

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**POTENCIAL DE *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* E SEU
SIMBIONTE PARA O CONTROLE DA COCHONILHA-DA-RAIZ DO
CAFEEIRO**

Discente: Christian Freire Cardoso

Orientadora: Profa. Dra. Nilza Maria Martinelli
Coorientadora: Dra. Ivana Lemos de Souza

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de
Jaboticabal, para graduação em ENGENHARIA
AGRONÔMICA.

Jaboticabal - SP
2º Semestre de 2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**POTENCIAL DE *HETERORHABDITIS BACTERIOPHORA* E SEU
SIMBIONTE PARA O CONTROLE DA COCHONILHA-DA-RAIZ DO
CAFEEIRO**

Christian Freire Cardoso
Engenharia Agrônômica

Dr.^a Nilza Maria Martinelli
Orientadora

Jaboticabal - SP
2º Semestre de 2022

C268p Cardoso, Christian Freire

Potencial de heterorhabditis bacteriophora e seu simbiote para o controle da
cochonilha-da-raiz do cafeeiro / Christian Freire Cardoso. -- Jaboticabal, 2023

40 p. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Agrônoma) -
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal

Orientadora: Nilza Maria Martinelli

Coorientadora: Ivana Lemos de Souza

1. Cochonilhas (Inseto). 2. Nematoides entomopatogênicos. 3. Fitossanidade. 4. Café.

I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DEPARTAMENTO: Ciências da Produção Agrícola

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO
TRABALHO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICATÍTULO: Potencial de *Heterorhabdus bacteriophora* e seu simbionte para o controle da cochonilha-da-raiz do caféiro

ACADÊMICO: Christian Freire Cardoso

CURSO: Engenharia Agroômica

ORIENTADOR (ES): Dra. Nilza Maria Martinelli
Dra. Ivana Lettos Souza

Aprovado e corrigido de acordo com as sugestões da Banca Examinadora

BANCA EXAMINADORA:

	(Nome)
Presidente	Nilza Maria Martinelli
Membro	Erica Ayumi Taguti
Membro	Ciro Pedro Guidotti Pinto

(Assinatura)

Jaboticabal 05 / 01 / 2023

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 19 / 01 / 2023 "Ad. e finalização"

Chefe do Departamento
Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho
Chefe do Depto. de Ciências da Produção Agrícola
FCAV/UNESP

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo.”

Fernando Pessoa.

DEDICATÓRIA

DEUS por iluminar meu caminho e minha mente

FAMILIA por sempre apoiarem meus sonhos

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas oportunidades concedidas ao longo da minha trajetória, por estar sempre ao meu lado me fortalecendo e protegendo em todos os momentos, possibilitando a realização dos sonhos da minha vida.

À minha mãe Taciane Aparecida Borges Freire e ao Rogério Polo de Souza, e ao meu pai Marcelo de Souza Cardoso, meus avós Dante Ferreira Cardoso, Luiz dos Reis Freire, Sirene de Souza Cardoso e Maria das Graças Borges Freire e meus tios, Adriano Borges Freire e Melissa de Souza Cardoso por todo apoio que sempre tem me concedido na busca da realização dos meus sonhos.

Ao meu padrinho da ciência Me. Dante de Souza Cardoso por sempre incentivar e apoiar meus sonhos, me ensinando a ser um grande homem, sendo companheiro, amigo, tio e padrinho.

À Carolina Jorge Abreu Pereira, que transformou a minha vida, agradeço pela paciência e compreensão e principalmente pela parceria em momentos inesquecíveis.

À Dr^a. Nilza Maria Martinelli pela orientação, acolhimento e confiança, A Dr^a. Ivana Lemos de Souza por todo apoio na co-orientação durante o trabalho de graduação, pelos ensinamentos e atenção durante o todo curso.

Ao amigo Dr. Hagabo Honorato de Paulo pela amizade, e os bons momentos vivenciados nas pesquisas de campo, e pela orientação no compartilhamento dos conhecimentos durante a realização do estágio no setor de fitossanidade.

Ao Dr. Elder Simões de Paula Batista pela amizade e pelos treinamentos adquiridos sobre os Nematoides Entomopatogênicos e Estatística aplicada ao controle biológico; e a Dr^a Ana Lúcia Benfatti Gonzalez Peronti pela identificação da cochonilha da raiz do cafeeiro, e a todos os conhecimentos transmitidos sobre as espécies de cochonilhas associadas as plantas de café.

Agradeço ao Me. Fabio Silber Schmidt da empresa Biocontrole, município de Indaiatuba, estado de São Paulo, pela doação dos Nematoides entomopatogênicos e das bactérias utilizadas para condução da pesquisa.

À UNESP/FCAV Câmpus de Jaboticabal juntamente aos professores do curso de Engenharia Agrônômica, pela amizade e pelos conhecimentos transmitidos durante as disciplinas cursadas.

À todos colegas integrantes do Laboratório de Biossistemática de Hemiptera (LABHEM), e do Laboratório do Grupo de Estratégias e Manejo de Ácaros Neotropicais (GEMAN) do Departamento de Ciências da Produção Agrícola no Setor Fitossanidade.

À todos os colegas e amigos da graduação e pós-graduação da UNESP/FCAV, em especial para Igor Tersigni Da Costa Mello, José Carlos Gonçalves de Oliveira e Leonardo Henrique Cabrera que direta e indiretamente me apoiaram durante este período, e me proporcionaram ocasiões memoráveis.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
4. LITERATURA	15
4.1. Cafeicultura no Brasil	15
4.2. Principais pragas do cafeeiro	16
4.3. Nematoides Entomopatogênicos no Controle de Cochonilhas	18
5. Objetivo Geral.....	21
5.1. Objetivos Específicos	21
6. MATERIAL E MÉTODOS	22
6.1. Coleta, identificação e criação da cochonilha-da-raiz.	22
6.2. Obtenção dos Nematoides e sua Bactéria Simbionte.	23
6.2. Bioensaios	24
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
8. CONCLUSÃO	33
9. LITERATURA CITADA	34

RESUMO

O Brasil é responsável pela maior produção, consumo e exportação de café do mundo. O café orgânico é o segmento que mais cresce dentro do setor de cafés especiais no Brasil, sendo os EUA e a Europa os principais importadores. Contudo, um dos fatores limitantes ao aumento da produtividade, aliada a qualidade do café, é a incidência de pragas. Dentre estas, a cochonilha-da-raiz do cafeeiro, (Hemíptera: Pseudococcidae) *Dysmicoccus texensis* (TINSLEY, 1900) tem sido registrada com frequência nos estados de Minas Gerais e São Paulo. Nematoides entomopatogênicos especialmente as espécies *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) e sua bactéria simbiote (*Photorhabdus* sp.) têm se destacado como possíveis agentes de controle destes insetos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade de *Heterorhabditis Bacteriophora* Poinar, 1976, e *Photorhabdus* sp. no controle de *Dysmicoccus texensis* em condições de laboratório. As cochonilhas foram submetidas a oito tratamentos, com sete repetições cada, sendo: (T1) 40 JI/ml; (T2) 80 JI/ml; (T3) 160 JI/ml; e (T4) 1×10^9 ; (T5) 1×10^8 ; (T6) 1×10^6 de bactérias; (T7) produto comercial Actara e testemunha (água destilada);. Foram colocadas 10 fêmeas/repetição de cochonilhas, em placa de Petri de 10 cm, totalizando 70 indivíduos/tratamento. Aplicou-se 2 ml de solução/repetição em cada tratamento, com auxílio de uma pipeta volumétrica. Após aplicação, as placas foram identificadas e mantidas em condições controladas ($25 \pm 1^\circ \text{C}$, U $70 \pm 10\%$, sob luz ausente). A avaliação de mortalidade foi realizada 72 horas após à aplicação dos tratamentos com auxílio de um microscópio estereoscópio. A análise de variância foi realizada pelo teste F, seguido pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk e a comparação das médias pelo teste de Tukey. Obteve-se 0% de mortalidade na testemunha, (T1) 41,4 %, (T2) 44,43 % (T3), 47,1 % com *H. bacteriophora*, e 8,6% (T4), 18,6% (T5), 21,4 % (T6) e 100% com o produto químico (T7). Conclui-se que, o nematoide e a bactéria testada apresentam potencial de controle biológico da cochonilha da raiz do cafeeiro.

Palavras-chave: Cochonilhas (Inseto), Nematoides entomopatogênicos, , Fitossanidade, Café.

ABSTRACT

Brazil is responsible for the largest production, consumption and exportation of coffee in the world. Organic coffee is the fastest growing segment within the special coffee sector in Brazil, being the US and Europe the main importers. However, one of the productivity limiting factors, combined to coffee quality, is the incidence of pests. Among these, the coffee root mealybug (Hemíptera: Pseudococcidae) *Dysmicoccus texensis* (TINSLEY, 1900) has been frequently reported in the states of Minas Gerais and São Paulo. Entomopathogenic nematodes, especially from the gender *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and its symbiont bacteria (*Photorhabdus* sp.) have been considered as possible control agents against mealbugs. The objective of this work was to evaluate the pathogenicity of *H. bacteriophora* Poinar, 1976, and *Photorhabdus* sp. for controlling *D. texensis* under laboratory conditions. The mealybugs were subjected to eight treatments, with seven repetitions each, being: (T1) 40 JI/ml; (T2) 80 JI/ml; (T3) 160 JI/ml; and (T4) 1x 10⁹; (T5) 1x 10⁸; (T6) 1x 10⁶ bacteria; (T7) Actara commercial product and control (distilled water);. A total of 10 female/repeat mealybugs were inserted into a 10 cm Petri dish, totaling 70 individuals/treatment. A 2 ml solution/repeat was applied in each treatment, with the help of a volumetric pipette. After application, the plates were identified and kept under controlled conditions (25 ± 1° C, U 70 ± 10%, under absent light). Mortality assessments were performed and 72 hours after the application of treatments with the aid of a stereomicroscope. The variance analysis was performed by the F test, followed by the Shapiro-Wilk normality test and the comparison of means by the Tukey test. Obtained 0% mortality in the control, (T1) 41.4%, (T2) 44.43% (T3), 47.1% with *H. bacteriophora*, and 8.6% (T4), 18.6% (T5), 21.4% (T6) and 100% with the chemical product (T7). We concluded that the nematode and the bacteria tested have potential biological control of the coffee root mealybug.

Key words: Cochineal (insect), Entomopathogenic nematodes , Phytosanitary, Coffee.

1. INTRODUÇÃO

Os cafés especiais, os quais têm qualidade superior de aroma e sabor, ou algum tipo de certificado de práticas sustentáveis, corresponderam na safra de 2021 a 7,669 milhões de sacas exportadas, totalizando a 19% do total gerado com a exportação do produto. O preço médio da saca é de US\$ 207,53, correspondendo a 25,5% do total de cafés exportados. Estados Unidos, Alemanha, Bélgica, Itália, Japão, Reino Unido e Suécia estão entre os principais países importadores dos cafés especiais do Brasil (ABIC, 2021).

A demanda do mercado interno e externo por um café de qualidade impulsionou os produtores a buscarem novas formas de produção. Nesse sentido, diferentes estratégias de manejo, como cultivo orgânico e agroflorestal, têm sido adotadas. O valor estimado de venda do café especial tem variado entre 50 - 4000% acima do café comum, estando este valor agregado à qualidade da bebida, ao sistema de produção e ao processamento, e a obtenção das certificações e premiações (BSCA, 2017; ABIC, 2021).

O setor de café orgânico é o segmento que mais cresce dentro do setor de cafés especiais, mercado que movimenta anualmente US\$ 18 bilhões e a expectativa é que haja aumento na produção e na demanda (LOPES et al., 2014). No entanto, a produção orgânica de café enfrenta algumas limitações para o controle fitossanitário de pragas devido às restrições do uso de substâncias químicas sintéticas para controle de insetos conforme a Lei 10.831, de 23 de dezembro de 2003 (CAIXETA; PEDINI, 2002; MAPA, 2003).

Entre as espécies de cochonilhas pragas de maior ocorrência na raiz do café, nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, destacam-se as pertencentes ao gênero *Dysmicoccus* sp. (Pseudococcidae), (Granara De Willink, 2009; FORNAZIER et al., 2017). *Dysmicoccus texensis* (Hemíptera: Pseudococcidae) (TINSLEY, 1900) tem sido a cochonilha da raiz mais frequente nas regiões cafeeiras do Norte e do Sul do estado de São Paulo, e Sul de Minas Gerais. Esta espécie vive nas raízes, formando estruturas em formato de galhas conhecidas como “pipocas” devido à instalação da colônia no sistema radicular da planta, associada de modo simbiote a fungos do gênero *Phlebotus* sp. (Boletales), o qual impede a absorção de água e nutrientes, provocando amarelecimento e queda das folhas, o que leva a planta à morte (SANTA-CECÍLIA et al., 2000; SOUZA et al., 2007, ALVES, 2009).

O uso de medidas paliativas de controle torna-se difícil em função dos sintomas nas plantas se evidenciarem após o sistema radicular já ter sido afetado, além de sua localização no subsolo dificultar a ação de alguns produtos fitossanitários. Outra restrição está no sistema de produção orgânico, onde não se pode utilizar o único produto químico neonicotinoide (Tiametoxan) conhecidos pela sua atividade sistêmica sendo aplicados via solo ou através de pulverizações na parte aérea no cafeeiro sendo um grande problema, uma vez que o inseticida tende a subir pela parte superior da planta por se locomover em maior parte no xilema (NAUEN et al., 1999).

As exigências crescentes do mercado externo por cafés certificados com formas de produção sustentável conduzem à minimização do uso de agrotóxicos

com a utilização das técnicas de manejo integrado de pragas, preconizando medidas de controle alternativas. Deste modo, os inimigos naturais presentes no solo e associados podem ser uma alternativa ao controle químico de *D. texensis*, como, por exemplo, os nematoides entomopatogênicos. (PAULO, 2021)

Existem diversos tipos de controle biológico com o uso de agente entomopatogênicos, tais como os predadores e parasitoides que são hábeis em localizar suas presas em lugares que o controle químico não costuma alcançar (DESNEUX, DECOURTYE e DELPUECH, 2007).

O uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae para o controle destes insetos-praga do solo tem potencial em programas de Manejo Integrado de Pragas, pois o ambiente ocupado pelos insetos no solo é o mesmo ao exigido pelos nematoides (GREWAL et al., 2001; LEWIS et al., 2006). GREWAL et al. (2001) relataram a promissora possibilidade de utilização de NEPs no Brasil e em outros países da América do Sul. Estudos com espécies de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sp. comprovaram mais de 70% de mortalidade de cochonilhas (ALVES, et al. 2009). Testes em laboratório com quatro espécies de nematoides, demonstraram que os isolados do nematoide *Steinernema carpocapsae* (Steinernematidae) causaram mortalidade dos insetos alvos (ANDALO et al. 2004), indicando o potencial para uso futuro no controle biológico aplicado. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o nematoide entomopatogênicos *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976, (Heterorhabditidae) e a sua bactéria simbiote (*Photorhabdus* sp.) no controle da cochonilha-da-raiz do cafeeiro (*Dysmicoccus texensis*) em condições de laboratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cafeicultura no Brasil

O café (*Coffea* spp.) pertence à família Rubiaceae, onde se destacam as espécies de *Coffea arabica* L., conhecida como café arábica e as espécies de *C. canephora* Pierre & Froehmer, popularmente chamada como café Conilon ou Robusta (PRADO & NASCIMENTO, 2003). Existem diversas cultivares que estão disponíveis para o cafeicultor, inclusive geneticamente melhoradas. As novas variedades apresentam características agronômicas desejáveis, como resistentes a uma ou mais pragas, permitindo um menor custo com insumos para o controle. Dentre as inúmeras cultivares, pode-se destacar: Mundo Novo, Catuaí Amarelo e Vermelho, Catucaí Amarelo e Vermelho, Rubi, Icatu, Topázio, Obatã, IPR 100, Araras, Siriema entre outras (EMBRAPA CAFÉ, 2022).

Dentre os principais estados produtores destacam-se Minas Gerais, maior estado produtor de café, ficando em primeiro lugar com 992,41 mil hectares, que correspondem a aproximadamente 54% da área em produção no Brasil e o Espírito Santo, com 400,44 mil hectares que equivalem a 22%, como segundo maior produtor. Na sequência vêm São Paulo, com 198,18 mil hectares (11%); Bahia, em quarto lugar, com 101,46 mil hectares (6%); Rondônia, com 63,57 mil hectares (3%); e, em sexto colocado, o Paraná, com 33,25 mil hectares (2%) o restante dos estados completam a área total produzida em 2021 de café arábica e conilon (Embrapa Café, 2022).

O café é um produto gerador de renda para centenas de municípios brasileiros, e o expressivo desempenhos da exportação e do consumo interno implicam na sustentabilidade econômica do produtor e de sua atividade. Além disso, a cafeicultura

é umas principais atividades geradoras de postos de trabalho na agropecuária nacional, contabilizando em torno de 8 milhões de empregos (MAPA, 2019).

Atualmente o café brasileiro é exportado para 122 países, sendo os Estados Unidos o maior importador com 7,781 milhões de sacas correspondendo a 19,3% dos embarques brasileiros, em seguida com 14,4% vem a Alemanha com 6,539 milhões de sacas. O café do Brasil é o mais consumido do mundo, a produção da última safra chegou a 40,4 milhões de sacas, o que gerou US\$ 6,2 bilhões de receita (ABIC, 2021).

No entanto, o cafeeiro enfrenta diversos problemas com as pragas que interfere no desenvolvimento e na produtividade. Contudo, as exigências crescentes dos consumidores nacionais e internacionais por cafés certificados com produção sustentável conduzem a mudanças nos sistemas de manejo, como à minimização ou eliminação do uso de inseticidas químicos sintéticos na utilização das técnicas de manejo integrado de pragas.

O que difere o sistema de manejo convencional do orgânico no cafeeiro é a restrição no uso de agrotóxicos e fertilizantes químicos sintéticos. Basicamente, no sistema convencional pode-se utilizar todos os produtos disponíveis com registro para a cultura para manejo nutricional e fitossanitário, já no sistema orgânico tem restrição, necessita-se de produtos específicos liberados pela legislação Lei 10.831.

2.2. Principais pragas do cafeeiro

Entre os principais insetos-praga que acometem a cultura do café destaca-se: o bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* Guérin-Ménéville, 1842 (Lepidoptera: Lyonetiidae), a broca-do-café *Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867 (Coleoptera: Scolytidae), as cigarras (Hemiptera: Cicadidae) (GALLO et al., 2002), e as cochonilhas

(Hemiptera: Coccoomorpha) que se alimentam nas raízes, caule, rosetas, folhas, flores e frutos (REIS et al., 2010; FORNAZIER, 2016).

As cochonilhas podem causar dano direto, através da sucção da seiva, principalmente no floema e, indiretos, através da inoculação de substâncias tóxicas, transmissão de doenças, além de atrair formigas e propiciar o desenvolvimento da fumagina devido à grande quantidade de ‘*honeydew*’ produzido por algumas espécies (MCKENZIE, 1967; VRANJIC, 1997; MILLER e DAVIDSON, 2005; GRAZIA et al., 2012).

No Brasil, 41 espécies de cochonilhas foram associadas ao café arabica distribuídas em 6 famílias de Coccoomorpha. Dentre as espécies de cochonilhas pragas de maior ocorrência no café da região Sudeste destaca-se: *Coccus* spp. (Coccidae) sobre folhas e ramos novos (GRANARA DE WILLINK et al., 2010), *Planococcus* spp. (Pseudococcidae) associadas aos ramos, folhas, flores e frutos (Santa-Cecília, Souza, 2014) e *Dysmicoccus* spp. (Pseudococcidae) com predominância nas raízes (GRANARA DE WILLINK, 2009; FORNAZIER et al., 2017). O gênero *Dysmicoccus* sp., de origem Neotropical, inclui 139 espécies. Destas, oito foram associadas à *C. arabica* no mundo, sendo quatro registradas no Brasil, com destaque para ocorrência de *D. texensis*, relatadas em associação com as raízes do café (SILVA et al., 1968; FORNAZIER et al., 2017; PAULO, 2021).

Dysmicoccus texensis ocorre preferencialmente em áreas de maior altitude e clima ameno, especialmente após o replantio ou renovação das lavouras (Fatobene, 2010). Esta espécie vive nas raízes, formando nodosidades criptas, ou “pipocas”, devido à instalação da colônia no sistema radicular da planta, juntamente com um conjunto de hifas de fungo do gênero *Phlebopus* sp. associado, provocando amarelecimento e queda das folhas, impedindo a absorção de água e nutrientes,

queda de flores e frutos, podendo ocasionar a morte da planta (SANTA-CECÍLIA et al., 2000; SOUZA et al., 2007; ALVES, 2009).

As fêmeas de *Dysmicoccus texensis* depositam o ovissaco(ovos), após isso vem, ninfa 1º Ínstar, depois de 2º e 3º Ínstar logo após a fase de ninfa posteriormente e a fase adulta. Apresentam o corpo em formato ovalado, com a cabeça e tórax fundidos, coloração rosada, todo recoberto com cerosidade branca. Possuem filamentos em todo corpo, em número de 34, com 17 de cada lado, sendo os dois posteriores mais longos. Já as ninfas são menores, mais ágeis e com menor quantidade de cerocidade, os adultos se dispensam com auxílio de formigas. (NAKANO, 1972; SOUZA & RIBEIRO, 2003).

Assim, a susceptibilidade que estes insetos apresentaram aos nematoides entomopatogênicos em outros trabalhos é um bom indicativo da eficiência destes para o controle biológico aplicado ao manejo integrado de pragas do cafeeiro. (ANDALO et al. 2004)

2.3. Nematoides Entomopatogênicos no Controle de Cochonilhas

O uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae para o controle da cochonilha-da-raiz tem potencial em programas de Manejo Integrado de Pragas, pois o ambiente ocupado pelos insetos no solo é bastante semelhante ao exigido pelos nematoides (GREWAL et al., 2001; LEWIS et al., 2006). As bactérias presentes no aparelho digestivo dos NEPs matam o hospedeiro por septicemia, ou seja sem a bactéria, o nematoide não é patogênico (SHAPIRO-LLAN e GAUGLER, 2002).

O ciclo de vida destes nematoides inclui três fases de desenvolvimento: ovo, juvenil e adulto (fêmeas e machos). O juvenil infectante (JI) é o estágio do nematoide encontrado no solo, que vive em simbiose com as bactérias no trato digestivo. O nematoide penetra o inseto pelas aberturas naturais (boca, espiráculos ou ânus). Posteriormente começam a multiplicar-se. E na fase final, irão se formar as fêmeas e machos da primeira geração em seguida estas fêmeas colocam ovos que darão origem a segunda geração procriando a espécie (KAYA & GAUGLER, 1993).

O ciclo dos heterorhabditídeos é muito semelhante aos dos steinernatídeos, com algumas ressalvas. Os JIs desta família, além de penetrar pelas aberturas naturais, podem também penetrar através da cutícula do inseto hospedeiro utilizando um dente quitinoso localizado frontalmente em sua extremidade anterior. Chegando à hemolinfa liberam bactérias do gênero *Photorhabdus*. Na primeira geração dentro do inseto, ao invés de surgirem fêmeas e machos, ocorrem apenas adultos hermafroditas, que produzem os demais estádios (ovos, J1, J2, J3 e J4). Na geração seguinte, os adultos diferenciam-se em machos e fêmeas (KAYA & GAUGLER, 1993).

Os nematoides entomopatogênicos podem ser produzidos com baixo custo em hospedeiros-cobaia ou em meios artificiais, também serem armazenados em pouco espaço e facilmente aplicados via irrigação ou pulverização, buscam com facilidade o inseto-alvo, reproduzem no próprio hospedeiro e possuem simbiose com bactérias entomopatogênicas. (LIU et al., 2000).

Quanto ao modo de ação, os nematoides entomopatogênicos podem penetrar na hemocele dos seus hospedeiros pela cutícula, pelas paredes do intestino através do anus e boca ou pela cutícula traqueal, através dos espiráculos parasitando o inseto.

Estudos com espécies de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sp. comprovaram mais de 70% de mortalidade de cochonilhas (ALVES, et al. 2009). Testes em laboratório com quatro espécies de nematoides, demonstraram que os isolados do nematoide *Steinernema carpocapsae* (Steinernematidae) causaram mortalidade dos insetos alvos (ANDALO et al. 2004), indicando o potencial para uso futuro no controle biológico aplicado. A utilização de agentes biológicos é de suma importância para o manejo da cochonilha visando praticas sustentável.

3. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade de *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae) e sua bactéria simbiote isolada (*Photorhabdus* sp.), no controle da cochonilha-da-raiz do cafeeiro (*Dysmicoccus texensis*) em condições de laboratório.

3.1. Objetivos Específicos

- Avaliar a patogenicidade in vitro da cochonilha *Dysmicoccus texensis* (TINSLEY, 1900), sob aplicação de diferentes concentrações do nematoide entomopatogênico e sua bactéria simbiote em condições de laboratório.
- Determinar para o nematoide e sua bactéria simbiote testada, a concentração com maior porcentagem de controle das cochonilhas;

4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Biossistemática de Hemiptera (LABHEM), no Departamento de Ciências da Produção Agrícola - Setor de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP- Campus Jaboticabal.

4.1. Coleta, identificação e criação da cochonilha-da-raiz.

Amostras de fêmeas adultas de cochonilhas da raiz foram coletadas em lavouras de café arábica no sistema de manejo orgânico na Fazenda Bom Jardim, localizada no município de Franca e Pedregulho-SP (figura 1), sendo estas acondicionadas em caixas de isopor e levadas para identificação e criação.



Figura 1. Cultivar Obatã nos municípios de Franca-SP e Pedregulho-SP.

A identificação da cochonilha-da-raiz do café *Dysmicoccus texensis* (TINSLEY, 1900) foi realizada por características como o número de filamentos da antena, com auxílio da chave dicotômica de GRANARA DE WILLINK (2009). Parte dos insetos foram separados para identificação, e a outra parte para criação em abóboras de 0,5 a 1,5 kg, utilizadas como substrato, de acordo com o método de criação utilizado por ALVES et al. (2009) e FATOBENE (2010). As abóboras infestadas, foram colocadas em bandejas plásticas, e mantidas em BOD, a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa 70%, e luz ausente.

Os vouchers examinados para identificação foram depositados na Coleção de Referência de Insetos e Ácaros (CRIA) no Departamento de Ciências da Produção Agrícola, na FCAV/UNESP Campus Jaboticabal.

4.2. Obtenção dos Nematoides e sua Bactéria Simbionte.

Os nematoides (*Heterorhabditis bacteriophora*) e a bactéria (*Photorhabdus* sp.), foram adquiridos para a pesquisa através da empresa Bio Controle® (Indaiatuba-SP). Os nematoides foram obtidos através de lagartas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) (LINNAEUS, 1758) previamente inoculadas no LABHEM, onde foram montadas as armadilhas de White (WHITE, 1927) para extração dos juvenis infectantes (JI). As bactérias puras foram obtidas através de um frasco de 500ml preparadas em solução provenientes da mesma empresa.

4.2. Bioensaios

Para realização da mortalidade da cochonilha-da-raiz do cafeeiro, foi avaliada cada placa de Petri, mantidas em condições controladas ($25 \pm 1^\circ \text{C}$, $U 70 \pm 10\%$, sob luz ausente). A mortalidade média de *Dysmicoccus texensis* com diferentes concentrações de nematoide entomopatogênico e sua bactéria simbiote (*Photorhabdus* sp.), avaliada com o auxílio de um microscópio estereoscópico, foi realizada 24, 48 e 72 horas após aplicação dos tratamentos.

O experimento foi realizado com o nematoide entomopatogênico *H. bacteriophora* e sua bactéria simbiote *Photorhabdus* sp. isolada, sendo oito tratamentos empregados conforme Tabela 1. As cochonilhas adultas provenientes da criação mantida em laboratório foram separadas, sendo transferidas com auxílio de um pincel de cerdas finas e macias, sendo 10 fêmeas adultas/ placa de Petri. Sendo cada tratamento constituído por 7 repetições, totalizando 70 indivíduos por tratamento.

Foi calculada a mortalidade média nos diferentes tratamentos com água destilada (testemunha), produto químico (Actara®, dose do produto 1200 g/ha), nematoides e sua bactéria simbiote (Tabela 2). A análise de variância foi realizada pelo teste F, a normalidade foi feita pelo teste Shapiro-Wilk e a comparação das médias seguidas pelo teste Tukey 5% .

Aplicou-se de um volume de 2 ml de suspensão dos NEPs e das bactérias (Tabela 1) por repetição em cada tratamento, com auxílio de uma pipeta volumétrica. Após aplicação dos tratamentos, as placas de Petri foram identificadas e vedadas com filme plástico de PVC, sendo estas mantidas em B.O.D., em condições controladas de temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$, luz ausente. Após a aplicação dos tratamentos, as avaliações de mortalidade das cochonilhas foram

realizadas em intervalos de 24 h por 3 dias (24, 48, 72 horas) com auxílio de um microscópio estereoscópio.

Tabela 1. Patogenicidade dos nematoides entomopatogênicos e sua bactéria simbionte sobre a cochonilha *Dysmicoccus texensis*. Jaboticabal – SP.

Tratamento	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	<i>Photorhabdus</i> sp.
1. <i>H. bacteriophora</i>	40JI/ml	
2. <i>H. bacteriophora</i>	80JI/ml	
3. <i>H. bacteriophora</i>	160JI/ml	
4. <i>Photorhabdus</i> sp.		(1x10 ⁹) bactérias
5. <i>Photorhabdus</i> sp.		(1x10 ⁸) bactérias
6. <i>Photorhabdus</i> sp.		(1x10 ⁶) bactérias
7. Actara® Syngenta (2ml)		
Testemunha (2ml)		

Nota¹ JI = *Juvenis infectantes por mililitros*.

4.3. Análise estatística

Os dados coletados foram tabulados e submetidos à análise estatística usando o programa Sisvar versão 5.6, aplicando análise de variância, de normalidade e homocedasticidade Shapiro-Wilk e o teste Tukey 5%, para verificação das possíveis diferenças. A eficiência foi avaliada através da maior mortalidade das cochonilhas, utilizando a menor concentração da espécie do nematoide entomopatogênico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após aplicação com 3 dias, verificou-se que os isolados testados causaram taxa de mortalidade média nas ninfas, exceto *Photorhabdus* sp. (1×10^9) que não se diferenciou da testemunha (Tabela 2). Entretanto as outras concentrações de bactéria simbiote junto ao nematoide (1×10^8) e (1×10^6) apresentaram 18,6% e 21,4% de mortalidade média respectivamente.

Em comparação ao uso do nematoide e da bactéria, houve destaque na mortalidade média acima de 40%, quando utilizou o nematoide *Heterorhabditis bacteriophora* em todas concentrações (Tabela 2). Esse resultado se diferenciou da testemunha 0% e dos outros tratamentos.

Na análise estatística foi observada a distribuição normal após o teste de Shapiro-Wilk ($P < 0.0001$). No teste de análise de variância constatou-se $CV = 48.43\%$ e as médias comparadas com erro padrão = 0.58 seguido pelo teste de Tukey 5%

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade média da cochonilha-da-raiz do cafeeiro após 3 dias com diferentes tratamentos de nematoide entomopatogênico (*Heterorhabditis bacteriophora*) e sua bactéria simbiote (*Photorhabdus* sp.).

Tratamentos	Mortalidade (%)
Testemunha - Água destilada	0a
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (40 JI/ml)	41,4bc
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (80 JI/ml)	44,43bc
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (160 JI/ml)	47,1c
<i>Photorhabdus</i> sp. (1×10^9)	8,6a
<i>Photorhabdus</i> sp. (1×10^8)	18,6ab
<i>Photorhabdus</i> sp. (1×10^6)	21,4abc
Produto químico (Actara)	100d

¹Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey 5%.

Nas avaliações realizadas em laboratório com 72 horas, constatou-se valores médios de mortalidade com os tratamentos de nematoide entomopatogênico 40 JI/ml, 80JI/ml, 160JI/ml (figura1). Não houve diferença entre as concentrações de 40JI/ml e 80JI/m (*Heterorhabditis bacteriophora*) da maior concentração (160JI/ml) que causou

47,1% de mortalidade média, as concentrações de 40JI/ml e 80JI/ml obtiveram 41,4% e 44,43% de mortalidade respectivamente, todas concentrações de nematoide apresentaram resultados para potencial controle biológico.

Entretanto, a bactéria simbiote *Photorhabdus* sp. não apresentou resultado significativo em concentração (1×10^9) com 8,6% de mortalidade média, já com (1×10^8) apresentou 18,6% e para concentração de (1×10^6) demonstrou 21,4% de mortalidade média (figura 2), quando comparados aos valores de mortalidade do nematoide em diferentes concentrações, o isolado *Heterorhabditis bacteriophora* apresentou um melhor resultado no teste em laboratório.

As concentrações de 160 JI/ml de *Heterorhabditis bacteriophora* apresentou 47,1% de mortalidade, e 1×10^6 de *Photorhabdus* sp. teve 21,4% de mortalidade, porém não diferenciou estatisticamente das demais concentrações avaliadas.

ROBY (2018) avaliou a eficácia de *Steinernema* sp. (estirpe: AT4), *Steinernema* sp. (estirpe: EMB), *Heterorhabditis bacteriophora* (estirpe: EKB20), *Heterorhabditis* sp. (estirpe: EIK) e *Steinernema glasri* (estirpe: Nova Jersey) contra a cochonilha da cana-de-açúcar *Saccharicoccus sacchari* (Hemiptera: Pseudococcidae) (COCKERELL, 1895) em condições de laboratório, e verificou que a linhagem *H. bacteriophora* (EKB20) e *Heterorhabditis* sp (EIK) foram mais eficientes, com maior patogenicidade e virulência em laboratório do que outras cepas e apresentaram a maior porcentagem de mortalidade (68,59% para 70,83%), usando a CL 50 de 25,42 e 45,5 IJs / inseto para as duas linhagens, respectivamente demonstrando um resultado parecido com os resultados testados em laboratórios das concentrações de nematoide *Heterorhabditis bacteriophora*.

DILLON et al. (2007), realizou teste com três espécies de nematoides para controlar o gorgulho do Pinus, *Hylobius abietis* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae), *S. feltiae* foi o nematoide entomopatogênico que menos causou mortalidade (51-56%). Porém, esta porcentagem diminuiu quando observada em maior concentração. GEDEN et al. (1987) encontraram, também, alta mortalidade (87%) com *S. feltiae* para o controle de *A. diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Ao comparar os dados dos presentes trabalhos, nota-se uma semelhança na mortalidade do nematoide *S. feltiae* para o controle de coleópteros comparados ao *H. bacteriophora* no controle da cochonilha-da-raiz do cafeeiro.

STUART et al., (1997) constatou a susceptibilidade de *Dysmicoccus vacinii* (Hemiptera: Pseudococcidae) Tinsley, 1997 a diferentes isolados de NEPs, e a capacidade de deslocamento de várias espécies, constataram que a maior suscetibilidade deste inseto às espécies pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*, com valores de até 90% de mortalidade. FERREIRA (2015), avaliando a patogenicidade de oito isolados de NEPs sobre fêmeas adultas de *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) (Cockerell, 1893), constatou que *Heterorhabditis* sp. LPP22 (100%), *H. indica* LPP30 (99%), *H. mexicana* Hmex (98%), *Heterorhabditis* sp. LPP35 (97%) foram os mais patogênicos na temperatura de 25 °C, com grande potencial de uso para o controle.

Ao comparar espécies nativas com espécies exóticas de nematoides entomopatogênicos no controle de insetos-praga, nota-se que espécies autóctones (natural do país) são capazes de causar maior mortalidade do hospedeiro (Dillon et al., 2006).

Conforme se alterou a concentração de Juvenis infectantes por MI nota-se uma evolução na taxa de mortalidade média, sendo assim, quanto maior a densidade e

quanto mais jovens foram os nematoides, haverá maior mortalidade confirmada (Figura 2).

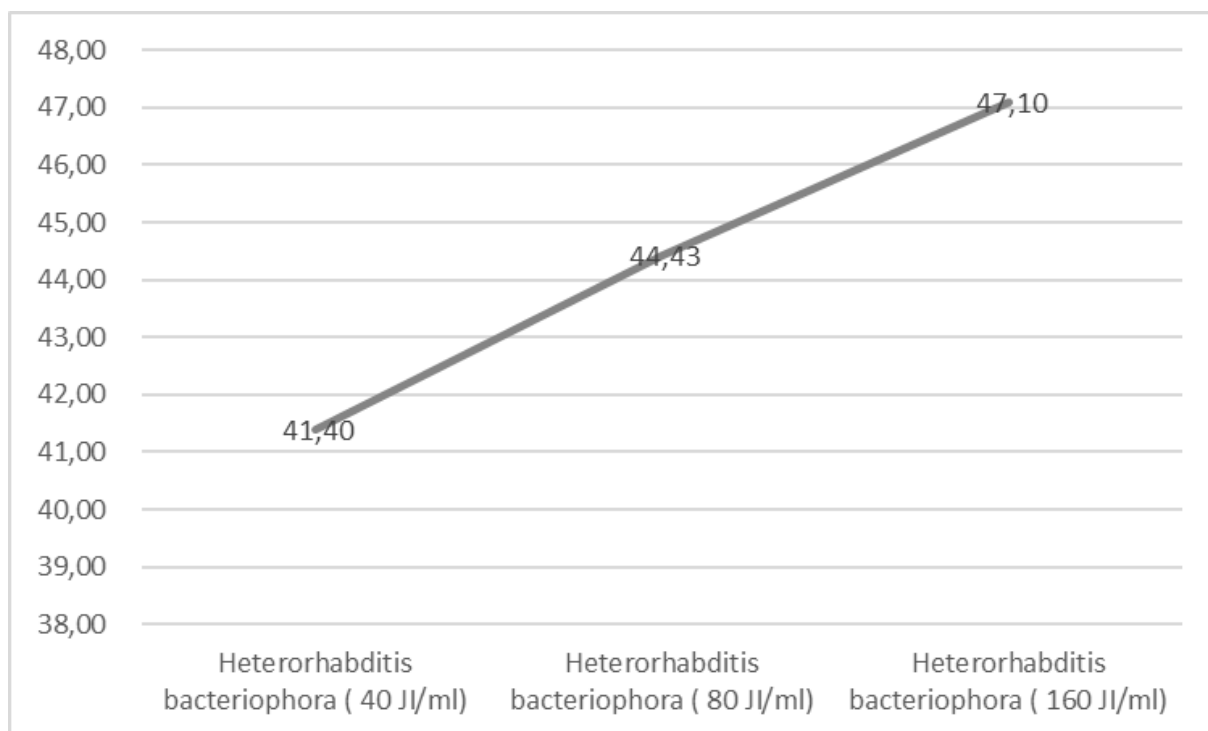


Figura 2. Porcentagem de mortalidade confirmada de cochonilha-da-raiz do cafeeiro em suspensão aquosa de *Heterorhabditis bacteriophora*.

Para todas as concentrações testadas houve mortalidade das cochonilhas. STUART et al. (1997), realizou estudos com *Dysmicoccus vaccinii*, e observaram uma concentração de 500 JI's/ placa. Já estudos realizados por WANG et al. (2002), avaliaram concentrações para quatro diferentes espécies de nematoides entomopatogênicos: *H. bacteriophora*, *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. riobrave*, contra o cupim *R. flavipes*. No entanto, nesses trabalhos foram testadas concentrações muito altas, chegando a até 5000 JI's/ cupim. Concentrações desse porte podem prejudicar o controle efetivo do inseto-praga, podendo haver competição intra-específica (GAUGLER et al., 1994). Para que haja um maior interesse pelos incrementos desses

nematoides entomopatogênicos no manejo integrado de pragas e para que sejam utilizados no controle biológico comercial, é importante testar as menores concentrações eficientes no controle desses insetos pragas.

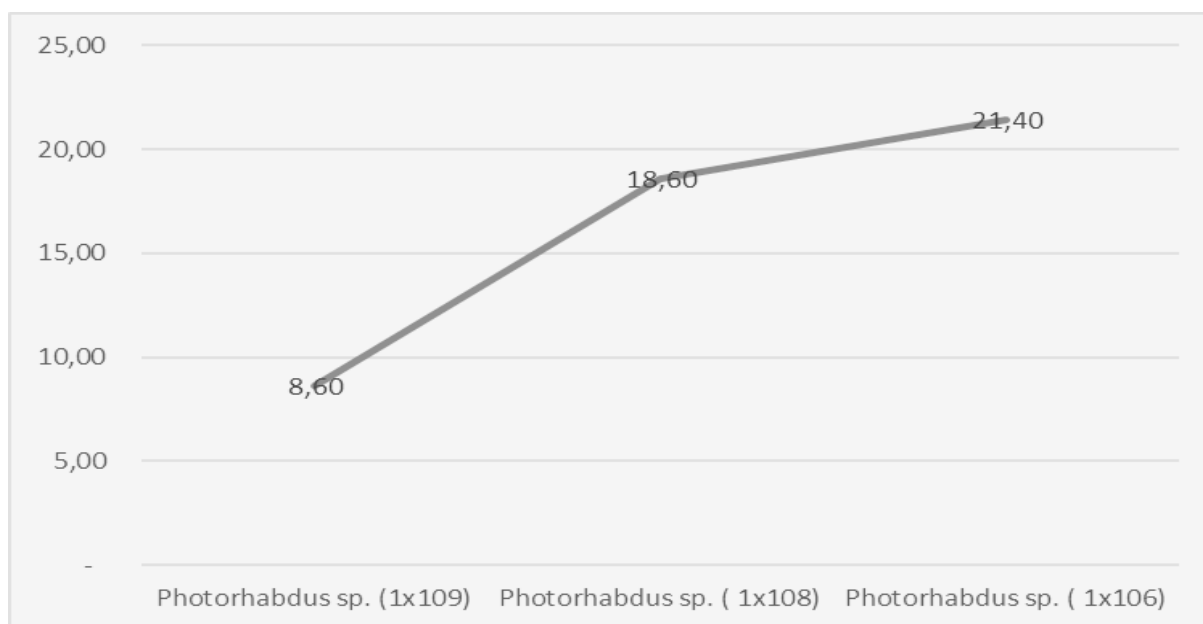


Figura 3. Porcentagem de mortalidade confirmada de cochonilha-da-raiz do cafeeiro por suspensão aquosa de *Photorhabdus* sp.

Vale salientar que os nematoides entomopatogênicos *Heterorhabditis* sp. possuem a estratégia de busca tipo "cruiser", que buscam o hospedeiro ativamente no ambiente se deslocando pela fase líquida do solo, o qual mostra grande valor no controle da cochonilha-da-raiz do cafeeiro, que durante todo seu ciclo, causam diversos danos por fixarem na raiz e sugar a seiva. Portanto, o nematoide entomopatogênico com esse comportamento torna-se muito promissor no estudo de métodos de controle para estes tipos de insetos (LEWIS et al., 2006).

A produtividade da cafeicultura orgânica poderá ter seu incremento devido a métodos de controle biológico, uma vez que diversos insetos praga como a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro são limitantes da produção. O uso de nematoides entomopatogênicos no controle destes insetos praga tem sido cada vez mais testado, com bom potencial para utilização nos programas de controle biológico.

Neste trabalho foi possível observar que insetos de difícil controle como a cochonilha *Dysmicoccus texensis*, por terem hábitos crípticos, e se esconderem entre as raízes do cafeeiro, podem ter como um bom potencial para controle biológico os nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* sp e sua bactéria simbiote.

Ressalta-se que ainda há muito estudo a ser feito, para isolamento de espécies nativa, bem como testes para caracterização e identificação de espécies já existentes e exóticas, deste modo o controle biológico com uso destes nematoides torna-se um bom meio para controle de insetos pragas como a cochonilha-raiz-do-cafeeiro. Com certeza, o maior fator limitante para o uso destes nematoides no Brasil é a falta de tecnologia de produção, armazenamento e o desenvolvimento de formulações adequadas.

Insetos com hábitos crípticos que têm estruturas protetoras, como a cochonilha-da raiz-do-cafeeiro, dificultam a ação de produtos fitossanitários. Entretanto, a alta susceptibilidade que os insetos apresentaram aos nematoides, mesmo quando abrigados nas criptas, é um bom indício da eficiência destes agentes no controle do inseto em condições de campo.

6. CONCLUSÃO

O nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis bacteriophora* e sua bactéria simbiote *Photorhabdus* sp. apresentam patogenicidade para a cochonilha-da-raiz do café em condições de laboratório.

O nematoide *Heterorhabditis bacteriophora* e sua bactéria simbiote *Photorhabdus* sp apresentam potencial de se tornar um agente de controle biológico para a cochonilha-da-raiz do café. No entanto, necessita de investimento em pesquisa científica para aprimoramento da tecnologia de produção, armazenamento e o desenvolvimento de formulações adequadas para comercialização como agentes de controle biológico aplicado.

7. LITERATURA CITADA

ABIC. **Associação Brasileira das Indústrias do Café. Relatório mensal dezembro de 2017, Conselho dos Exportadores de Café do Brasil.**

Disponível em <https://static.poder360.com.br/2022/01/Cafe_2021.pdf> Acesso em 2022.

ALVES, V. S.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; ROHDE, C.; SILVA, M. A. T. D. Testes em condições para o controle de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera, Pseudococcidae) em cafeeiro com nematóides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* (Rhabditida, Heterorhabditidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, p. 139-143, 2009.

ANDALÓ, V.; MOINO JUNIOR, A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha da raiz do cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 181–187, 2004.

BRASIL. Lei n. 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Disponível em: <<https://legislacao.presidencia.gov.br/atos/?tipo=LEI&numero=10831&ano=2003&ato=60boXTE50dRpWTdb1>> Acesso em: 21 set. 2022

BSCA. CAFÉS ESPECIAIS DO BRASIL. **Alta Mogiana**: descrição. Disponível em:<<http://brazilcoffeenation.com.br/region/show/id/5>>. Acesso em: 27 set. 2022.

CAIXETA, I. F.; PEDINI, S. Cafeicultura orgânica: conceitos e princípios. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 23, n. 214/215, p.15-20, jan./abr. 2002.

COSTA LIMA, A. Homópteros. In: **Insetos do Brasil**. 3. tomo. [Rio de Janeiro]: Escola Nacional de Agronomia, 1942. (Série Didática, 4). p. 7-327. Disponível em:

<<http://www.ufrrj.br/institutos/ib/ento/tomo03.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2022

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 81–106, p. 52, 2007.

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

EMBRAPA CAFÉ. Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/cafe>> Acesso em: 10 set.2022.

FATOBENE BJR (2010) Interação entre a cochonilha-da-raiz, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley), e clones de *Coffea canephora* Pierre resistentes a nematóides do gênero *Meloidogyne*. 70 f. **Dissertação** (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - IAC, Campinas.

FORNAZIER, M. J.; MARTINS, D. S.; GRANARA DE WILLINK, M. C.; PIROVANI, V. D.; FERREIRA, P. S. F.; ZANUNCIO, J. C. Scale insects (Hemiptera: Coccoidea) associated with arabica coffee and geographical distribution in the Neotropical region. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 4, p. 3083-3092, 2017.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, K.D.S. Avaliação da patogenicidade de nematoides entomopatogênicos à cochonilha do abacaxizeiro *Dysmicoccus brevipes*, em condições de laboratório.

2015.63f. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.

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

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

GRAZIA J, CAVICHIOLI RR, WOLFF VRS, FERNANDES JAM, TAKIYA D (2012). Hemíptera. In: Rarafel, J. A.; Melo, G. A. R.; Carvalho, C. J. B. De; Casari, S. A.; Constantino, R. (Ed). **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Holos, p. 347-405.

GRANARA DE WILLINK, M. C. *Dysmicoccus* de la región neotropical (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 68, n. 1-2, p. 11-95, 2009.

GRANARA DE WILLINK MC, PIROVANI VD, FERREIRA PS (2010) Las Especies de *Coccus* que afectan *Coffea arabica* en Brasil (Coccoidea: Coccidae) y redescription de dos especies. **Neotropical Entomology** 39:391-399.

GREWAL, P. G.; NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. Entomopathogenic Nematodes: Potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 191–205, 2001.

HEMPEL, A. Descrição de sete novas espécies de coccídeos. **Revista do Museu Paulista**, São Paulo, v. 10, p. 193-208, 1918.

KAYA, H. K. & R. GAUGLER. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Annual Reviews Entomology**. **38**: 181-206.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 38, p. 66–79, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.11.007>

LIU, J., POINAR, G. O. & BERRY, R. E. Control of insect pests with entomopathogenic nematodes: the impact of molecular biology and phylogenetic reconstruction. **Annual Reviews Entomology**. **45**: 287-306, 2000.

LOPES, P.R.; ARAUJO, K.C.S.; LOPES, I.M.; RANGEL, R.P.; SANTOS, N.F.F.; KAGEYAMA, P.Y. Uma análise das consequências da agricultura convencional e das opções de modelos sustentáveis de produção – agricultura orgânica e agroflorestal. **Revista Espaço de Diálogo e Desconexão**, Araraquara, v.8, n.2. 2014.

MATIELLO JB, SANTINATO R, ALMEIDA SR, GARCIA AWR (2020). Cultura de café no Brasil: **manual de recomendações**. Fundação procafé. ISBN: 9788566870978. 716p.

MAPA, 2019. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Café no Brasil.

Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politicaagricola/cafe/cafeicultura-brasileira>. Acesso em: 17 de set. 2019.

MAPA. **LEI Nº 10.831, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2003**. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/lei-no-10-831-de-23-de-dezembro-de-2003.pdf/view>. Acesso 10 set 2022.

MARTINELLI, N. M.; PERONTI, A L B G.; PAULO, H. H.; ANDRADE, S. C.; CRUZ, M. A.; SIQUEIRA, M. A.; MONTEIRO, G.G. **Cenário da cafeicultura na região Sudeste no manejo de insetos-praga**. In: Raphael de Campos Castilho; Caio Cesar Truzzi; Ciro Pedro Guidotti Pinto. (Org.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. 221ed. Jaboticabal, SP: CDU, 2018, v. XI, p. 01-201.

MCKENZIE HL (1967) Mealybugs of California: with taxonomy, biology, and control of North American species (Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae). **Berkeley**: University of California Press. 526p.

MILLER DR, DAVIDSON JA (2005) Armored scale insect pests: of trees and shrubs. Ithaca, NY: **Cornell** Univ. Press, 2005. 442p.

NAUEN, R. et al. Whitefly-active metabolites of imidacloprid: biological efficacy and translocation in cotton plants. **Journal of Pest Science**, v. 55, p. 265–271, 1999.

NAKANO O (1972) Estudo da cochonilha-da-raiz do cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Hempel, 1918). 128 f. **Tese** (Livre Docência em Entomologia) – Esalq, Piracicaba.

PAULO, H. H. de. **Cochonilhas (Hemiptera: Coccoomorpha) associadas a *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) e seus respectivos inimigos naturais na região da Alta Mogiana, São Paulo**. 2021.182f. **Tese** (Doutorado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista (UNESP) Campus Jaboticabal, Jaboticabal, SP. 2021.

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

REIS PR, SOUZA JC, SANTA-CECILIA LVC, SILVA RA, ZACARIAS MS (2010) Manejo integrado de pragas do cafeeiro. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. (Ed.). Café arábica: do plantio a colheita. Lavras, MG: **Epamig**. 573-688.

ROBY, A.S.M.H.E. Efficiency of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) against *Saccharococcus sacchari* (Cockerell) (Homoptera: Pseudococcidae) under laboratory conditions. **Pakistan Journal of Nematology**, v.36, n.1, p.59-63, 2018.

SANTA-CECÍLIA, L. V.; SOUZA, J. C.; REIS, P. R. **Novas constatações da cochonilha-da-raiz *Dysmicoccus texensis* em lavouras de café no Sul de Minas, em Minas Gerais**. Lavras: EPAMIG, 2000. 2 p. (EPAMIG, Circular Técnica, 130).

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B.; PRADO, E.; SOUZA, J. C.; FORNAZIER, M. J. **Cochonilhas-Farinhas em cafeeiros: reconhecimento e controle**. Lavras: EPAMIG, 2005. 4 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 189).

SHAPIRO-ILAN, D.I.; GOUGE, D.H.; PIGGOTT, S.J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental consideration for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, v.38, p.124-133, 2006.

SILVA D'ARAÚJO AG, GONÇALVES CR, GALVÃO GM, GONÇALVES DM (1968) Fourth catalog of insects that live in Brazil. Parte II. **Insects, hosts and natural enemies**. Rio de Janeiro: Ministério da Cultura, 622p.

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

SOUZA, J. C.; RIBEIRO, J. A. Cochonilha-da-raiz: cafeicultor, conheça e saiba como controlar esta praga com inseticidas neonicotinóides. Lavras: **EPAMIG**, 2003. 3 p. (EPAMIG. Circular Técnica, n. 162).

SOUZA JC, REIS PR, RIBEIRO JA, SANTA-CECÍLIA LVC, SILVA RA (2007) Controle químico da cochonilha da raiz, *Dysmicoccus texensis* (Tinsley, 1900) em cafeeiro.

Coffee Science 2: 29-37.

SOUZA, M. C. M. de. Cafés sustentáveis e denominação de origem: a certificação de qualidade na diferenciação de cafés orgânicos, sombreados e solidários. 2006. 177f.

Tese (Doutorado em Ciência Ambiental) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

STUART, R. J.; POLAVARAPU, S.; LEWIS, E. E.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vacinni* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabdita: Heterorhabditidae and Steinernematidae),

Journal of Economic Entomology, Lanham, v. 90, n. 4, p. 925-932, Aug. 1997.

VRANJIC JA. Ecology. In: Ben-Dov Y, Hodgson CJ (1997). **World crop pests** - soft scale insects, their biology, natural enemies and control. New York, Amsterdam: Elsevier, 1997. 452p.

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

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