreves e Lee, 2015). Apesar disso, para aplicações em associação com inseticidas químicos é necessário regulamentação com estudos comprovando a compatibilidade de uso dessas ferramentas.

O conhecimento da biologia e identificação dos insetos pragas e biocontroladores é um fator importante que impacta diretamente na implantação e sucesso de programas de controle biológico e manejo de pragas (Lacey *et al.*, 2001). A identificação precisa de espécies requer a implementação de ferramentas taxonômicas apropriadas, tradicionalmente a morfologia, e muitas vezes sendo necessária a utilização de técnicas de identificação molecular, principalmente quando se trata de NEPs (Stock e Hunt, 2005).

2.3 Sistemática e morfologia de NEP

Diversas famílias são conhecidas dentro de cinco subordens— Rhabditina, Tylenchina, Myolaimina, Spirurina pertencentes a classe Chromadorea, e Mermithina, a qual pertence à classe Enoplea (Stock, 2005). Destes, o grupo mais primitivo é Rhabditida, o qual deu origem às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae há aproximadamente 375 milhões de anos (Poinar, 1993). Estas duas famílias apresentam linhas evolutivas diferentes dentro da mesma ordem, onde a primeira pertence a superfamília Strongyloidea, da sub-ordem Rhabditomorpha, enquanto Steinernematidae está classificada na superfamília Strongyloidea, da sub-ordem Panagrolaimomorpha (De Ley e Blaxter, 2002). Embora cada família tenha tido

evolução independente, elas convergiram em algum momento, resultando em similaridade morfológica e alguns traços comportamentais (Poinar, 1993). Estudando a morfologia dos gêneros, Poinar (1993) sugeriu que *Heterorhabditis* tenha evoluído de ancestral proveniente de ambiente marinho arenoso, enquanto, para *Steinernema*, seus ancestrais teriam habitado em ambiente terrestre.

A família Heterorhabditidae apresenta um único gênero (*Heterorhabditis*) enquanto Steinernematidae conta com dois gêneros, *Steinernema* e *Neosteinerema*, este último menos expressivo quanto ao biocontrole de insetos. Os NEPs possuem íntima relação com suas bactérias simbióticas, *Photorhabdus* com *Heterorhabditis* e *Xenorhabdus* com *Steinernema*, as quais são responsáveis por ocasionar a mortalidade de insetos e prover os nutrientes necessários ao nematoide hospedeiro (Murfin *et al.*, 2015).

2.3.1 *Heterorhabditis*

O gênero *Heterorhabditis* foi descrito por Poinar (1976) quando descreveu a espécie *H. bacteriophora*. A morfologia dos nematoides da família Heterorhabditidae carregam alguns traços característicos de Rhabditidae de vida livre, observados principalmente em machos (cavidade bucal tubular, faringe em forma de clava com válvulas no bulbo basal), que surgem apenas na segunda geração, por anfimixia (fertilização cruzada), dentro do inseto cadáver (Spiridonov, 2017).

As fêmeas de heterorhabditídeos mantêm características morfológicas ancestrais de Rhabditomorpha como a presença de um sistema excretor auxiliar (Spiridonov, 1981). Os descendentes se desenvolvem ativamente em seu interior, sofrendo até duas mudas até romperem as paredes do útero. No solo, o juvenil infectivo (JI) ainda está recoberto com a cutícula do juvenil de segundo estágio (chamados de juvenis “dauer”), que confere proteção contra dessecação, congelamento e fungos patogênicos, permanecendo até o encontro com o hospedeiro (Griffin *et al.*, 2005). A cutícula do juvenil infectante é estriada com uma faixa lisa delimitada por duas cristas nos campos laterais. Um dente proeminente é visível na extremidade dorsal anterior. Boca e ânus fechados. Esôfago e intestino reduzidos. Poro excretor posterior ao anel nervoso. Células bacterianas simbióticas encontradas no intestino.

Para o diagnóstico rápido, este gênero é descrito por Adams e Nguyen (2002) como parasitas obrigatórios de insetos, com juvenis infectivos que carregam bactérias simbiotes e a presença de fêmeas hermafroditas e anfimíticas.

Na primeira geração ocorrem fêmeas hermafroditas. Essas apresentam cabeça truncada a ligeiramente arredondada, seis lábios cônicos bem desenvolvidos, separados, cada um com uma papila terminal. Poro excretor geralmente posterior ao final do esôfago. Vulva mediana, em forma de fenda, circundada por anéis elípticos; Ovíparo, tornando-se posteriormente ovovivíparo. Cauda pontiaguda, mais longa que a largura do corpo anal, inchaço pós-anal geralmente presente (Adams e Nguyen, 2002). Fêmeas anfimíticas são similares, mas geralmente menores que hermafroditas. Apresentam papilas labiais proeminentes. Sistema reprodutivo anfidélfico, refletido. Vulva não funcional para deposição de ovos, ocorrendo eclosão dentro do corpo parental, mas funcionam para acasalamento.

Os machos apresentam espículas pareadas, separadas e levemente curvadas ventralmente. Cabeça da espícula curta, deslocada da lâmina por uma constrição. Gubernáculo geralmente com cerca de metade do comprimento da espícula. Uma típica bursa copulatrix rabdítica na extremidade posterior do macho consiste em duas asas sublaterais sustentadas por nove papilas genitais (Adams e Nguyen, 2002; Spiridonov, 2017). Os machos são mais transparentes e com forma de bastonete, diferente das fêmeas, maiores e mais gordas, em forma de salsicha.

2.3.2 *Steinernema*

Steinernematídeos produzem machos e fêmeas em todas as gerações, denominados como gonocóricos (Grewal *et al.*, 2005a). A diferença morfológica mais notória entre os steinernematídeos e os heterorhabditídeos está na morfologia da cauda do macho, que não possui as asas caudais. O aspecto característico da cauda de um macho de steinernematídeo é a presença de uma papila mediana proeminente em uma curta distância anterior a uma abertura cloacal. As fêmeas são grandes e de tamanho variado, com um corpo grosso em forma de salsicha cheio de tubos gonadais e intestino. Os tubos gonadais são morfológicamente diferenciados com receptáculo seminal bem definido na fronteira entre o ovário e o útero. Poro excretor distinto, principalmente anterior ao anel nervoso. Cabeça arredondada ou truncada, raramente deslocada. Seis lábios presentes, parcialmente ou completamente fundidos, cada

lábio com uma papila labial. Fêmeas ovíparas ou ovovivíparas com juvenis desenvolvendo-se até o estágio infeccioso (juvenil infeccioso) antes de emergirem do corpo da fêmea. Cauda mais longa ou mais curta que a largura do corpo anal (Spiridonov, 2017).

Os JIs Steinernematídeos trocam sua bainha cuticular de segundo estágio logo após a migração do cadáver hospedeiro. Além das anulações transversais, a cutícula de terceiro estágio dos JIs dos Steinernematídeos possui sulcos longitudinais ao longo de ambos os lados do corpo – os chamados campos laterais, bastante diversos no gênero *Steinernema*. Em alguns juvenis, a margem da cutícula anulada forma uma dobra na borda com o campo lateral, que pode ser erroneamente considerada como uma crista adicional. Esôfago e intestino aparecem reduzidos. Poro excretor distinto, anterior ao anel nervoso. Cauda conóide ou filiforme. Fasmídeos, localizados no meio da cauda, proeminentes, discretos ou não observados (Spiridonov, 2017).

2.4 Simbiose Nematóide-bactéria

Os gêneros *Photorhabdus* spp. e *Xenorhabdus*, em geral, são patogênicos a insetos, desde que liberados dentro da hemocèle. Ambos os gêneros apresentam bactérias gram-negativas móveis, pertencentes à família Enterobacteriaceae (Boemare *et al.*, 1993). As bactérias são mutualisticamente associadas aos juvenis infectivos (JIs) dos NEPs dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, respectivamente. No entanto, esta relação não é obrigatória, cada organismo pode ser cultivado separadamente, mas, quando associados eles apresentam alto grau de especificidade (Griffin *et al.*, 2005). Tanto bactéria quanto nematóide se beneficiam dessa associação, as bactérias responsáveis pela rápida mortalidade do inseto, transformam a hemolinfa em fonte nutritiva ideal, ao liberar uma diversidade de toxinas e exoenzimas hidrolíticas, para o nematóide se desenvolver e multiplicar, e suprimem organismos competidores que podem ser nocivos ao nematóide por meio da produção de antibióticos e o nematóide se responsabiliza pela proteção das bactérias em ambiente externo e as introduzem na hemocèle dos insetos.

Existem dois estádios fisiológicos no ciclo de vida das bactérias simbiotes, o estágio de forese, o qual permanecem dentro do hospedeiro, e o estágio vegetativo,

quando as bactérias são liberadas pelo nematoide na hemolinfa do inseto e se multiplicam (Boemare, 2002).

No geral, as bactérias do gênero *Photorhabdus* spp. sofrem modificações que possibilitam a permanência no intestino do nematoide hospedeiro. Além dos mecanismos de inanição e redução de movimento, as bactérias estimulam a acidificação celular para reduzir o crescimento, recorrem a vias fosfatadas para lidar com estresse oxidativo e nutrição reduzida, e produzem um biofilme que permite continuar no intestino do nematoide até que seja liberada na hemolinfa dos insetos (An e Grewal, 2010).

Xenorhabdus nematophila são transportadas em vesículas especializadas no intestino dos JIs *Steinernema* spp., enquanto *Photorhabdus* spp. são encontradas principalmente no intestino médio de JIs *Heterorhabditis* spp. (Bird e Akhurst, 1983; Goodrich-Blair e Clarke, 2007).

Posteriormente ao serem liberadas no inseto hospedeiro, cada gênero bacteriano apresenta sua variação quanto a multiplicação e produção de antibióticos (Chaston *et al.*, 2011). *Photorhabdus* produz modificações em lipossacarídeos para tolerar o sistema de defesa do inseto, que produz peptídeos antimicrobianos. *Xenorhabdus*, em geral, bloqueiam essa indução de defesa do inseto, reduzindo a expressão de peptídeos antimicrobianos pelo inseto (Abd-Elgawad, 2017).

2.5 Produção e seleção de nematoide entomopatogênicos

Alguns fatores são de extrema importância para a seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos, que eles consigam identificar hospedeiros, que apresentem alta virulência contra o inseto-praga (taxa de multiplicação) e viabilidade de produção. Características como amplo espectro de ação e estabilidade e compatibilidade na formulação para armazenamento do produto também são critérios desejáveis para seleção de NEP. Durante a seleção, diversos isolados são intensivamente testados em laboratório e em campo com intuito de avaliar, principalmente, os parâmetros desejáveis já mencionados e selecionar os mais promissores.

Para que o JI consiga encontrar seu hospedeiro, ambos precisam estar no mesmo perfil do solo. O forrageamento dos nematoides entomopatogênicos varia de acordo com a espécie e isso interfere na seleção de isolados para uso em campo,

pois algumas desempenham maior eficiência para hospedeiros com maior movimentação, como os NEPs que apresentam comportamento de emboscada, enquanto outras espécies são mais móveis e vão de encontro ao hospedeiro que é relativamente sedentário (Griffin *et al.*, 2005). As espécies *Steinernema carpocapsae* (Campbell e Gaugler, 1993; Warnock *et al.*, 2021) e *S. scapterisci* (Campbell e Gaugler, 1993) possuem comportamento de emboscada e as espécies *Heterorhabditis* spp. e *S. glaseri* (Lewis, 2002; Rakubu *et al.*, 2024) se movem ativamente em busca do hospedeiro. Existem ainda espécies mais versáteis que exibem comportamento entre “ambusher” e “cruiser”, a saber as espécies *S. diaprepesi* e *S. rarum* (Silva *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021).

Além de saber sobre o comportamento dos isolados na busca pelos insetos, é necessário entender como os nematoides se comportam em relação ao ambiente no qual são aplicados, muitas vezes em condições estressantes como alta temperatura e baixa umidade do solo, porosidade do solo, presença de predadores e patógenos.

Os primeiros testes com nematoides entomopatogênicos no Brasil foram realizados por Arrigoni *et al.* (1986), avaliando uma formulação importada de *Steinernema carpocapsae* para o controle de *Migdolus fryanus* na cultura da cana-de-açúcar.

Dois modos de produção de NEP são amplamente conhecidos. A produção *in vivo* geralmente é usada em menor escala, com ênfase para trabalhos científicos/de laboratório, jardinagem, pequenos produtores ou onde se tem pouco incentivo para investimento em produção *in vitro*, a qual assegura maior qualidade e segurança de manuseio, sendo esta tecnologia voltada para produção em larga escala afim de viabilizar os custos de produção visto que sua implementação é mais onerosa (Ehlers e Shapiro-Ilan, 2005).

As técnicas de produção de NEPs em larga escala ainda é mantida sob sigilo por empresas que detém conhecimento de tecnologias inovadoras de formulação. Este fator é crítico para o sucesso do uso de NEP como agentes de controle biológico de insetos-praga na agricultura (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012). Formulações clássicas como a aquosa outras como lâ de nematoides, géis, vermiculita, turfa argilosa e esponja não permitem a sobrevivência dos nematoides por período prolongado. Os NEPs também podem ser formulados em grânulos dispersíveis em água tornando possível o aumento no tempo de armazenamento de um produto (Askary e Ahmad,

2017). A vida útil dos nematoides pode ser aumentada pela redução da atividade e do metabolismo dos nematoides através de armazenamento refrigerado ou pela indução de anidrobiose (Grewal, 2002).

Novas espécies endêmicas foram descobertas nos últimos anos no Brasil. Andaló *et al.* (2006) identificou *Heterorhabditis amazonenses* no estado do Amazonas em amostras de solo utilizando *G. mellonella*. Outra espécie nativa foi isolada a partir de amostras de *G. mellonella* coletadas no estado do Mato Grosso do Sul, identificada por Nguyen *et al.* (2010) como *Steinernema brasilense*.

Atualmente, segundo o Agrofitec (2023), existem 3 produtos à base de nematoides entomopatogênicos comercializados no Brasil, sendo dois fornecidos pela Koppert do Brasil, *Heterorhabditis bacteriophora* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Spodoptera frugiperda* e *Scaptocoris castanea* e *Steinernema carpocapsae* para controle de *S. levis*, *S. frugiperda* e *Fungus gnats*. O outro produto também é formulado com *H. bacteriophora*, fornecido pela Bio Controle para o controle de *S. levis*, *Conotrachelus humeropictus* e *Diabrotica speciosa*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nas instalações do Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Unesp – Botucatu-SP.

3.1 População de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae)

Lagartas da traça-dos-favos *G. mellonella* obtidas da criação, adaptada de Machado (1988), mantida a temperatura de ± 25 °C e 80% de UR, no laboratório de Nematologia Agrícola da Unesp Botucatu-SP foram utilizadas como hospedeiro para multiplicação dos isolados de nematoides entomopatogênicos. As lagartas de quarto a quinto instar foram mantidas em placas de Petri com diâmetro de 9 centímetros forradas com duas folhas de papel filtro umedecidas com suspensão de 500 JIs/cm², aproximadamente 100 JIs/larva. Para evitar contaminação essas placas foram seladas com plástico filme transparente (PVC) e armazenadas em câmara tipo BOD climatizada a 25 ± 2 °C e ausência de fotoperíodo (Woodring e Kaya, 1988). Após três dias, as lagartas mortas de *G. mellonella* foram transferidas para armadilhas de White (White, 1927) e armazenadas em câmara climatizada a 25 ± 2 °C. Os JIs que deixarem os cadáveres das lagartas de *G. mellonella* foram coletados em recipiente plástico contendo água destilada esterilizada (1cm de profundidade) e mantidos em uma câmara climatizada a 18 ± 1 °C, para utilização em até dois dias após a coleta (De Brida *et al.*, 2019).

3.2 Nematoides entomopatogênicos

Foram avaliados 4 isolados do gênero *Steinernema* provenientes das espécies *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95, os quais foram multiplicados em sistema *in vivo* em lagartas de quarto a quinto instar de *G. mellonella*, como descrito por Woodring e Kaya (1988). Para a condução dos ensaios, foram utilizados nematoides recém emergidos do hospedeiro, com até 24 horas de emergência.

3.3 Inseticidas utilizados

Os inseticidas utilizados neste experimento estão descritos na Tabela 1. Foram escolhidos 6 inseticidas comerciais comumente utilizados para controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura da soja ou até mesmo recém registrado junto ao Ministério da Agricultura (MAPA), a saber: Metomil (215 g/L), Indoxacarbe (150 g/L), Espinetoram (120 g/L), Clorfenapir (240 g/L), Clorantraniliprole (200 g/L) e Ciclaniliprole (50 g/L). Foi utilizada água potável como tratamento testemunha. As doses de cada produto utilizadas nos ensaios foram determinadas com base na recomendação de bula para controle de *S. frugiperda* na cultura da soja, adotando-se a maior dose ou dose superior ao recomendado a fim de agravar os efeitos sobre os nematoides.

Tabela 1 – Descrição dos inseticidas químicos testados quanto a compatibilidade com nematoides entomopatogênicos

# Tratamento	Nome Comercial	Concentração (g/L) ¹	Formulação	Dose p.c. ² (mL/ha) ³	Volume Calda (L/ha) ⁴
1 Testemunha	-	-	-	-	-
2 Metomil	Upmyl	215	SL	1000	100
3 Indoxacarbe	Avatar	150	EC	400	150
4 Espinetoram	Exalt	120	SC	150	100
5 Clorfenapir	Pirate	240	SC	1200	150
6 Clorantraniliprole	Premio	200	SC	200	100
7 Ciclaniliprole	Goemon	50	SL	800	150

¹ grama por litro; ² produto comercial; ³ mililitros por hectare; ⁴ litros por hectare. SL: concentrado solúvel; EC: concentrado emulsionável; SC: suspensão concentrada;

3.4 Bioensaios de compatibilidade

Os inseticidas foram diluídos em 50 mL de água potável, de acordo com a dose adotada para cada produto, utilizando frascos coletores com 80 mL de volume. Após o preparo da calda, foi realizada a calibração do número de nematoides para inoculação de 200 µL contendo uma média de 100 indivíduos por frasco, os quais

permaneceram em meio inseticida durante o período de avaliação. Os bioensaios foram conduzidos em laboratório com condições controladas a 25 ± 2 °C. Foi realizada agitação manual dos frascos a cada 20 minutos para evitar possível separação entre o produto e o diluente (água). Avaliações da mortalidade de nematoides foram realizadas até 4 horas após a inoculação em calda inseticida, com as avaliações sendo realizadas com intervalo de 30 minutos entre si até 240 minutos após imersão em calda inseticida, utilizando lâmina de Peters, com auxílio de um estereomicroscópio. Para cada período, a solução contendo nematoide foi despejada em peneira de 500 mesh para limpeza com água para melhorar a visualização dos nematoides. Adotou-se solução de NaOH com intuito de estimular os organismos, a qual foi pipetada (0,5 mL) para facilitar nas avaliações. Os nematoides inativos durante as avaliações foram considerados mortos.

3.5 Delineamento experimental

Os tratamentos utilizados neste trabalho estão apresentados na Tabela 1. O experimento foi realizado com delineamento inteiramente casualizado, com 7 tratamentos incluindo a testemunha, sobre 4 espécies de nematoides entomopatogênicos, avaliadas em 8 períodos com intervalo de 30 minutos entre si até 240 minutos após imersão em calda inseticida. Para cada tratamento foram adotadas 12 repetições realizadas ao longo do tempo.

3.6 Análise estatística

Os resultados de mortalidade foram transformados em percentual de mortalidade de nematoides e submetidos ao teste de variância ANOVA e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($P < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software AGROESTAT® (Barbosa e Maldonado Junior, 2015).

4 RESULTADOS

Os resultados do efeito de inseticidas sobre a mortalidade os isolados de nematoides entomopatogênicos *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95 estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas 2, 3, 4 e 5. Resultados estatisticamente significativos quanto a sobrevivência dos nematoides até 240' foram encontrados para todas as espécies, salvo os resultados verificados aos 30' (minutos) após a imersão em calda inseticida para a espécie *S. diaprepesi*.

Foi observada uma tendência lógica nos resultados em relação ao tempo de exposição, onde as maiores mortalidades foram registradas nas avaliações nas quais os nematoides permaneceram na calda inseticida por maior tempo. Tal fato é nitidamente evidente quando os nematoides foram expostos ao inseticida indoxacarbe (400 mL/ha). A combinação deste inseticida com nematoides entomopatogênicos proporcionou as maiores mortalidades, sendo significativamente superior aos demais inseticidas avaliados, ocasionando efeito letal nos isolados *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. rarum* PAM95 e *S. glaseri* CB01 com mortalidade de respectivamente, 52,5%, 28,4%, 17,1% e 14,7%. Ainda, quando comparadas as espécies de nematoide, *S. braziliense* CB06 se mostrou significativamente mais suscetível ao indoxacarbe (400 mL/ha) que as demais espécies, com médias de mortalidade superando 50% nas avaliações de 210' e 240' (Tabela 6).

Quanto aos demais inseticidas, observou-se que metomil, na dose de 1000 mL/ha, quando comparado à testemunha, ocasionou mortalidades significativas aos isolados *S. diaprepesi* Ponto01 desde 150' até 240' e *S. glaseri* CB01 somente aos 210' após a imersão em calda inseticida (Tabelas 3 e 4). Tais efeitos foram limitados a 10,3% e 3,5% de mortalidade para *S. diaprepesi* e *S. glaseri* respectivamente.

Espinetoram (150 mL/ha), clorfenapir 1200 (mL/ha), clorantraniliprole (200 mL/ha) e ciclaniliprole (800 mL/ha) não apresentaram efeitos negativos aos nematoides testados neste experimento, com mortalidades inferiores a 3,5%, resultados estatisticamente semelhantes ao observado para a testemunha (Tabelas 2, 3, 4 e 5).

Tabela 2 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) de mortalidade de JIs de *Steinernema braziliense* CB06 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização. Botucatu-SP, 2023.

Tratamento	Dose (mL/ha) ¹	Mortalidade (%)							
		30' ²	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'
Testemunha	-	0,0 b*	0,5 b	0,2 b	0,0 b	0,0 b	0,8 bc	0,0 b	1,6 b
Metomil	1000	0,0 b	2,0 b	0,3 b	0,0 b	0,0 b	4,5 b	6,5 b	2,9 b
Indoxacarbe	400	15,4 a	14,7 a	15,3 a	20,4 a	16,1 a	17,5 a	51,4 a	52,5 a
Espinetoram	150	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,3 b	0,4 c	0,4 b	0,0 b
Clorfenapir	1200	0,4 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 b	0,7 b
Clorantraniliprole	200	0,3 b	1,1 b	0,0 b	0,5 b	0,4 b	0,0 c	0,0 b	0,2 b
Ciclaniliprole	800	1,4 b	0,2 b	0,0 b	0,3 b	0,0 b	0,0 c	0,0 b	0,9 b
F		26,55	17,88	33,11	36,61	54,34	48,97	85,81	251,85
CV (%)		154,15	165,23	153,91	144,60	118,61	96,69	86,05	50,56
DMS		4,75	5,42	4,29	5,43	3,51	3,94	8,86	5,25

¹ mililitros por hectare; ² minutos; * Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (p<0,05).

Tabela 3 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) de mortalidade de JIs de *Steinernema diaprepesi* Ponto01 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização. Botucatu-SP, 2023.

Tratamento	Dose (mL/ha)	Mortalidade (%)							
		30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'
Testemunha	-	0,0 a*	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,2 b	0,2 c	0,0 c
Metomil	1000	1,7 a	0,4 b	0,8 b	3,4 b	10,3 b	4,1 b	8,3 b	8,0 b
Indoxacarbe	400	0,2 a	4,5 a	14,7 a	25,1 a	28,4 a	26,3 a	25,6 a	28,4 a
Espinetoram	150	3,4 a	0,0 b	1,0 b	0,0 b	0,0 c	0,0 b	0,0 c	1,0 bc
Clorfenapir	1200	0,6 a	0,0 b	1,8 b	0,7 b	0,0 c	0,0 b	0,2 c	1,5 bc
Clorantraniliprole	200	0,3 a	0,9 b	1,1 b	0,8 b	0,2 c	1,1 b	0,4 c	1,0 bc
Ciclaniliprole	800	0,0 a	0,0 b	0,0 b	1,8 b	0,0 c	0,8 b	0,4 c	0,8 bc
F		1,29	7,12	32,28	41,07	40,41	42,82	30,53	36,42
CV (%)		437,20	260,55	116,75	108,75	104,02	109,98	119,87	101,73
DMS		4,72	2,68	4,00	6,11	7,30	6,33	7,41	7,31

* Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância (p<0,05).

Tabela 4 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) mortalidade de JIs de *Steinernema glaseri* CB01 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização. Botucatu-SP, 2023.

Tratamento	Dose (mL/há)	Mortalidade (%)							
		30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'
Testemunha	-	0,0 b*	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 c	0,4 b
Metomil	1000	1,0 b	0,4 b	0,5 b	1,7 b	2,6 b	1,2 b	3,5 b	1,4 b
Indoxacarbe	400	8,8 a	3,4 a	6,1 a	8,5 a	12,4 a	11,7 a	11,9 a	14,7 a
Espinetoram	150	0,0 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b	2,9 b	0,6 b	0,2 bc	0,9 b
Clorfenapir	1200	0,5 b	0,3 b	0,2 b	0,0 b	0,2 b	0,7 b	0,3 bc	1,0 b
Clorantraniliprole	200	0,5 b	0,7 b	0,4 b	0,4 b	0,0 b	0,8 b	0,3 bc	0,0 b
Ciclaniliprole	800	0,0 b	0,3 b	0,4 b	0,0 b	0,7 b	1,4 b	0,3 bc	0,9 b
F		11,08	7,80	12,25	19,66	25,10	25,26	29,06	44,76
CV (%)		216,61	201,86	202,11	162,07	114,21	123,19	119,71	98,30
DMS		4,13	1,83	2,70	3,04	3,81	3,54	3,47	3,38

* Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Tabela 5 – Efeito de inseticidas na porcentagem (%) de mortalidade de JIs de *Steinernema rarum* PAM95 avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização. Botucatu-SP, 2023.

Tratamento	Dose (mL/há)	Mortalidade (%)							
		30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'
Testemunha	-	0,0 b*	0,0 b	0,0 b	0,0 b	1,3 b	1,0 b	0,0 b	0,0 b
Metomil	1000	0,0 b	0,0 b	0,4 b	1,0 b	0,6 b	1,9 b	1,5 b	1,0 b
Indoxacarbe	400	9,2 a	11,7 a	8,6 a	9,4 a	9,5 a	12,4 a	14,4 a	17,1 a
Espinetoram	150	0,8 b	0,8 b	2,4 b	0,4 b	1,8 b	1,4 b	1,6 b	0,4 b
Clorfenapir	1200	1,9 b	2,2 b	1,8 b	0,0 b	0,0 b	1,4 b	1,4 b	1,7 b
Clorantraniliprole	200	0,6 b	0,9 b	0,3 b	0,4 b	0,4 b	1,1 b	0,4 b	0,8 b
Ciclaniliprole	800	0,0 b	0,0 b	0,2 b	0,4 b	1,9 b	1,0 b	0,3 b	0,0 b
F		6,60	10,41	6,07	13,05	10,78	12,20	8,38	12,49
CV (%)		25,84	205,56	222,32	200,40	156,08	145,08	218,65	203,52
DMS		5,55	5,64	5,34	4,07	4,29	5,15	7,59	7,58

* Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Tabela 6 – Efeito do inseticida Indoxacarbe na porcentagem (%) de mortalidade de JIs de *Steinernema braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95, avaliada aos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos após a imersão em calda de pulverização. Botucatu-SP, 2023.

Tratamento	Dose háL/ha)	Mortalidade (%)							
		30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'
<i>S. braziliense</i>	400	15,4 a	14,7 a	15,3 a	20,4 a	16,1 b	17,5 ab	51,4 a	52,5 a
<i>S. diaprepesi</i>	400	0,2 b	4,5 b	14,7 ab	25,1 a	28,4 a	26,3 a	25,6 b	28,4 b
<i>S. glaseri</i>	400	8,8 ab	3,4 b	6,1 b	8,5 b	12,4 b	11,7 b	11,9 b	14,7 c
<i>S. rarum</i>	400	9,2 ab	11,7 ab	8,6 ab	9,4 b	9,5 b	12,4 b	14,4 b	17,1 bc
F		6,78	6,07	3,86	8,55	14,98	7,59	20,49	26,70
CV (%)		99,50	90,14	72,04	61,33	44,82	50,12	53,65	41,13
DMS		9,08	8,42	8,78	10,61	8,12	9,27	15,09	12,63

* Médias nas colunas seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Os nematoides entomopatogênicos, quando aplicados em condições favoráveis, são uma alternativa viável, com performance tão eficiente quanto ao uso de inseticidas químicos para programas de manejo de pragas, e o uso combinado dessas ferramentas para aplicação também é possível pois alguns isolados de NEP são tolerantes à exposição inseticida por tempo determinado, conferindo maior efetividade de controle, redução de tempo e custo para aplicação (Alumai e Grewal, 2004; Negrison Junior *et al.*, 2010; Shapiro-Ilan *et al.*, 2006; Sabino *et al.*, 2018; Ozdemir *et al.*, 2020). Deste modo, este experimento foi conduzido para determinar o efeito de inseticidas recomendados para a cultura da soja no Brasil na sobrevivência de isolados dos NEPs *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95.

Assim como os trabalhos de Sabino *et al.* (2018) e Koppenhofer e Fuzy (2018), que estudaram o efeito do inseticida clorantniliprole sobre NEPs, onde relataram mortalidade inferior a 2% para JIs de *H. amazonensis* e inferior a 13% para JIs de *H. bacteriophora* expostos a concentração de 900 ppm, sem que houvesse diferenças significativas em relação a testemunha, este estudo endossa a possibilidade de utilização conjunta dos inseticidas e NEPs no manejo de pragas. Ainda, Koppenhofer e Fuzy (2018) verificaram efeito variando de aditivo a sinérgico quando clorantniliprole foi aplicado uma semana antes ou simultaneamente com o nematoide entomopatogênico *H. bacteriophora* visando o controle de *Anomala orientalis* Waterhouse (Coleoptera: Scarabaeidae). Até o presente momento, não houve relato de estudos de compatibilidade entre o inseticida ciclaniliprole e estas espécies de NEPs, e não foi observado nenhuma alteração visual no comportamento dos nematoides avaliados após a exposição a este inseticida. Esta molécula pertence ao grupo químicos as antranilamidas, juntamente ao clorantniliprole. Os inseticidas desse grupo se ligam aos receptores de rianodina, localizados na membrana do retículo endo sarcoplasmático, causando, em sequência, desequilíbrio da homeostase de cálcio nas células, paralisia devido à contração muscular, cessamento da alimentação e a morte do inseto (Cordova *et al.*, 2006; IRAC, 2023). Neste trabalho foi registrado desempenho estatisticamente semelhante entre clorantniliprole e ciclaniliprole sobre os quatro isolados avaliados, com mortalidade inferior a 2% dos nematoides estudados neste trabalho.

Em linha com os resultados de compatibilidade de espinetoram com os isolados avaliados, este inseticida também apresenta baixa mortalidade à *S. carpocapsae* e *H. indica* em avaliações até 96 horas de exposição e, também, confere efeito aditivo para o controle de *Spodoptera litura* (Khan *et al.*, 2021). Wakil *et al.* (2023), avaliando a eficiência da combinação de espinetoram e nematoides entomopatogênicos no controle de tripes *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae), observaram redução significativa da praga na cultura da cebola em dois anos consecutivos, sendo mais eficiente do que quando aplicados isoladamente no controle de tripes.

Os inseticidas espinetoram e espinosade pertencem ao mesmo grupo químico das espinosinas e atuam como moduladores alostéricos de receptores nicotínicos da acetilcolina, causando hiperexcitação do sistema nervoso, descontrole de mobilidade e paralisia, levando a morte dos insetos (IRAC, 2023). Özdemir *et al.* (2020) avaliaram o efeito do inseticida espinosade sobre os nematoides *H. bacteriophora* e *S. feltiae* e relataram que o inseticida não afetou a sobrevivência dos nematoides até 48 horas, e a infectividade em lagartas de *G. mellonella*, no entanto foi observada redução significativa na reprodução de *H. bacteriophora*, enquanto *S. feltiae* não apresentou efeitos negativos na reprodução. Apesar disso, há relatos de mortalidade significativa de *S. feltiae* com 72 horas de exposição ao espinosade, no entanto, no mesmo trabalho verificou-se que, até 24 horas, não há alteração significativa na mortalidade e infectividade (De Nardo e Grewal, 2003). Epinosa-Paredes e Pupuche-Aldana (2022) observaram que os inseticidas clorantraniliprole e espinosade apresentaram baixa mortalidade de *S. diaprepesi* (SV19), *H. bacteriophora*, *H. sp* (PC9) e *H. bacteriophora* (PM10). Quanto à infectividade, os mesmos autores descreveram clorantraniliprole como potencializador da infectividade dos NEPs em lagartas de *S. frugiperda*, enquanto a espinosina não se diferenciou significativamente do tratamento controle. O uso combinado de *S. carpocapsae* com clorantraniliprole ou espinetoram apresenta maior eficiência de controle de *S. frugiperda* em 24 horas do que os inseticidas aplicados isoladamente (Viteri *et al.*, 2018).

Resultados obtidos neste trabalho referente a mortalidade de *S. braziliense* (CB06), *S. diaprepesi* (Ponto01), *S. glaseri* (CB01) e *S. rarum* (PAM95) expostos ao inseticida clorfenapir, Khan *et al.* (2021) estudando os nematoides *S. carpocapsae* e *H. indica* expostos ao inseticida, reportaram mortalidade inferior a 10% até 72 horas e inferior a 17% em avaliação com 96 horas. Em contrapartida, clorfenapir é relatado como nocivo a *S. abbasi*, ocasionando mortalidade de 36% e 85% em 24 e 72 horas

respectivamente, e os nematoides sobreviventes têm sua infectividade anulada quando inoculados sobre lagartas de *G. mellonella* (Kumar *et al.*, 2015), diferente do que Khan *et al.* (2021) observaram, quando os NEPs foram mais eficientes que a testemunha para o controle de *S. litura*.

O inseticida metomil não ocasionou efeito negativos na sobrevivência dos nematoides entomopatogênicos avaliados neste trabalho, assim como Borges *et al.* (2023) descreveram quando avaliaram a compatibilidade do inseticida metomil com *Heterorhabditis amazonenses* (MC01) e *S. carpocapsae*. No entanto, os autores verificaram baixa infectividade ao hospedeiro *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae), larva-da-farinha, após exposição ao produto, de 4% para o isolado MC01 e 0% para *S. carpocapsae*, classificando metomil como incompatível para uso em combinação com esses nematoides. Trabalhos conduzidos avaliando *Steinernema dharanaii* (Paunikar e Kulkarni, 2020), *H. indica*, *S. thermophilum* e *S. glaseri* (Ramliana e Yadav, 2009) mostraram compatibilidade de uso entre os nematoides entomopatogênicos e inseticidas inibidores de acetilcolinesterase carbamatos e organofosforados como carbaril, endosulfan, monocrotofós e clorpirifós.

Estudos de compatibilidade entre indoxacarbe e NEPs apresentam resultados variados, a depender do isolado de NEP utilizado. Na maioria dos casos, avaliações laboratoriais indicam compatibilidade de uso com o inseticida ocasionando até 20% de mortalidade dos nematoides, sendo que a combinação indoxacarbe + NEP pode revelar desde efeito aditivo até sinergia quando aplicados para controle de pragas como lagarta-rosca *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae), curuquerê-oriental *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae), borboleta-das-couves *Pieris rapae* Linnaeus (Lepidoptera: Pieridae) e traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) (Aioub *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2021; Ingole *et al.*, 2021; Amizadeh *et al.*, 2019; Fetoh *et al.*, 2009). Embora indoxacarbe, utilizando a dose recomendada pelo fabricante, tenha apresentado os maiores valores de mortalidade comparados aos outros inseticidas, Amizadeh *et al.* (2019) obtiveram resultados satisfatórios com sinergia entre indoxacarbe e NEP utilizando doses menores do inseticida, estimadas para CL₁₀ e CL₂₅ sobre *T. absoluta*. O fato de indoxacarbe ocasionar redução de movimento e até paralisia do inseto pode ter contribuído para a maior infectividade dos nematoides sobre *T. absoluta*. Efeitos positivos também foram observados por Aioub *et al.* (2021) utilizando a combinação de nematoides entomopatogênicos, *H. bacteriophora*, *S. feltiae* e *S. carpocapsae*,

com doses de indoxacarbe estimadas para CL₂₅ controle de lagartas de 3º instar de *P. rapae*, e CL₂₅ e CL₅₀ para lagartas de 4º instar da mesma espécie. No entanto, quando testaram a CL₅₀ sobre lagartas de 3º instar, os autores presenciaram efeitos antagônicos para a associação inseticida + NEP visando o controle de lagartas de 4º instar de *P. rapae*. Indoxacarbe também se mostrou compatível para uso em combinação com *Steinernema bicornatum*, possibilitando uma sobrevivência superior a 80% até 24 horas de exposição em calda inseticida, e superior a 60% até 72 horas (Ingole *et al.*, 2021).

Estudos de compatibilidade de NEPs com inseticidas como indoxacarbe, espinetoram, clorfenapir, clorantniliprole, benzoato de emamectina, flubendiamida, lufenurom, metoxifenoazida e espinosade apontam que esses inseticidas são relativamente inócuos ou pouco tóxicos aos nematoides, como observado por Khan *et al.* (2021) que registraram mortalidade de isolados de *S. carpocapsae* e *H. indica* inferior a 10% após 72 horas de exposição. Os mesmos autores ainda relataram mortalidade inferior a 20% dos NEPs após 96h de exposição aos inseticidas avaliados.

Fato é que há uma grande variação entre diferentes isolados de nematoides entomopatogênicos quanto à taxa de sobrevivência a inseticidas, tolerância a variações climáticas e virulência à insetos hospedeiros, embora muitos trabalhos apresentem resultados promissores em condições de laboratório. Após a etapa de seleção laboratorial é necessário avaliar a viabilidade e eficiência dos nematoides no controle de diferentes insetos-praga em condições de campo e em diferentes regiões, a fim de comprovar o desempenho do controlador biológico sobre diferentes populações de insetos (Sabry *et al.*, 2016; Amizadeh *et al.*, 2019; Ceconello *et al.*, 2022). No entanto, muitos isolados de nematoides entomopatogênicos mostram-se aptos para aplicação em combinação com uma gama de inseticidas químicos, pois, tratando-se de pulverização em campo, o recomendado é realizar a aplicação com o mínimo de intervalo desde o preparo da calda para garantir a eficiência dos nematoides e evitar que sejam reativados antecipadamente e aumentem seu metabolismo. Alguns ingredientes ativos também podem se degradar e decantar, o que pode inviabilizar total ou parcialmente os produtos no tanque com o passar do tempo.

Deste modo, a seleção adequada de inseticidas mais seletivos que causam redução da atividade ou paralisia de insetos hospedeiros, torna-se prática de grande

valia visando o manejo integrado de pragas utilizando nematoides entomopatogênicos e inseticidas nas culturas.

6 CONCLUSÕES

Os inseticidas metomil (1000 mL/ha), espinetoram (150 mL/ha), clorfenapir (1200 mL/ha), clorantraniliprole (200 mL/ha) e ciclaniliprole (800 mL/ha) foram compatíveis com os nematoides entomopatogênicos *S. braziliense* CB06, *S. diaprepesi* Ponto01, *S. glaseri* CB01 e *S. rarum* PAM95 nas condições em que foram testados.

O inseticida indoxacarbe (400 mL/ha) apresentou maior toxicidade para os nematoides avaliados.

O efeito dos inseticidas testados precisam ser avaliados sobre a infectividade e virulência dos NEPs para aumentar e fundamentar as afirmações de compatibilidade.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELGAWAD, M. M. M. Toxic secretions of *Photorhabdus* and their efficacy against crop insect pests. *In*: ABD-ELGAWAD, M.; ASKARY, T. H.; COUPLAND, J (Ed). **Biocontrol agents: entomopathogenic and slug parasitic nematodes**. Wallingford, UK: CABI, 2017. p. 231-260.
- ABD-ELGAWAD, M. M. M.; ASKARY, T. H.; COUPLAND, J. **Biocontrol agents: entomopathogenic and slug parasitic nematodes**. Wallingford, UK: CABI, 2017.
- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. *In*: GAUGLER, R. (Ed). **Entomopathogenic nematology**. New York: CABI. 2002. p. 1-34.
- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 28 dez. 2023.
- AIIOUB, A. A. A. *et al.* Compatibility of entomopathogenic nematodes with insecticides against the cabbage white butterfly, *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, Egypt, v. 31, p. 1-12, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s41938-021-00498-z>. Acesso em: 10 set. 2023.
- AL-KAZAFY, H. S.; METWALLYA, H. M.; ABOLMAATY, S. M. Compatibility and efficacy of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* ALL alone and in combination with some insecticides against *Tuta absoluta*. **Der Pharmacia Lettre**, v. 8, n. 13, p. 311-315, 2016. Disponível em: www.scholarsresearchlibrary.com. Acesso em: 21 jul. 2023.
- ALTIERI, M. A.; SILVA, E. M.; NICHOLLS, C. I. **O papel da biodiversidade no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 2003.
- ALUMAI, A.; GREWAL, P. S. Tank-Mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 18, p. 725–730, 2004. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583150410001724334>. Acesso em: 10 ago. 2022.
- AMIZADEH, M. *et al.* Interaction between the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* and selected chemical insecticides for management of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. **BioControl**, v. 64, p. 709–721, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-019-09973-x>. Acesso em: 15 jan. 2022.
- AN, R.; GREWAL, P. S. Molecular mechanisms of persistence of mutualistic bacteria *Photorhabdus* in the entomopathogenic nematode host. **PLoS One**, v. 5, n. 10, p. e13154, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013154>. Acesso em: 15 jan. 2023.

ANDALÓ, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO JUNIOR, A. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. **Nematology**, California, v. 8, p. 853–867, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013154>. Acesso em: 15 jan. 2023.

ARRIGONI, E. B. *et al.* Aplicação de *Neoplectana carpocapsae* Weiser, 1955 em condições de campo para o controle de *Migdolus* spp. (Coleoptera: Cerambycidae). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 8, p. 181–189, 1986.

ASKARY, T. H.; AHMAD, M. J. Entomopathogenic Nematodes: Mass Production, Formulation and Application. *In*: ABD-ELGAWAD, M.; ASKARY, T. H.; COUPLAND, J (Ed). **Biocontrol agents: entomopathogenic and slug parasitic nematodes**. Wallingford, UK: CABI, 2017. p. 261-286.

BANU, J. G., CANNAYANE, I.; MEENA, K. S. Entomopathogenic nematodes: general biology and behaviour. *In*: ABD-ELGAWAD, M.; ASKARY, T. H.; COUPLAND, J (Ed). **Biocontrol agents: entomopathogenic and slug parasitic nematodes**. Wallingford, UK: CABI, 2017. p. 231-260.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal, SP: FCAV/UNESP, 2015.

BIRD, A. F.; AKHURST, R. J. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. **International Journal for Parasitology**, Adelaide, v. 13, n. 6, p. 599-606, 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(83\)80032-0](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(83)80032-0). Acesso em: 10 jul. 2022.

BOEMARE, N. O. E. L. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. *In*: GAUGLER, R. (Ed). **Entomopathogenic nematology**. Wallingford UK: CABI publishing, 2002. p. 35-56.

BOEMARE, N. E.; AKHURST, R. J.; MOURANT, R. G. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**. v. 43, p. 249–255, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00207713-43-2-249>. Acesso em: 21 jan. 2023.

BOLZAN, A. **Monitoramento e caracterização da resistência de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas diamidas no Brasil**. 2019. Tese (Doutorado em Ciências/Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

BORGES, J. V. O. *et al.* Virulence of Entomopathogenic Nematodes against Neotropical Brown Stink Bug (*Euschistus heros* [Fabricius], Hemiptera, Pentatomidae) and Compatibility with Phytosanitary Products under Laboratory Conditions. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 25, n. 5, p. 1209-1220, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22034/jast.25.5.1209>. Acesso em: 20 set. 2023.

CAMPBELL, J. F.; GAUGLER, R. Nictation behaviour and its ecological implications in the host Search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Behaviour**, v. 126, p. 155-169, 1993. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/4535132>. Acesso em: 10 mai. 2022.

CECCONELLO, D. M., *et al.* *Heterorhabditis amazonensis* to control *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) in laboratory and field conditions. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 2, p. 292-298, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00936-5>. Acesso em: 11 mai. 2023.

CHASTON, J. M. *et al.* The entomopathogenic bacterial endosymbionts *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: convergent lifestyles from divergent genomes. **PloS one**, v. 6, n. 11, p. e27909, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027909>. Acesso em: 16 mai. 2022.

CHAVEZ, E. C. *et al.* Current perspective of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its developed resistance to insecticides. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 25, n. 2, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.4089>. Acesso em: 10 jan. 2023.

CLOYD, R. A.; BETHKE, J. A. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. **Pest Management Science**, v. 67, n. 1, p. 3-9, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.2015>. Acesso em: 10 jan. 2023.

CORDOVA, D. *et al.* Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 84, n. 3, p. 196-214, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.07.005>. Acesso em: 25 mai. 2022.

DE BRIDA, A. L. *et al.* Virulence of entomopathogenic nematode to pupae and adults of *Drosophila suzukii* in laboratory. **Revista Científica Rural**, Bagé-RS, v. 21, p. 126-138, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.30945/rcr-v21i2.2725>. Acesso em: 22 mai. 2022.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. Systematic position and phylogeny. *In*: Lee, D. L. (Ed.) **The Biology of Nematodes**. London: CRC Press, 2002. p. 1–30.

DE NARDO, E. A. B.; GREWAL, P. S. Compatibility of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) with pesticides and plant growth regulators used in glasshouse plant production. **Biocontrol Science and Technology**, v. 13, n. 4, p. 441-448, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/0958315031000124495>. Acesso em: 22 mai. 2022.

DOLINSKI, C. Developing a research and extension program for control of the guava weevil in Brazil using entomopathogenic nematodes. **Journal of Nematology**, Piracicaba, v. 38, 2006.

DREVES, A. J.; LEE, J. Entomopathogenic nematodes. **Pacific Northwest Pest Management Handbook**. Oregon State University, 2015. Disponível em:

<https://pnwhandbooks.org/insect/ipm/entomopathogenic-nematodes>. Acesso em: 21 jun. 2023.

EHLERS, R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. Mass production. *In*: GREWAL, P. S.; EHLERS, R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Ed). **Nematodes as Biocontrol Agents**. Wallingford, UK: CABI International, 2005, p. 65–78.

ESPINOZA PAREDES, L. E.; PUPUCHE ALDANA, M. **Efecto del Thiodicarb, Spinosad y Chlorantraniliprole en la mortalidad e infectividad de nematodos entomopatógenos (J3) de la familia Steinernematidae y Heterorhabditidae, en larvas de *Spodoptera frugiperda*, en laboratorio**. 2022. Tesis (Licenciada en Biología – Microbiología y Parasitología) – Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo / Facultad de Ciencias Biológicas, Lambayeque, Perú, 2022.

USDA. **United States Department of Agriculture**. 2023. Disponível em: <http://www.usda.gov>. Acesso em: 22 ago. 2023.

FETOH, B. E. S. A.; KHALED, A. S.; EL-NAGAR, T. F. Combined effect of entomopathogenic nematodes and biopesticides to control the greasy cut worm, *Agrotis ipsilion* (Hufn.) in the strawberry fields. **Egyptian Academy Journal of Biological Science. A, Entomology**, v. 2, n. 1, p. 227–236, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2009.15718>. Acesso em: 12 jan. 2023.

FÜHR, F. M. **Caracterização da resistência de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorantraniliprole e avaliação de mistura com *Bacillus thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae) como estratégia de manejo da resistência**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências/Entomologia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2023.

GOODRICH-BLAIR, H. AND CLARKE, D.J. Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: two roads to the same destination. **Molecular Microbiology**, v. 64, p. 260–268, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05671.x>. Acesso em: 12 jan. 2023.

GREWAL, P. S. Formulation and application technology. *In*: GAUGLER, R. (ed) **Entomopathogenic Nematology**, CAB International, Wallingford, UK, 2002. p. 265–287.

GREWAL, P. S., EHLERS, R.-U., SHAPIRO-ILAN, D. I. (Ed). **Nematodes as Biological Control Agents**. Wallingford UK: CABI, 2005a.

GREWAL, P. S.; KOPPENHÖFER A. M.; CHOO, H. Y. Lawn, turfgrass and pasture applications. *In*: GREWAL, P. S.; EHLERS R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Ed). **Nematodes as biocontrol agents**. Wallingford: CABI Publishing, 2005b. p. 115–146.

GRIFFIN, C. T.; BOEMARE, N. E.; LEWIS, E. E. Biology and behaviour. *In*: GREWAL, P. S.; EHLERS R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Ed). **Nematodes as biocontrol agents**. Wallingford UK: Cabi Publishing, 2005. p. 47–64.

IRAC. **Insecticide Resistance Action Committee – IRAC**. Disponível em: <https://www.irac-online.org>. Acesso em: 21 ago. 2023.

INGOLE, D. B. *et al.* Compatibility potential of *Steinernema bicornatum* with insecticides in laboratory condition. **The Pharma Innovation Journal**, v. 10, 2021. Disponível em: <http://www.thepharmajournal.com/>. Acesso em: 12 jan. 2023.

KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 181–206, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001145>. Acesso em: 12 jan. 2022.

KHAN, R. R. *et al.* Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and the biocide, spinosad for mitigation of the armyworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, p. 1-6, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0063-y>. Acesso em: 12 jan. 2023.

KHAN, R. R. *et al.* Additive interactions of some reduced-risk biocides and two entomopathogenic nematodes suggest implications for integrated control of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1268, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79725-w>. Acesso em: 12 jan. 2023.

KOPPENHÖFER, A. M.; FUZY, E. M. Effect of the anthranilic diamide insecticide, chlorantraniliprole, on *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) efficacy against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). **BioControl**, v. 45, p. 93–102, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.014>. Acesso em: 12 jan. 2023.

KUMAR, H. K. *et al.* Effect of Insecticides on the Survival and Infectivity of *Steinernema abbasi* (CISH EPN-1). **Indian Journal of Nematology**, v. 45, n. 1, p. 48-51, 2015. Disponível em: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijn&volume=45&issue=1&article=008>. Acesso em: 12 jan. 2023.

LACEY, L. A. *et al.* Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? **Biological Control**, v. 21, p. 230–248, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.0938>. Acesso em: 13 jan. 2023.

LACEY, L. A. *et al.* Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p.1-41, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009>. Acesso em: 13 jan. 2023.

LALITHA, K. *et al.* Effect of entomopathogenic nematode of *Heterorhabditis indica* infection on immune and antioxidant system in lepidopteran pest *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Parasitic Diseases**, v. 42, p. 204–211, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12639-018-0983-1>. Acesso em: 13 jan. 2023.

LAZNIK, Z.; VIDRIH, M.; TRDAN, S. The effects of different fungicides on the viability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* (Filipjev), *S. carpocapsae*

Weiser, and *Heterorhabditis downesi* Stock, Griffin e Burnell (Nematoda: Rhabditida) under laboratory conditions. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Toronto, v. 72, n. 1, p. 62, 2012. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1807/45951>. Acesso em: 13 jan. 2023.

LAZNIK Z, TRDAN, S. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. **Pest Management Science**, v. 70, n. 5, p. 784-789, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.3614>. Acesso em: 14 jan. 2022.

LAZNIK, Z., TRDAN, S. The influence of herbicides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae). **International Journal of Pest Management**, v. 63, n. 2, p. 105-111, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09670874.2016.1227882>. Acesso em: 14 jan. 2022.

LEWIS, E. Behavioural ecology. In: GAUGLER, R. (ed.) **Entomopathogenic Nematology**. CAB International, Wallingford, UK, 2002. p. 205-223.

MACHADO, L. A. Criações de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In: CRUZ, B. P. B. (Coord.). **Pragas das culturas e controle biológico**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.8-35.

MURFIN, K. E., *et al.* *Xenorhabdus bovienii* strain diversity impacts coevolution and symbiotic maintenance with *Steinernema* spp. nematode hosts. **MBio**, v. 6, n. 3, p. e00076-15, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mbio.00076-15>. Acesso em: 14 jan. 2022.

NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; GARCIA, M. S.; BARBOSA, C. R. C. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Crop Protection**, v. 29, p. 545–549, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.12.012>. Acesso em: 14 jan. 2022.

NGUYEN, K. B., *et al.* *Steinernema brazilense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Mato Grosso, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, p. 8–20, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.09.004>. Acesso em: 13 jan. 2023.

OKUMA, D. M. *et al.* Large-Scale Monitoring of the Frequency of Ryanodine Receptor Target-Site Mutations Conferring Diamide Resistance in Brazilian Field Populations of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 13, n. 7, p. 626, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects13070626>. Acesso em: 16 jul. 2023.

ÖZDEMİR, E. *et al.* Compatibility of entomopathogenic nematodes with pesticides registered in vegetable crops under laboratory conditions. **Journal of plant diseases and protection**, v. 127, p. 529-535, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00337-7>. Acesso em: 16 jul. 2023.

PAUNIKAR, S.; KULKARNI, N. Tolerance and efficacy of new species of entomopathogenic nematode, *Steinernema dharanii* (nematoda: rhabditida: steinernematidae) to some common and modern insecticides. **International Journal of Current Research in Life Sciences**, v. 9, n. 7, p. 3301-3310, 2020. Disponível em: <http://www.ijcrls.com>. Acesso em: 13 jul. 2022.

POINAR, G. O. Description and biology of a new insect parasitic Rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* N. Gen., N. Sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae N. Fam.). **Nematologica** v. 21, p. 463–470, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1163/187529275X00239>. Acesso em: 14 jul. 2022.

POINAR, G. O. Origins and phylogenetic relationships of the entomophilic rhabditids, *Heterorhabditis* and *Steinernema*. **Fundamental and Applied Nematology** v. 16, p. 333–338, 1993. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19932337782>. Acesso em: 13 jul. 2023.

RAKUBU, I. L.; KATUMANYANE, A.; HURLEY, B. P. Host-foraging strategies of five local entomopathogenic nematode species in South Africa. **Crop Protection**. v. 176, p. 106525, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106525>. Acesso em: 1 fev. 2024.

RAMLIANA, L.; YADAV, A. K. Compatibility of chemical pesticides with locally isolated entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Meghalaya, Northeast India. **Current trends in parasitology**, New Delhi: Panima Publishing Corporation, p. 261-267, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/274192910_Compatibility_of_chemical_pesticides_with_locally_isolated_entomopathogenic_nematodes_Steinernematidae_and_Heterorhabditidae_from_Meghalaya_North-East_India. Acesso em: 13 set. 2023.

RAMOS, D.; VIAMONTE, P.; VALDÉS, N, Y. Producción y calidad de *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar) Cepa CH1 en el CREE Ciro Redondo, Ciego de Ávila, Cuba. **Granma Ciencia**, v. 18, n. 2, 2014. Disponível em: http://www.grciencia.granma.inf.cu/vol%2018/2/2014_18_n2_a4.pdf. Acesso em 21 jul. 2023.

SABINO, P. H. S. *et al.* Combined Application of Entomopathogenic Nematodes and Insecticides in the Control of Leaf-Miner *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) on Tomato. **Neotrop Entomol.** v. 48, p. 314–322, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13744-018-0643-2>. Acesso em: 21 jul. 2023.

SHAPIRO-ILAN, D. I. *et al.* Application technology and environmental consideration for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**. v. 38, p. 124–133, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.09.005>. Acesso em: 20 jul. 2022.

SHAPIRO-ILAN, D. I., HAN, R.; DOLINKSI, C. Entomopathogenic nematode production and application technology. **Journal of Nematology**. v. 44, p. 206–217, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3578468/>. Acesso em: 20 jul. 2022.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; HAZIR, S.; GLAZER, I. Basic and applied research: entomopathogenic nematodes. *In: Microbial control of insect and mite pests*. Academic Press, 2017. p. 91-105.

SILVA, M. S. O. *et al.* An assessment of *Steinernema rarum* as a biocontrol agent in sugarcane with focus on *Sphenophorus levis*, host-finding ability, compatibility with vinasse and field efficacy. **Agriculture**, v. 11, n. 6, p. 500, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agriculture11060500>. Acesso em: 20 jul. 2022.

SPIRIDONOV, S. E. Entomopathogenic nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae: morphology and taxonomy. *In: ABD-ELGAWAD, M. M. M.; ASKARY, T. H.; COUPLAND, J. (Ed). Biocontrol agents: entomopathogenic and slug parasitic nematodes*. Wallingford UK: CABI International, 2017. p. 45–62.

SPIRIDONOV, S. E. Auxiliary excretory system of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida, Heterorhabditidae). **Zoologicheskii Zhurnal**, v. 60, p. 1887–1888, 1981. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19820893052>. Acesso em: 20 jul. 2023.

STOCK, S. P. Insect-parasitic nematodes: from lab curiosities to model organisms. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 89, p. 57–66, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.02.011>. Acesso em: 20 jul. 2022.

STOCK, S. P.; HUNT, D. J. Morphology and systematics of nematodes used in biocontrol. *In: GREWAL, P. S.; EHLERS, R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. Nematodes as biocontrol agents*. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2005. p. 3-43. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9780851990170.0003>. Acesso em: 20 jan. 2022.

TORR, P.; HERITAGE, S.; WILSON, M. J. Vibrations as a novel signal for host location by parasitic nematodes. **International Journal for Parasitology**, Aberdeen, UK. v. 34, n. 9, p. 997-999, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.05.003>. Acesso em: 20 jan. 2022.

ULU, T. C.; SADIC, B.; SUSURLUK, I. A. Effects of different pesticides on virulence and mortality of some entomopathogenic nematodes. **Invertebrate Survival Journal**, v. 13, n. 1, p. 111-115, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.25431/1824-307X/isj.v13i1.111-115>. Acesso em: 20 mar. 2022.

VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOWS Jr, T. S. **Biological control**. New York: Chapman e Hall, 1996.

VITERI, D. M.; LINARES, A. M.; FLORES, L. Use of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in combination with low-toxicity insecticides to control fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Florida Entomologist**, v. 101, n. 2, p. 327-329, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1653/024.101.0228>. Acesso em: 16 mar. 2022.

VOSS, M. *et al.* **Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização de nematoides entomopatogênicos**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009.

WAKIL, W. *et al.* Efficacy of entomopathogenic fungi, nematodes and spinetoram combinations for integrated management of *Thrips tabaci*. **Pest Management Science**. v. 79, n. 9, p. 3227-3238, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.7503>. Acesso em: 12 ago. 2023.

WARNOCK, N. D. *et al.* Highly divergent neuropeptide - non-coding RNA regulatory networks underpin variant host-finding behaviours in *Steinernema* species infective juveniles. **International Journal for Parasitology**, v. 51, n. 9, p. 693-698, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.01.007>. Acesso em: 13 jul. 2023.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, Washington, v. 66, n.1709, p. 302-303, 1927. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.66.1709.302.b>. Acesso em: 12 jul. 2023.

WOCHNER, D. **Análise de custo-benefício do controle biológico de pragas na cultura da soja**. 2020. Dissertação (Mestrado em Agronegócios), Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2020.

WOOD, W. B. (Ed). The nematode *Caenorhabditis elegans*. **Cold Spring Harbor**, New York, USA, v. 1, p. 667, 1988.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. Steinernematid and Heterorhabditid nematodes: A Handbook of Biology and Techniques. **Southern Cooperative Series Bulletin. Agricultural Experiment Station**. Fayetteville, Arkansas, v. 331, p. 1–17, 1988.

ZHANG, X.; LI, L.; KESNER, L.; ROBERT, C. A. M. Chemical host-seeking cues of entomopathogenic nematodes. **Current Opinion in Insect Science**, v. 44, p. 72-81, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.03.011>. Acesso em: 10 ago. 2022.