

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE
***Bradysia mabiusi* (DIPTERA: SCIARIDAE)**

FERNANDO MARTINS TAVARES

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

Março - 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE DE
***Bradysia mabiui* (DIPTERA: SCIARIDAE)**

FERNANDO MARTINS TAVARES

Biólogo

Orientador: Dr. Antonio Batista Filho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU – SP

Março - 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

T231a Tavares, Fernando Martins, 1979-
Avaliação de nematóides entomopatogênicos no controle de *Bradysia mabiusi* (Diptera: Sciaridae) / Fernando Martins Tavares. - Botucatu : [s.n.], 2010.
58 f. : gráfs., tabs., fots. color.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2010
Orientador: Antonio Batista Filho
Inclui bibliografia.

1. Mosca-dos-fungos. 2. *Heterorhabditis indica*. 3. *Steinernema* spp. 4. Controle biológico. I. Batista Filho, Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "AVALIAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NO CONTROLE
DE Bradysia mabiusi (DIPTERA: SCIARIDAE)"


ALUNO: FERNANDO MARTINS TAVARES

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO

Aprovado pela Comissão Examinadora




PROF. DR. ANTONIO BATISTA FILHO



PROF. DR. CARLOS FREDERICO WILCKEN



PROF.ª DR. SILVIA RENATA SICHIANO WILCKEN



PROF. DR. LAERTE ANTONIO MACHADO



PROF. DR. INAJA MARCHIZELI WENZEL

Data da Realização: 12 de março 2010.

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. INTRODUÇÃO.....	5
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
4.1. Mosca dos fungos.....	7
4.2. <i>Bradysia</i> spp. - disseminadores de fungos fitopatogênicos	9
4.3. Aspectos relacionados a ocorrência e controle do inseto.....	9
4.4. Controle da Mosca-dos-Fungos: uso de nematóides entomopatogênicos.....	10
4.4.1. Nematóides Entomopatogênicos.....	11
4.4.2. Biologia.....	11
4.4.3. Efeito da dosagem no controle da mosca-dos-fungos.....	12
4.4.4. Métodos de aplicação.....	12
4.4.5. Suscetibilidade dos diferentes estágios da mosca-dos-fungos aos nematóides.....	13
4.4.6. Efeito do ambiente sobre nematóides entomopatogênicos no controle de <i>Bradysia</i>	14
4.4.6.1. Efeito do Substrato.....	14
4.4.6.2. Efeito da Planta hospedeira.....	15
4.4.6.3. Temperatura.....	15
CAPÍTULO I.....	17
AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS, CONTRA A MOSCA-DOS-FUNGOS, <i>Bradysia mabiusi</i> (DIPTERA: SCIARIDAE).....	17

CAPÍTULO II.....	35
EFICIÊNCIA DE <i>Heterorhabditis indica</i> E <i>Steinernema feltiae</i> (NEMATA: HETERORHABDITIAE, STEINERNEMATIDAE) NO CONTROLE DA MOSCA-DOS-FUNGOS <i>Bradysia mabiusi</i> (DIPTERA: SCIARIDAE) EM CULTIVO PROTEGIDO DE <i>Chrysanthemum</i> sp.....	35
5. CONCLUSÕES.....	51
6. REVISÃO DE LITERATURA.....	52

RESUMO

Nematóides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* vem sendo utilizados para o controle de mosca-dos-fungos em diversos países. Esse estudo teve por objetivo avaliar diferentes isolados de NEPs, contra larvas de *Bradysia mabiusi*, em condições de laboratório e casa de vegetação. Nos testes de seleção de isolados, o nematóide *Heterorhabditis indica* apresentou melhor desempenho comparado a todos os demais isolados, proporcionando mortalidade do inseto de até 98%. Para o estudo em casa de vegetação, avaliou-se o efeito dos nematóides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, nas dosagens de 10, 50 e 100 JI/cm², em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp. Foram realizados 3 experimentos. Houve diferença significativa entre os tratamentos somente no terceiro teste, entretanto, nos três testes os nematóides demonstraram uma tendência de redução na população do inseto, em função do aumento das dosagens, o que sugere o efeito dos agentes no controle do inseto. Da mesma forma, em todos os testes, o nematóide *H. indica* apresentou maior redução na população da mosca-dos-fungos que o *S. feltiae*, confirmando sua maior eficiência com níveis de controle variando de 6 a 67,5% no primeiro ensaio, de 17 a

77,5% no segundo, e de 62,5 a 78,5% no terceiro. Os resultados revelam que *H. indica* apresenta potencial de uso para o controle da mosca-dos-fungos.

Palavras chave: mosca-dos-fungos, *Heterorhabditis indica*, *Steinernema* spp., controle biológico.

EVALUATION OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES IN THE CONTROL OF *Bradysia mabiusi* (DIPTERA: SCIARIDAE)

Author: Fernando Martins Tavares

Advisor: Dr. Antonio Batista Filho

2. ABSTRACT

Entomopathogenic nematodes (EPNs) of the genus *Heterorhabditis* and *Steinernema* have been used against the fungus gnat in several countries. This study aimed to evaluate different strains of EPNs against larvae of *Bradysia mabiusi*, in laboratory and greenhouse conditions. At the screening of EPNs, the nematode *H. indica* showed better performance compared to the other nematodes, providing up to 98% mortality of the insect. To the study in greenhouse, evaluated the effects of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, at dosage of 10, 50 and 100 IJ/cm² in commercial growth of *Chrysanthemum* sp., in greenhouse conditions. Three experiments were accomplished. There were significant difference among the treatments only for the third experiment, mean while, in the three tests, the nematodes showed a tendency of reduction on the insect population according to the dosage increase, which suggest the effect of the agents on the insect control. In addition, in all the tests, the nematode *H. indica* showed higher reduction on the insect population compared to the *S. feltiae*, confirming its higher efficiency with control levels ranging from 6 to 67,5% in the first test, from 17 to 77,5% in the second, and from 62,5 to

78,5% in the third. The data show that *H. indica* has potential use for the controlling of the fungus gnat.

Key words: fungus gnats, *Heterorhabditis indica*, *Steinernema* spp., biological control.

3. INTRODUÇÃO

Fungus gnat (mosca-dos-fungos) são insetos do gênero *Bradysia* (Diptera: Sciaridae), consideradas importantes pragas em cultivos de cogumelo e viveiros de mudas, atacando citros, fumo, ornamentais, morango e diversas outras plantas de importância econômica (GALLO et al., 2002; RADIN et al., 2006). As larvas do inseto se alimentam de fungos, algas e matéria orgânica em decomposição, vivendo em ambientes úmidos e escuros. Todavia quando se estabelecem, as larvas passam a se alimentar das raízes das plantas, com túneis nas raízes mais grossas, provocando danos de grande importância, principalmente em mudas em fase de germinação. Além disso, danos indiretos as plantas também podem ser ocasionados com as larvas e adultos atuando como vetores de fungos fitopatogênicos. (POWELL & LINDQUIST, 1996; PAIVA, 2004).

Até 1966, esta mosca não era considerada praga nos EUA, sendo sua presença apenas inconveniente. Atualmente é uma praga mundial e no Brasil, nos últimos anos, tornou-se uma importante praga, sendo disseminada de Norte a Sul, e desconhecida pela grande maioria dos viveiristas e produtores em estufas (TAVEIRA, 1995).

Nos EUA, Europa e outros países, um método bastante conhecido e utilizado com eficiência é o controle biológico por meio do nematóide *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982. O ambiente úmido e sombreado predominante em áreas de propagação de mudas, favorece o nematóide que ataca tanto a larva como a pupa do inseto, proporcionando níveis de controle de até 90% (GOUGE & HAGUE, 1995b). Com uma ou duas aplicações do bioinseticida é possível manter a população do inseto sob controle sem ocasionar problemas para o meio ambiente e a saúde humana (BECKER UNDERWOOD, 2009).

Estes agentes são capazes de localizar o hospedeiro no solo, invadindo-o e causando sua morte num período de 24 a 72 horas após liberar uma bactéria simbiote que carrega no seu intestino (FERRAZ, 1998). Em função disso, este estudo tem como objetivo avaliar a patogenicidade e eficiência de nematóides entomopatogênicos contra *Bradysia mabiusi* Lane, 1959.

4. REVISÃO DE LITERATURA

~~4.1. Mosca dos fungos~~

Para a maioria dos insetos do gênero *Bradysia*, a morfologia e biologia se assemelham. Os adultos são pequenas moscas (2,5 cm de comprimento) de coloração cinza a preta, com pernas finas e longas, que colocam ovos amarelados, geralmente em grupos. Destes ovos eclodem as larvas, que podem medir até 0,6 mm de comprimento. Com ampla distribuição geográfica, os insetos ocorrem principalmente em ambientes sombreados e úmidos. As larvas passam por quatro instares larvais e se alimentam principalmente de fungos, os quais se desenvolvem em materiais vegetais em decomposição e têm ocorrência natural em solos, como agentes decompositores de material orgânico (WILKINSON & DAUGHERTY, 1970; GRAHAM & MCNEILL, 1972; KENNEDY, 1974; BERTI FILHO & WILCKEN, 1993). Os períodos de desenvolvimento do inseto são de 4-6 dias para a fase de ovo, 12-14

dias para a de larva, e 3-4 dias para a de pupa. O ciclo de ovo a ovo pode ser completado em 20 a 25 dias (WILKINSON & DAUGHERTY, 1970; NIELSEN, 2007).

No Brasil, algumas espécies têm importância para estudos básicos de genética (*Bradysia hygida* (Suaia & Alves)), e outras têm sido relatadas como pragas de essências florestais (*Bradysia coprophila* (Lintner)), plantas ornamentais e cogumelos (*Bradysia difformis* Frey, 1948 e *Bradysia ocellaris* Comstock, 1882)) (FRANCISCO & ZUCOLOTO, 1985; BRAVO et al., 1993; MENZEL et al., 2003). Em estufas de mudas cítricas, especialmente de porta-enxertos, esses insetos são encontrados frequentemente; no entanto as espécies ainda não foram identificadas. Nas plantas ornamentais causam danos em diferentes espécies incluindo violeta africana, cravo, crisântemo, ciclâmens, lírio, gerânios, impatiens e poinsetias (MENZEL et al., 2003).

As larvas são consideradas fitófagas (alimentam de plantas), coprófagas (alimentam de esterco) e micetófagas (alimentam de fungos) (GRAHAM & MCNEILL, 1972; KENNEDY, 1974). Alguns fungos como ascomicetos, basidiomicetos e mixomicetos fazem parte da sua dieta natural. Sob condições adversas, como altas temperaturas e baixa umidade, as larvas se agregam para evitar a dessecação. Acreditava-se que as larvas se alimentam exclusivamente de matéria orgânica morta e fungo, porém foi demonstrado que as larvas são capazes de desenvolverem-se em raízes de plantas jovens e saudáveis, além de causar danos e morte das sementes. Este comportamento parece ser determinado pela disponibilidade de fontes alimentares primárias, que são os fungos. A pequena abundância dos fungos, no ambiente próximo a planta, em relação a população de larvas, pode predispor a planta ao ataque das larvas. Porém, sabe-se que o material vegetal em decomposição é mais favorável ao desenvolvimento das larvas do que material vivo e, portanto preferido (LEATH & NEWTON, 1969; KENNEDY, 1974; SPRINGER, 1995).

4.2. *Bradysia* spp. - disseminadores de fungos fitopatogênicos

Vários trabalhos citam o envolvimento destes insetos com a ocorrência de patógenos vegetais. Por viverem em ambientes úmidos, no solo ou em substratos, as larvas são capazes de disseminar fungos, como *Fusarium*, *Pythium*, *Colletotrichum*, *Botrytis*, ou facilitar sua infecção (GRAHAM & MCNEILL, 1972; TAVEIRA, 1995). Larvas de *Bradysia impatiens* Johannsen, 1912, que ingeriram oósporos e micélio de *Pythium aphanidermatum* (Edson) e se alimentaram de plantas jovens de pepino, rapidamente introduziram este fungo nas plantas. Também foi observada a permanência de oósporos, adquiridos pela larva, até a fase adulta, porém com baixa frequência – 1,67%. Não foi constatada a transmissão externa do fungo pelos adultos, ou seja, as moscas não carregaram esporos do fungo. Apesar de ter sido comprovada a transmissão de fungos por insetos de hábito alimentar do tipo mastigador, como as larvas de moscas, esta é considerada uma transmissão mecânica, e na maioria dos casos, facultativa; ou seja, a transmissão pode ocorrer eventualmente, o que de forma alguma diminua a importância da associação do inseto com formas vegetais (JARVIS et al., 1993).

4.3. Aspectos relacionados a ocorrência e controle do inseto

Os substratos de origem vegetal usados para cultivo de plantas em ambiente protegido podem permitir o desenvolvimento de fungos, que servem de alimento às larvas da mosca. Baixas populações de larvas ocorreram em meios muito úmidos ou muito secos. Teoricamente, é possível selecionar um substrato que maximize o crescimento das plantas e minimize o desenvolvimento das larvas. O tipo de substrato, sua origem e seu estado de decomposição, bem como o manejo da água no cultivo, parecem ser fatores importantes para o desenvolvimento destes insetos (LINDQUIST et al., 1985; OLSON et al., 2002).

Quanto a ocorrência do inseto nos cultivos protegidos, a mosca do fungo pode ser monitorada com armadilhas amarelas com cola. Um esquema de distribuição

das armadilhas em forma de “W” foi sugerido para o monitoramento em estufas (RUTHERFORD et al., 1985). Outro método de avaliação da densidade populacional é a utilização de discos de batata, colocados sobre o substrato, para a contagem de larvas (HARRIS et al., 1995).

Alguns métodos de controle usados são a aplicação de inseticidas em pulverização, para controle de adultos, ou na forma de irrigação sobre o substrato, para o controle de larvas. No controle de larvas tem sido recomendado os inseticidas Confidor (Imidacloprido 700 g/Kg) 20 g de p.c./100 L, ou Clorpirifós (480 g/L) 75 mL de p.c./100 L, via irrigação (ZANETTI & LEITE, 2004).

4.4. Controle da Mosca-dos-Fungos: uso de nematóides entomopatogênicos

As infestações da mosca-dos-fungos nos cultivos protegidos, com gerações contínuas e sobrepostas do inseto, têm levado a maioria das estratégias de controle a se tornarem ineficientes. Alguns inseticidas químicos tais como o diazinon (organofosforado) e oxamil (carbamato) não são muito eficientes no controle da mosca-dos-fungos e podem ser fitotóxicos para as plantas novas desde a fase de plântulas (“seedlings”). Além disso, a aplicação de piretróides contra adultos é ineficiente devido a contínua imigração e emergência de novas gerações de adultos oriundos dos substratos.

As primeiras tentativas de uso de NEPs como agentes de controle da mosca-dos-fungos em cultivo protegido foram realizadas no final do ano de 1980 (BEDDING & MILLER, 1981; NEDSTAM & BURMAN, 1990). Várias espécies de nematóides, incluindo *S. feltiae*, *Steinernema carpocapsae* (Weiser), *Steinernema arenarium* Artyukhovsky, 1967 (= *Steinernema anomali*), *Steinernema riobrave* Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994, *Steinernema glaseri* (Steiner, 1929) Wouts, Mrácek, Gerdin & Bedding 1982 e *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 foram avaliados, mas somente *S. feltiae* provou ser efetivo no controle da mosca-dos-fungos (HARRIS et al., 1995). De acordo com Gouge & Hague (1994), *S. feltiae* penetra nas larvas do inseto através da boca e ânus, e uma vez dentro,

mata o inseto em um período máximo de 20 horas. Estes autores e Tomalak (1994) notaram que, devido ao pequeno tamanho das larvas da mosca-dos-fungos, os nematóides completam apenas uma geração dentro do cadáver e produzem cerca de 1000 JI/cadáver dentro de 6-7 dias da infecção. Atualmente, o uso comercial de nematóides tem se tornado uma prática comum no controle da mosca-dos-fungos em cultivo protegido, especialmente pelo uso de *S. feltiae* na Europa.

4.4.1. Nematóides Entomopatogênicos

Os estudos com nematóides entomopatogênicos têm avançado bastante nos últimos anos, especialmente no tocante aos métodos de produção e descoberta de novas espécies/isolados. Atualmente, estão disponíveis no mercado pelo menos 5 espécies de nematóides para o controle biológico de pragas, quais sejam: *H. bacteriophora*, *Heterorhabditis megidis* Poinar, Jackson & Klein 1987, *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. riobrave* (ALVES, 1998). Na América Latina, as pesquisas sobre nematóides têm se restringido a descrição de algumas espécies novas, ao relato de ocorrências de espécies já conhecidas e a alguns resultados de experimentos no controle de pragas.

4.4.2. Biologia

Steinernema e *Heterorhabditis* são gêneros de nematóides entomopatogênicos encontrados freqüentemente no solo ou infectando insetos, em diversas regiões do mundo (HOMINICK, 2002). No solo, esses nematóides são encontrados na fase de juvenis infectivos de terceiro estágio, forma responsável pela busca e infecção do hospedeiro. Nessa fase o nematóide não se alimenta, podendo resistir por um bom tempo as ações do intemperismo (GLAZER, 2002). 12 Esses agentes de controle carregam bactérias altamente patogênicas a insetos, em seu trato digestório, numa associação mutualística em que o nematóide, ao penetrar em um hospedeiro pelas aberturas naturais, tais como o ânus, boca e espiráculos ou pelo tegumento, e invadir seu hemocele, liberam a bactéria que causa septicemia no inseto entre 24 e 48 horas (FERRAZ, 1998). O nematóide se alimenta da

bactéria e tecidos do hospedeiro, se reproduzindo entre 2 a 3 gerações. Com a exaustão dos nutrientes, o nematóide emerge do cadáver como juvenil infectivo para a procura de novos hospedeiros.

O ciclo de vida para a maioria dos esteinernematídeos e heterorabditídeos, da infecção à emergência dos juvenis infectivos, varia de 7 a 10 e 12 a 15 dias, respectivamente, em temperatura ambiente (EHLER, 2001).

4.4.3. Efeito da dosagem no controle da mosca-dos-fungos

A avaliação de dosagem de NEP contra a mosca-dos-fungos é um passo crucial para determinação daquela mais adequada que resulte maior eficiência à um melhor custo. Gouge & Hague (1995b) e Lindquist & Piatkowski (1993), usando concentrações de *S. feltiae* relativamente altas, de $7,8 \times 10^5$ JI/m² e $8,86 \times 10^5$ JI/m², respectivamente, obtiveram mais de 92% de controle de *Bradysia pupera*. Por outro lado, Jagdale et al. (2004), aplicando somente $2,5 \times 10^5$ JI de *S. feltiae*/cm², obtiveram 100% de controle de *B. coprophila*, e Harris et al. (1995), usando a mesma dose de *S. feltiae*, obtiveram 80% de controle.

4.4.4. Métodos de aplicação

Embora os nematóides necessitem ser aplicados em suspensão aquosa sobre o substrato, a pulverização sobre as plantas é conveniente e comumente utilizada no controle da mosca-dos-fungos infestando vasos e bandejas contendo plântulas recém germinadas, antes da realização do transplante. Considerando que não há retenção dos nematóides sobre as folhas, a pulverização ou irrigação de água sobre as plântulas é o método mais adequado para retirar os nematóides das folhas e arrastá-los para os substratos. Gotejar os nematóides com o auxílio de um sistema central de capilaridade parece ser menos adequado devido a agregação dos JIs decorrente do lento fluxo da suspensão dentro dos tubos. As curtas

distâncias percorridas pelos nematóides dentro dos vasos tornam necessária a aplicação dos agentes por meio de pulverizações ou distribuições visando melhorar os níveis de controle, embora adultos infectados podem ocasionalmente ajudar na dispersão do nematóide para substratos não tratados (GOUGE & HAGUE, 1995b).

4.4.5. Suscetibilidade dos diferentes estágios da mosca-dos-fungos aos nematóides

A aplicação do nematóide deve ser realizada sincronicamente em momento que predomine o estágio mais suscetível do inseto no substrato, principalmente se o nematóide tiver baixa persistência no substrato. Os estágios de segundo e quarto instares larvais de *B. coprophila* foram significativamente mais suscetíveis à *S. feltiae* do que o estágio de pupa (HARRIS et al., 1995). Já para a espécie *Bradysia agrestis* (Sasakawa), os estágios de terceiro e quarto instares foram altamente suscetíveis à *S. carpocapsae* Pocheon strain (KIM et al., 2004). Portanto, para suprimir a população da mosca-dos-fungos nos cultivos protegidos e mantê-la abaixo do nível de dano econômico, as aplicações de nematóides devem ser realizadas quando predominam os estágios de segundo, terceiro e quarto instar.

Jagdale et al. (2004) obtiveram o melhor resultado de controle da mosca-dos-fungos (*B. coprophila*) pelo *S. feltiae*, em cultivo protegido de poinsetia, quando o nematóide foi aplicado 16 dias após o transplante, no momento em que iniciava a infestação pelo inseto e quando as suas larvas encontravam-se no 4º ínstar, tido como o estágio mais suscetível ao nematóide.

4.4.6. Efeito do ambiente sobre nematóides entomopatogênicos no controle de *Bradysia*

4.4.6.1. Efeito do Substrato

O substrato usado no cultivo protegido pode ser um fator importante na sobrevivência e infectividade dos NEPs (OETTING & LATIMER, 1991). Os JIs de *S. feltiae* procuraram ativamente as larvas do ciarídeo e persistiram no substrato por mais de 60 dias quando foram aplicados na superfície do solo ou do composto orgânico (GOUGE & HAGUE, 1994; GOUGE & HAGUE, 1995a). O nematóide *S. feltiae* aplicado no substrato ball mix (casca de pinus), metro-mix (30-40% fibra de coco, 20-30% de vermiculita, 20-30% casca de pinus, 10-20% de perlite) e pro-mix (75-85% de esfagno turfoso e 15-20% de perlite, vermiculita e pedra lime) reduziu igualmente a população de *B. coprophila* em 40%, 50% e 56%, respectivamente (JAGDALE et al., 2004). No entanto, a aplicação do nematóide em substrato de viveiro (casca de pinus 3: casca de madeira dura 1: turfa 1) resultou em somente 27% de redução na população da mosca-dos-fungos. A contínua decomposição da casca de madeira-dura ao longo do período de crescimento da planta aumentou a capacidade de retenção de água e reduziu a porosidade do ar, o que proporcionou um aumento na população da mosca-dos-fungos e suprimiu a população de nematóides entomopatogênicos. Portanto, a baixa eficiência de nematóides contra a mosca-dos-fungos em condições de viveiro verificado por Jagdale et al. (2004) pode ser devido ao ambiente desfavorável para *S. feltiae*. Ainda, a adição de perlite (rocha vítrea de origem vulcânica) no substrato de crescimento ou o uso de perlite isoladamente como substrato pode afetar adversalmente a eficiência dos NEPs (TOMALAK et al., 2005). Isso pode ser devido as pontas agudas das partículas de perlite que causam injúrias e matam os JIs que estejam em movimento.

4.4.6.2. Efeito da Planta hospedeira

Tem sido verificado que a planta hospedeira pode interferir na infestação/colonização dos substratos pela mosca-dos-fungos e também na eficiência do *S. feltiae*. Jagdale et al. (2004) verificaram que poinsetia tolerou significativamente maior população das moscas-dos-fungos comparado a impatiens. Eles também verificaram que a eficiência de *S. feltiae* contra o inseto foi maior em impatiens do que poinsetia. Ainda, a eficiência de diferentes nematóides em diferentes concentrações foi dependente do tipo de planta hospedeira. Os nematóides aplicados na dose de $1,25 \times 10^5$ JIs/m² causaram reduções na população do inseto de 55% em impatiens e somente 18% em poinsetia, aos 30 dias da aplicação. Quando aplicados na dose de $2,5 \times 10^5$ JIs/m², a redução foi de 41% em impatiens e somente 20% em poinsetia, aos 12 dias da aplicação. Considerando que as espécies de plantas podem interferir nas propriedades químicas e físicas do substrato (ARGO, 1998), a baixa eficácia dos nematóides em poinsetia pode ter sido causada, provavelmente, pelas condições desfavoráveis nas raízes das plantas (TOMALAK et al., 2005).

4.4.6.3. Temperatura

A eficiência de nematóides em cultivos protegidos é geralmente dependente da temperatura e da espécie do nematóide. O nematóide *S. feltiae* é uma espécie adaptada à temperaturas mais frias, com infecções ocorrendo na faixa de 8°C a 30°C, e reprodução entre 10°C e 25°C (GREWAL et al., 1994). Em temperaturas mais elevadas o nematóide é geralmente afetado na sua persistência e reprodução, o que pode limitar bastante o seu uso em cultivos protegidos onde a temperatura pode exceder os 30°C durante o verão. Segundo Gouge & Hague (1994), *S. feltiae* testado contra a mosca-dos-fungos em cultivo protegido apresentou-se menos eficiente quando a temperatura do solo permaneceu acima de 25°C por períodos prolongados, o que levaram os autores a recomendar o uso do nematóide em condições com temperatura na faixa de 15°C a 26°C, para obter melhores resultados. Em

outro estudo, os nematóides *Heterorhabditis* spp., *S. anomali* e *S. riobrave*, os quais são adaptados a temperaturas mais quentes, proporcionaram melhores resultados comparados ao *S. feltiae* na temperatura de 30°C (GOUGE & HAGUE, 1995b). Em teste realizado por Jagdale et al. (2004), o nematóide *S. feltiae* proporcionou níveis de mortalidade do inseto significativamente maiores sob condição de temperatura mais amena ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), dentro de câmara refrigerada (73-80% de mortalidade), do que sob condição de temperatura mais elevada ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), dentro de casa de vegetação (34-41% de mortalidade).

Nos EUA, os nematóides *H. bacteriophora* (isolado GPS 11), *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David 1992, *Heterorhabditis zealandica* Poinar, 1990 e *S. carpocapsae* foram comparados com o *S. feltiae* na mortalidade da mosca-dos-fungos, dentro de uma câmara com temperatura oscilando na faixa de 22°C a 29°C, procurando assim selecionar um nematóide mais adequado para o controle do inseto em condições mais quentes, em casa de vegetação (JAGDALE & GREWAL, 2003, citados por TOMALAK et al., 2005). Os nematóides *H. bacteriophora* (GPS 11) e *H. indica* foram significativamente mais eficientes, contra a espécie *B. coprophila* em cultivo de poinsetia.

CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS,
CONTRA A MOSCA-DOS-FUNGOS, *Bradysia mabiui* (DIPTERA: SCIARIDAE)

Avaliação de Isolados de Nematóides Entomopatogênicos, contra a Mosca-dos-Fungos, *Bradysia mabiusi* (Diptera: Sciaridae)

FERNANDO MARTINS TAVARES^{1,2,*}; ANTONIO BATISTA FILHO¹; LUÍS GARRIGÓS LEITE¹, GABRIEL MARTINS TAVARES¹

¹ Lab. de Controle Biológico, Centro Experimental Central, Rod. Heitor Penteado, km 3, Jardim das Palmeiras, 13001-970, CP: 70, Campinas, SP, Brazil.

² Depto. de Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agronômicas – UNESP, 18610-307, Botucatu, SP, Brazil, e-mail: steinerfer@hotmail.com.

* Bolsista CAPES.

Resumo – Tavares, F.M.; Batista Filho, A.; Leite, L.G.; Tavares, G.M. 2009. Avaliação de Isolados de Nematóides Entomopatogênicos contra a Mosca-dos-Fungos, *Bradysia mabiusi* (Diptera: Sciaridae).

Nematóides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* vem sendo utilizados para o controle de mosca-dos-fungos em diversos países. Esse estudo teve por objetivo avaliar diferentes isolados de NEPs (nas dosagens 10, 25 e 50 JI/cm²) (JI=juvenis infectivos), contra larvas de *Bradysia mabiusi*, confinadas em potes contendo substrato. Um teste foi realizado para avaliar a patogenicidade do *Heterorhabditis indica* contra larvas de *B. mabiusi* em infestação espontânea do inseto. Nos testes de seleção de isolados, o nematóide *H. indica* apresentou melhor desempenho comparado a todos os demais isolados, proporcionando mortalidade do inseto de até 98%. Já na infestação espontânea, o nematóide *H. indica* proporcionou reduções na população do inseto de 50% a 70%, nas doses de 10 a 50 JI/cm².

Summary - Tavares, F.M.; Batista Filho, A.; Leite, L.G.; Tavares, G.M. 2009.. Evaluation of Entomopathogenic Nematodes Strains against *Bradysia mabiusi* (Diptera: Sciaridae).

Entomopathogenic nematodes (EPNs) of the genus *Heterorhabditis* and *Steinernema* have been use against the fungus gnat in several countries. This study aimed to evaluate different strains of EPNs (10, 25 and 50 IJ/cm²) against larva of *Bradysia mabiusi* held inside pots containing substrate. A last experiment was done to evaluate the virulence of *Heterorhabditis indica* against larva of *B. mabiusi* under spontaneous infestation of the insect. At the screening of EPNs, the nematode *H. indica* showed better performance compared to the other nematodes, providing up to 98% mortality of the insect. For the spontaneous insect infestation, *H. indica* provided reduction of the insect population from 50% to 70% at doses of 10 to 50 IJ/cm².

Introdução

Mosca-dos-fungos (Fungus gnats), *Bradysia* (Sciaridae), é uma das principais pragas que ocorrem em cultivos protegidos (Gallo *et al.*, 2002). No Brasil, este inseto danifica principalmente a produção de ornamentais e causa grandes prejuízos também em mudas de diversas culturas, tais como; citros, fumo, morango entre outros (Paiva, 2004; Radin *et al.*, 2006).

A fase adulta do inseto é responsável pela transmissão de fitopatógenos e a fase larval danifica o sistema radicular, devido a alimentação, causando lesões e facilitando a entrada de patógenos na raiz, dentre eles, *Pythium* e *Fusarium* (Leath & Newton, 1969; Graham & McNeill, 1972).

Diversas espécies ocorrem no Brasil, sendo que a espécie *Bradysia mabiusi* é relatada ocorrendo no município de Holambra, SP, principal região produtora de plantas ornamentais nesse país (Leite *et al.*, 2007), sendo identificada pelo pesquisador Dalton de Souza Amorim, taxonomista da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Até o momento, nenhum produto químico ou biológico foi registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com o objetivo de controlar este inseto (MAPA, 2009).

Uma das principais alternativas para o controle da praga, e que já vem sendo utilizada no controle de *Bradysia* spp., estando disponível em países da América do Norte e Europeu, é o uso de nematóides entomopatogênicos (BECKER UNDERWOOD, 2009).

Esses agentes possuem a capacidade de buscar o hospedeiro em ambientes crípticos, penetrando no inseto e liberando uma bactéria simbiote que causa septicemia do hospedeiro num período de 24 a 72 horas (FERRAZ, 1998).

Como as larvas de *B. mabiusi* são encontradas no substrato atacando o sistema radicular, o uso de nematóides entomopatogênicos poderia ser uma alternativa para o controle da praga, sendo que o estudo de seleção de isolados é uma etapa fundamental e para determinar qual isolado de nematóide teve ser utilizado no controle e manejo de um inseto (Stuart *et al.*, 2004).

Em função disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a patogenicidade de nematóides entomopatogênicos contra *Bradysia mabiusi*, em condições de laboratório.

Material e Métodos

No estudo foram utilizados os nematóides pertencentes a Coleção de Nematóides Entomopatogênicos, do Banco de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, depositado ao Instituto Biológico, SP (Tabela 1). Os experimentos foram realizados nas dependências do laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, sediado em Campinas, SP.

Tabela 1. Identificação e procedência dos isolados de nematóides entomopatogênicos.

Identificação	Gênero/Espécie	Origem	Local
IBCB n-5	<i>Heterorhabditis indica</i>	Cultivo de Citros	Itapetininga, SP
IBCB n-6	<i>Steinernema brasiliensis</i> .	Reserva Natural	Porto Murtinho, MT
IBCB n-10	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Cultivo de Manga	Santa Fé do Sul, SP
IBCB n-13	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Seringal	Pindorama, SP
IBCB n-21	<i>Steinernema feltiae</i>		USA
IBCB n-25	<i>Steinernema</i> sp.	Reserva Natural	Mogi Guaçu, SP
IBCB n-31	<i>Steinernema</i> sp.	Pastagem	Santa Adélia, SP
IBCB n-34	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Solo de Formigueiro	Pouso Alegre, MG

Os nematóides foram multiplicados em lagartas de 3º e 4º instar *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae), criadas conforme metodologia adaptada descrita por Machado (1988). Os nematóides foram multiplicados nos insetos, utilizando-se placas de Petri, contendo papel filtro no fundo, no qual se adicionou 2 mL de suspensão contendo aproximadamente 500 JI. Logo em seguida, em cada placa foi colocado 10 insetos e após 10 dias os insetos mortos pelos nematóides foram transferidos para armadilhas modificadas de White (White, 1927). Os nematóides foram armazenados à 15°C, no escuro, por um período de 10 dias, antes de serem usados em cada experimento.

As larvas de *B. mabiusi* foram obtidas de criação em laboratório. Adultos de *B. mabiusi* foram coletados em cultivos protegidos na empresa Interplant, Holambra, SP, e depois transportados ao laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, onde foram criados dentro de gaiolas plásticas transparente (1 m de altura, 40cm de largura e 60cm de comprimento), contendo 60 potes de plástico (350 mL) preenchidos com o substrato orgânico comercial Vivatto Pro® (Technes Agrícola Ltda). As larvas do inseto foram alimentadas com micélio do fungo shiitake (*Lentinula edodes*), que foi adicionado na superfície do substrato ou levemente enterrado no mesmo. Dentro das gaiolas foram colocados cerca de 50 adultos, e o

substrato foi irrigado diariamente, mantendo-se levemente umedecido. Após cinco semanas, eram obtidas cerca de 400 larvas por pote.

Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos contra larvas de *Bradysia mabiusi*.

Foram conduzidos dois experimentos com o objetivo de avaliar a ação dos nematóides sobre larvas de *B. mabiusi*. No primeiro foram avaliados os nematóides pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*, isolados IBCB n-10, IBCB n-13 e IBCB n-34. Já no segundo, foram avaliados os nematóides do gênero *Steinernema*; isolados IBCB n-6, IBCB n-25 e IBCB n-31. Em ambos os casos a testemunha foi representada por água destilada. Os nematóides foram avaliados na dosagem de 10 JI/cm², quantidade equivalente a dosagem de 1 x 10⁹ JI/hectare. Foram considerados 7 repetições por tratamento, formadas por potes de plástico (9cm de diâmetro por 4 cm de altura) contendo .50g de substrato Vivatto Pro[®] e 15 g de micélio do fungo shiitake. Em cada repetição foi colocada 20 larvas (2º ao 4º instar) de *B. mabiusi*. Os tratamentos foram suspensos em água e aplicados com auxílio de pipeta plástica na quantidade de 1 mL/pote. Cada pote foi colocado no interior de um recipiente de plástico (15 cm de diâmetro por 20 cm de altura), o qual foi fechado e acondicionado em câmara com temperatura, umidade relativa e luminosidade controlada (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10%, fotofase=12 horas). O experimento foi irrigado a cada 2 dias, tentando-se manter o substrato umedecido. Para permitir aeração dos recipientes foram feitas duas perfurações laterais (5 x 5 cm), sendo vedadas com tela de nylon. Para avaliação do experimento foi colocado na parte superior dos recipientes uma fita adesiva amarela, o que permitiu a captura dos insetos já na fase adulta. A avaliação foi feita 15 dias após a aplicação dos tratamentos, contando-se o número de insetos adultos emergentes.

Comparação de *Heterorhabditis indica*, com *Heterorhabditis* sp. IBCB n-34 e com *Steinernema feltiae* na mortalidade de *Bradysia mabiusi*.

Teste com Infestação Artificial 1. Avaliou-se diferentes dosagens do nematóide *Heterorhabditis indica*, espécie já avaliada no controle de *Bradysia difformis* (Jagdale et al., 2007) e *Heterorhabditis* sp. IBCB n-34, isolado que se destacou no teste de seleção, contra larvas de *B. mabiusi*. As dosagens foram de 10, 25 e 50 JI/cm². A metodologia foi a mesma utilizada para o experimento de patogenicidade.

Teste com Infestação Artificial 2. Avaliou-se o efeito de diferentes dosagens de *H. indica* e de *Steinernema feltiae*, contra larvas de 2º e 4º instar de *B. mabiusi*. No experimento foram considerados 5 tratamentos, representados pelos nematóides nas dosagens de 25 e 50 JI/cm² e pela testemunha. Para cada tratamento foi utilizado 4 repetições, sendo que em cada repetição foi utilizado 10 larvas. O restante da metodologia foi a mesma da utilizada para o experimento de patogenicidade.

Teste em Infestação Natural da Mosca-dos-Fungos. Após a realização do estudo de comparação dos isolados, *H. indica* foi testado nas dosagens de 10, 25 e 50 JI/cm², contra larvas de *B. mabiusi*. Diferentemente dos experimentos anteriores, nesse teste os potes de plástico, contendo substrato e micélio de shiitake, foram colocados nas gaiolas de criação, para permitir a ovoposição dos adultos nos potes. Os potes foram irrigados a cada 2 dias. Após 14 dias, foi aplicado os tratamentos nas mesmas condições do experimento de seleção. Posteriormente, com 21 dias da instalação do experimento cada pote foi colocado no interior de um recipiente plástico (15 cm de diâmetro por 20 cm de altura), o qual foi fechado e acondicionado em câmara com temperatura, umidade relativa e luminosidade controlada (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10%, fotofase=12horas). Para permitir aeração dos recipientes foram feitas duas perfurações laterais (5 x 5 cm), sendo vedadas com tela de nylon. Para avaliação do experimento foi colocado na parte superior dos recipientes fitas adesiva amarela, o que

permitiu a captura dos insetos já na fase adulta. A avaliação foi feita 15 dias, após a colocação dos potes nos recipientes, contando-se o número de insetos adultos emergentes.

Análise Estatística. O experimento foi conduzido com delineamento em blocos casualizados. Os dados foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância, comparando-se as médias pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados e Discussões

Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos contra larvas de *Bradysia mabiusi*.

Todos os isolados de *Heterorhabditis* avaliados causaram mortalidade corrigida superior a 35%, demonstrando efeitos patogênicos para o inseto. *Heterorhabditis* sp. IBCB n-34 proporcionou a maior mortalidade corrigida, superior a 65%, diferindo significativamente dos demais isolados e da testemunha quanto a mortalidade real ($F=27,529$; $gl=3,24$; $P < 0,001$) (Figura 1). No experimento com os isolados de *Stenernema*, não houve diferença significativa nas médias de mortalidade obtidas com esses nematóides e a testemunha ($F=0,415$; $gl=3,24$; $P=0,744$) (Figura 2).

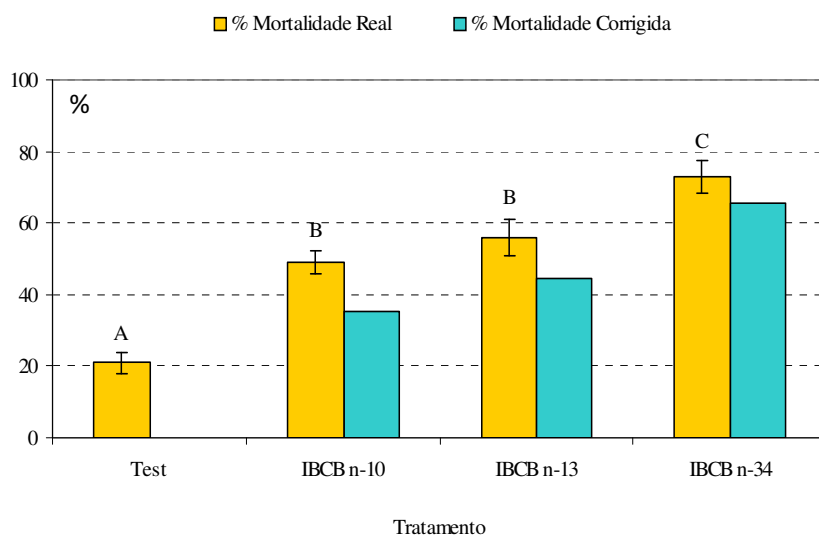


Figura 1. Mortalidade de larvas de *Bradysia mabiusi* expostos diferentes isolados de nematóides do gênero *Heterorhabditis* (isolados IBCB-n10, IBCB-n13 e IBCB-n34) ($10\text{II}/\text{cm}^2$), em laboratório ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas). Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

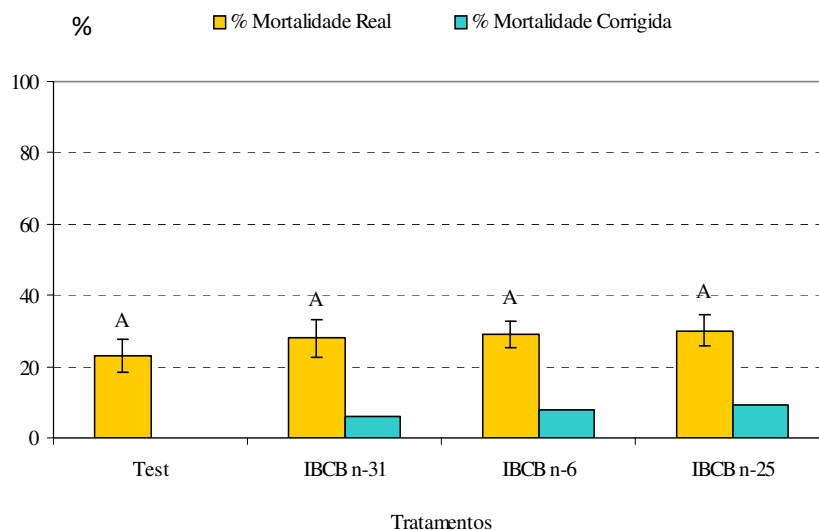


Figura 2. Mortalidade de larvas de *Bradysia mabiusi* expostos diferentes isolados de nematóides do gênero *Steinernema* (isolados IBCB-n6, IBCB-n25 e IBCB-n31) (10JI/cm²), em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas). Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

Para o teste com *Heterorhabditis* foram encontradas algumas pupas de *B. mabiusi* infectadas pelos nematóides, o mesmo sendo verificado por Harris *et al.* (1995) em experimento realizado contra *Bradysia coprophila*, utilizando-se o nematóide *S. feltiae*. Os autores destacam que as pupas são menos suscetíveis aos nematóides, se comparadas com larvas de segundo e quarto instar.

Esses dados demonstram que larvas da mosca-dos-fungos podem ser suscetíveis a nematóides entomopatogênicos, quando analisamos os isolados de *Heterorhabditis*. Essa suscetibilidade já vem sendo demonstrada para a espécie *H. indica* contra *Bradysia difformis* (Jagdale *et al.*, 2007).

No teste com isolados de *Steinernema* spp., os resultados sugerem não haver nenhum efeito patogênico dos agentes para larvas de *B. mabiusi*. Isso pode estar relacionado com o maior tamanho dos nematóides testados desse gênero (superior a 1284 µm) e, conseqüentemente,

maior dificuldade para penetração nas larvas do inseto. Em contra partida, o nematóide *S. feltiae* tem se apresentado virulento para *Bradysia* spp. e vem sendo utilizado com sucesso no controle desse inseto em diversos países (Harris *et al.*, 1995; Gouge & Hague, 1995; Jagdale *et al.*, 2004; BECKER UNDERWOOD, 2009), sendo um dos motivos para isso o seu tamanho relativamente pequeno (880 µm) para os padrões desse gênero. Scheepmaker *et al.*, (1998) também ressaltaram que o tamanho dos nematóides pode interferir na sua capacidade de penetração no hospedeiro, tendo justificado resultados insatisfatórios na mortalidade de larvas de *Magaselia halterata* inoculadas com o nematóide *S. feltiae* pelo fato do nematóide ser maior que as aberturas naturais do inseto.

Comparação de *Heterorhabditis indica* com *Heterorhabditis* sp. IBCB n-34 e com *Steinernema feltiae* na mortalidade de *Bradysia mabiusi*. Na comparação de *H. indica* com *Heterorhabditis* sp. IBCB n34, os dois nematóides diferiram significativamente da testemunha nas três dosagens ($F=36,586$; $gl=6,42$; $P<0,001$), indicando o efeito patogênico para o inseto (Figura 3). Não houve diferença significativa entre os dois nematóides na menor ($F=36,586$; $gl=6,42$; $P=0,087$) e maior dosagem ($F=36,586$; $gl=6,42$; $P=0,103$), no entanto o nematóide *H. indica* proporcionou maior mortalidade do inseto nas três dosagens confirmando sua maior virulência para larvas (Figura 3).

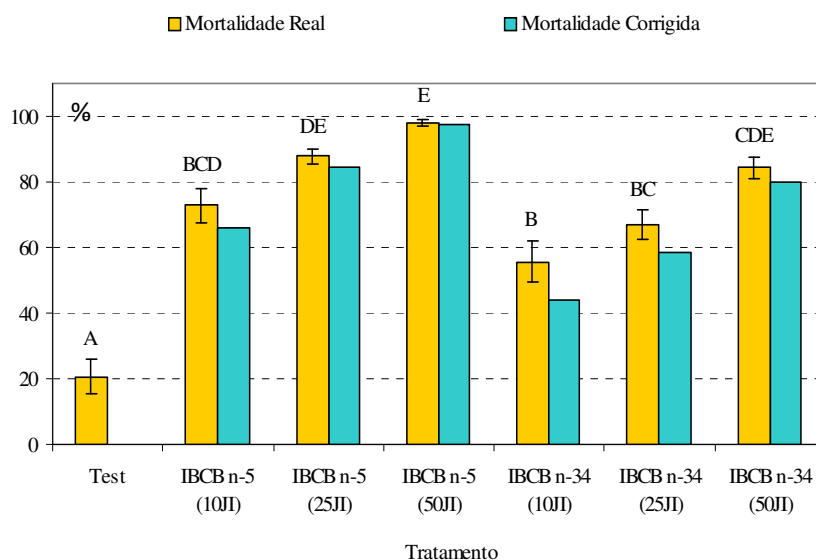


Figura 3. Mortalidade de larvas de *Bradysia mabiusi* expostos a *Heterorhabditis indica* e *Heterorhabditis* sp. (IBCB n-34), nas dosagens de 10, 25 e 50 JI/cm², em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas). Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

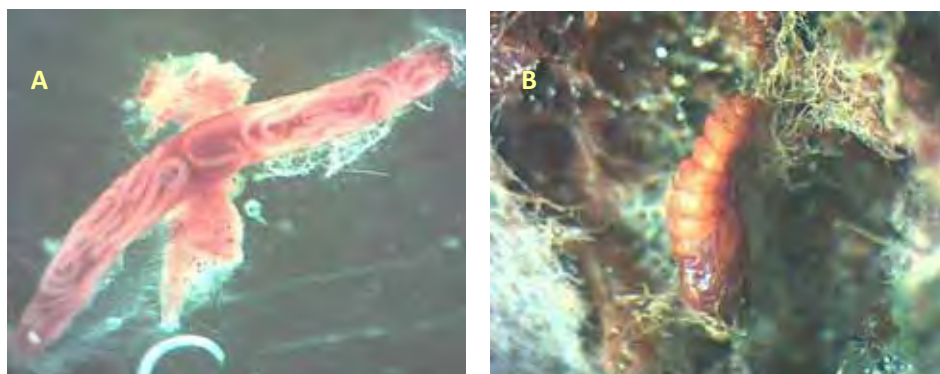


Figura 4. (A) Adultos de *Heterorhabditis indica* no interior da larva de *Bradysia mabiusi*. (B) Pupa de *Bradysia mabiusi* infectada pelo nematóide *Heterorhabditis indica* (IBCB n-05)

Na comparação de *H. indica* com *S. feltiae*, os dois nematóides diferiram significativamente da testemunha nas duas dosagens, indicando o efeito patogênico para o inseto (Figura 5). O nematóide *H. indica* apresentou-se ligeiramente mais virulento, tendo diferenciado significativamente do *S. feltiae* apenas na menor dosagem ($F=44,552$; $gl=4,15$; $P<0,001$).

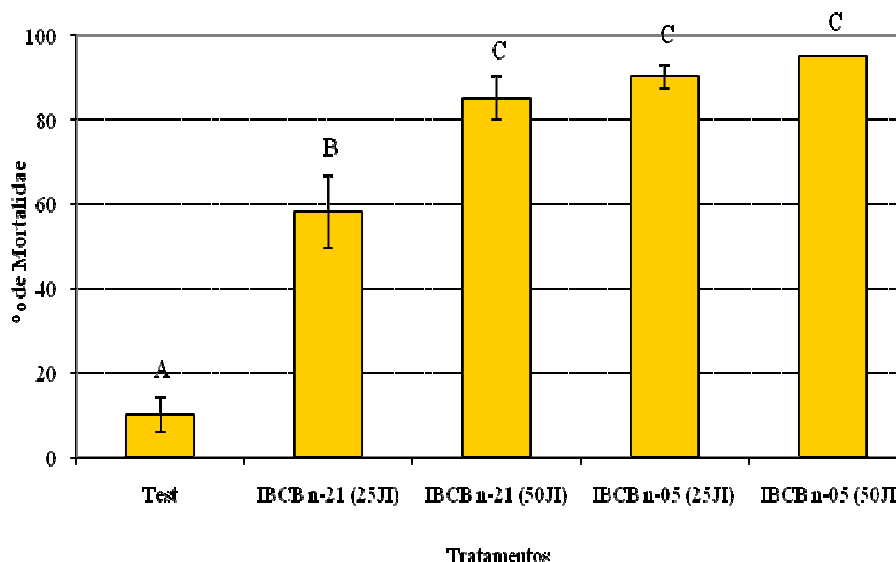


Figura 5. Mortalidade de larvas de *Bradysia mabiusi* expostos a *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, nas dosagens de 25 e 50 JI/cm², em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas). Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

Portanto, o nematóide *H. indica* apresenta-se bastante virulento para larvas do inseto o que confirma os resultados dos testes anteriores e demonstra o potencial desse agente para uso comercial contra a mosca dos fungos. Com relação ao nematóide *S. feltiae*, apesar de apresentar-se menos virulento ao inseto nesse estudo, o mesmo já vem sendo utilizado com sucesso para o controle da mosca dos fungos nos EUA e Europa, proporcionando níveis de controle variando de 51 a 94% (Gouge & Hague, 1995). Uma provável explicação para o sucesso no uso do *S. feltiae* nessas regiões deve a sua maior adaptação a climas amenos, sendo um nematóide mais encontrado em regiões de clima temperado (Hominick, 2002). Já o nematóide *H. indica* é um organismo originado de regiões tropicais e subtropicais, tendo sido recomendado por Jagdale *et al.*, (2007) para o controle da mosca dos fungos em regiões de

climas mais quentes. Em estudo comparando *S. feltiae* com *H. indica*, Jagdale *et al.*, (2004) obtiveram melhores resultados com o primeiro nematóide na temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, e melhores com o segundo na temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$.

Teste em infestação espontânea da mosca-dos-fungos. No experimento realizado sob infestação espontânea do inseto, confirmou-se a virulência do *H. indica* para larvas do inseto nas três dosagens testadas, tendo o nematóide proporcionado redução na densidade do inseto superior a 50%, havendo diferença significativa entre as dosagens e a testemunha ($F=17,656$; $gl= 3,16$; $P<0,001$), mas não entre as dosagens ($F=17,656$; $gl= 3,16$; $P=0,162$) (Figura 6).

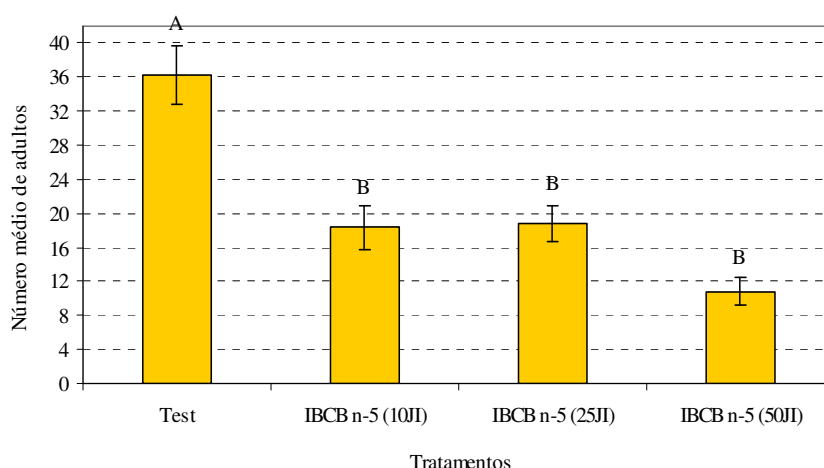


Figura 6. Número médio de adultos de *Bradysia mabiysi* emergentes dos potes tratados com *Heterorhabditis indica*, nas dosagens de 10, 25 e 50 JI/cm², em laboratório (infestação espontânea) ($T=25 \pm 1^\circ\text{C}$, $UR=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas). Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O teste sob infestação espontânea apresentou níveis de mortalidade do inseto nas dosagens de 10 e 25 JI/cm² inferiores àqueles sob infestação artificial, nas mesmas dosagens utilizadas nos demais testes. A menor mortalidade do inseto na infestação espontânea deve-se provavelmente a maior variação nas fases do inseto e a presença em maior número de fases

mais resistentes ao nematóide (1º e 2º instar e fase de pupa) nos potes tratados com o agente, sendo esse fato já verificado por Harris *et al.* (1995). Possivelmente, também pode estar relacionado ao menor manuseio dos insetos na infestação espontânea, resultando em menor estresse ao inseto e menor predisposição ao ataque do nematóide (Scheepmaker *et al.*, 1998).

O teste sob infestação espontânea pode apresentar condições mais próximas daquelas em cultivos comerciais e, conseqüentemente, gerar resultados mais próximos da realidade encontrada pelo agricultor. Dessa forma, os níveis de mortalidade do inseto variando de 50 a 70%, obtidas para as doses de 10 a 50 JI/cm², podem ser considerados bastante satisfatórios, numa avaliação inicial, já que no controle do inseto não há nenhum método atual que apresente resultados expressivos (Zanetti & Leite, 2004).

Literatura Citada

BECKER UNDERWOOD. Nemasys®. Disponível em: http://www.beckerunderwood.com/en/products/nemasys_BN Acesso em: 15 nov. 2009.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides Entomopatogênicos, p. 541-569. In S.B. ALVES (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1163p, 1998.

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

GOUGE, D.H.; HAGUE, N.G.M. Glasshouse control of fungus gnats, *Bradysia paupera*, on fuchsias by *Steinernema feltiae*. Fundamental and Applied Nematology, v. 18, p. 77-80, 1995.

GRAHAM, C.L.; MCNEILL, M.J. Soybean Crow and root damage by *Bradysia coprophila*. Journal of Economic Entomology, v. 65, n. 2, p. 597-599, 1972.

HARRIS, M.A.; OETTING, R.D.; GARDNER, W.A. Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. *Biological Control*, v. 5, n. 3, p. 412-418, 1995.

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

JAGDALE, G.B.; CASEY, M.L.; CAÑAS, L. GREWAL, P.S. Effect of entomopathogenic species, split application and potting medium on the control of the fungus gnats, *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae), in the greenhouse at alternating cold and warm temperatures. *Biological Control*, v. 43, p. 23-30, 2007.

LEATH, K.T.; NEWTON, R.C. Interaction of a fungus gnats, *Bradysia* sp. (Sciaridae) with *Fusarium* spp. On alfalfa and red clover. *Phytopathology*, v. 59, p. 257-258, 1969.

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; BUSSÓLA, R.A.; AMORIM, D.M.; AMBRÓS, C.M.; HARAKAWA, R. Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabdita) contra larvas da mosca-dos-fungos *Bradysia mabiusi* (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.* 1992, em substratos orgânicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 74, n. 4, p. 337-342, 2007.

MACHADO, L.A. Criação de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In B.B. CRUZ (ed.), *Pragas das Culturas e Controle Biológico*. Campinas, Fundação Cargill, p. 8-35, 1988.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: www.agricultura.gov.br, Acesso em: 20 out. 2009.

PAIVA, P.E.B. Mosca dos fungos: praga potencial de mudas cítricas em São Paulo. *Citricultura Atual*, v. 40, p. 18-19, 2004..

RADIN, B.; WOLFF, V.R.S.; LISBOA, B.B.; WITTER, S.; BARNI, V.; SILVEIRA, J.R.P. Mosquito do fungo: Uma nova praga no morango cultivado em estufa. Série Técnica Fepagro, n. 2, p. 1-12, 2006.

SCHEEPMAKER, J.W.A.; GEELS, F.P.; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D.; SMITS, P.H. Susceptibility of larvae of the mushroom fly *Megaselia halterata* to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in bioassays. Biocontrol, v. 43, p. 201-214, 1998.

STUART, R.J.; SHAPIRO-ILAN, D.I.; JAMES, R.R.; NGUYEN, K.B. MACCOY, C.W. Virulence of new and mixed strains of entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* to larvae of the citrus root weevil *Diaprepes abbreviates*. Biological Control, v. 30, p. 339-445, 2004.

TAVARES, F.M. BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; SILVA, A.C. AMBRÓS, C.M.G. Efeito de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Nemata: Rhabditida) sobre larvas do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera, Curculionidae), em laboratório e casa-de-vegetação. Nematologia Brasileira, v.31, n. 1, p. 12-19, 2007.

TAVARES, F.M. BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; GOULART, T.M. Efeitos sinérgicos de combinações de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) e inseticidas químicos na mortalidade de *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). Bioassay, v. 4, p. 1-10, 2009.

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

ZANETTI, M.; LEITE, L.G. Fungus gnat: disseminador de doenças fúngicas. Informativo Vivecitrus, n. 14, 5 p., 2004.

CAPÍTULO II

EFICIÊNCIA DE *Heterorhabditis indica* E *Steinernema feltiae* (NEMATA: HETERORHABDITIAE, STEINERNEMATIDAE) NO CONTROLE DA MOSCA-DOS-FUNGOS *Bradysia mabiusi* (DIPTERA: SCIARIDAE) EM CULTIVO PROTEGIDO DE *Chrysanthemum* sp.

Eficiência de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae* (Nemata: Heterorhabditidae, Steinernematidae) no Controle da Mosca-dos-Fungos *Bradysia mabiusi* (Diptera: Sciaridae) em Cultivo Protegido de *Chrysanthemum* sp.

FERNANDO MARTINS TAVARES^{1,2,*}; ANTONIO BATISTA FILHO¹; LUÍS GARRIGÓS LEITE¹; ROBERTO ALÍPIO BUSSÓLA¹

¹ Lab. de Controle Biológico, Centro Experimental Central, Rod. Heitor Penteado, km 3, Jardim das Palmeiras, 13001-970, CP: 70, Campinas, SP, Brazil.

² Depto. de Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária, Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, 18610-307, Botucatu, SP, Brazil, e-mail: steinerfer@hotmail.com.

* Bolsista CAPES.

Resumo - Tavares, F.M.; Batista Filho, A.; Leite, L.G. & R.A. Bussóla. 2009. Eficiência de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae* no Controle de *Bradysia mabiusi*, na Cultura de *Chrysanthemum* sp.

Avaliou-se o efeito dos nematóides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, nas dosagens de 10, 50 e 100 JI/cm², no controle da mosca-dos-fungos *Bradysia mabiusi*, em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp. Para o estudo foram realizados 3 experimentos. Houve diferença significativa entre os tratamentos somente no terceiro teste, entretanto, nos três testes os nematóides demonstraram uma tendência de redução na população do inseto, em função do aumento das dosagens, o que sugere o efeito dos agentes no controle do inseto. Da mesma forma, em todos os testes, o nematóide *H. indica* apresentou maior redução na população da mosca-dos-fungos que o *S. feltiae*, confirmando sua maior eficiência com níveis de controle variando de 6 a 67,5% no primeiro ensaio, de 17 a 77,5% no segundo, e de 62,5 a 78,5% no terceiro. Os resultados revelam que *H. indica* apresenta potencial de uso para o controle da mosca-dos-fungos.

Abstract - Tavares, F.M.; Batista Filho, A.; Leite, L.G. & R.A. Bussóla. 2009. Efficiency of *Heterorhabditis indica* and *Steinernema feltiae* in the Control of *Bradysia mabiusi*, in Crop of *Chrysanthemum* sp.

The effects of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, at dosage of 10, 50 and 100 IJ/cm², were evaluated against the fungus gnat *Bradysia mabiusi* in commercial growth of *Chrysanthemum* sp., in greenhouse conditions. Three experiments were accomplished. There were significative difference among the treatments only for the third experiment, mean while, in the three tests, the nematodes showed a tendency of reduction on the insect population according to the dosage increase, which suggest the effect of the agents on the insect control. In addition, in all the tests, the nematode *H. indica* showed higher reduction on the insect population compared to the *S. feltiae*, confirming its higher efficiency with control levels ranging from 6 to 67,5% in the first test, from 17 to 77,5% in the second, and from 62,5 to 78,5% in the third. The data show that *H. indica* has potential use for the controlling of the fungus gnat.

Introdução

No Brasil, diversas espécies do gênero *Bradysia* (Diptera: Sciaridae) são responsáveis por causar danos nas plantas em sistema de cultivo protegido (Amorim, 1992; Paiva, 2004; Radin *et al.*, 2006). As larvas desse inseto alimentam-se de fungos, algas e matéria orgânica em decomposição, vivendo em ambientes úmidos e escuros (Leath & Newton, 1969; Kennedy, 1974). Com o estabelecimento do inseto no cultivo, a larva pode se alimentar do sistema radicular da planta, causando injúria nas raízes e consequentemente facilitando a entrada de patógenos de plantas, dentre eles *Pythium* e *Fusarium*, ocasionando perda na qualidade da produção, e em muitos casos morte da planta cultivada (Springer, 1995).

No município de Holambra, SP, principal região produtora de flores no Brasil, a espécie *Bradysia mabiusi* foi constatada em cultivos protegidos de plantas ornamentais (Leite *et al.*, 2007), sendo identificada pelo pesquisador Dalton de Souza Amorim, *taxonomista da Universidade de São Paulo, SP, Brasil*.

No controle desse inseto, nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* podem ser uma alternativa para o manejo do inseto, reduzindo sua incidência nos viveiros e melhorando a qualidade da produção. Em países da América do Norte e Europa, esses agentes têm sido amplamente comercializados, destacando-se o nematóide *Steinernema feltiae* para o controle de fungus gnats (Becker Underwood, 2009).

Esses nematóides são encontrados naturalmente no solo parasitando insetos de diferentes ordens, em diversas regiões do globo (Hominick, 2002). No Brasil, a ocorrência desses organismos já vem sendo registrada, com a descrição de uma nova espécie (Andaló *et al.*, 2006).

Tais nematóides possuem a capacidade de localizar seu hospedeiro no solo, infectando-o e liberando no seu interior uma bactéria simbiote, encontrada no seu trato digestório, que causa septicemia e a morte do inseto num período entre 24 e 72 horas (Ferraz, 1998).

Em função disso, o objetivo desse estudo foi avaliar a eficiência de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae* no controle de *Bradysia mabiusi* em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp.

Material e Métodos

Obtenção dos Nematóides. Os nematóides utilizados nos ensaios foram *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, os quais se encontram depositados na Coleção de Nematóides Entomopatogênicos, do Banco de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, pertencente ao Instituto Biológico, registrados como IBCB n-5 e IBCB n-21. Para a realização dos experimentos, os nematóides foram multiplicados em larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae), criadas conforme metodologia adaptada descrita por Machado (1988). Os nematóides foram armazenados à 15°C, no escuro, por um período de 10 dias, antes de serem usados em cada experimento.

Experimentos. Foram realizados três experimentos em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp., localizado no município de Holambra, SP, Brasil, visando avaliar diferentes dosagens dos nematóides *H. indica* IBCB n-5 e *S. feltiae* IBCB n-21, no controle de *B. mabiusi*. Para os experimentos foram considerados 7 tratamentos representados pelo nematóide *H. indica* nas dosagens de 10, 50 e 100 JI/cm², pelo nematóide *S. feltiae* nas dosagens 10, 50 e 100 JI/cm² e pela testemunha (água destilada). Os nematóides nas diferentes dosagens foram inoculados com auxílio de uma pipeta plástica em vasos (área de 132,66 cm²) cultivados com crisântemo (período de plantio e infestação – 2 semanas). Foram considerados 7 repetições para cada tratamento, sendo cada repetição representada por um vaso. Os vasos foram mantidos durante 3 dias na casa de vegetação sob o manejo habitual. Em seguida, os vasos foram retirados dos viveiros e transferidos para o laboratório, onde foram acondicionados em gaiolas (30cm de altura, por 15cm x 15cm de base) e mantidos dentro de câmara climatizada (T= 25 ± 1°C, UR= 70 ± 10% e fotofase de 12 horas). A avaliação da mortalidade dos insetos foi feita com base no número de adultos emergidos. Para facilitar a contagem foi colocada dentro de cada gaiola uma fita amarela auto-adesiva, de forma que os adultos eram atraídos pela coloração e fixados, facilitando a contagem. A avaliação decorreu após 18 dias da aplicação dos nematóides nos vasos.

Análise Estatística. O experimento foi conduzido com delineamento em blocos casualizados. Os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA), comparando-se as médias pelo teste de Tukey (P<0,05).

Resultados e Discussão

Segundo Shapiro-Ilan (2002), na avaliação de nematóides entomopatogênicos, são necessários 3 testes nas condições de campo/cultivo protegido para confirmar a sua eficiência no controle de pragas.

Nos estudos, houve diferença significativa entre os tratamentos somente no terceiro teste (Tabela 1, 2 e 3), entretanto, nos três testes os nematóides demonstraram uma redução na população do inseto, em função do aumento das dosagens, o que poderia sugerir o efeito dos agentes no controle do inseto. Da mesma forma, em todos os testes, o nematóide *H. indica* apresentou maior redução na população da mosca-dos-fungos que o *S. feltiae*, confirmando sua maior eficiência com níveis de controle variando de 6 a 67,5% no primeiro ensaio (Figura 1), de 37 a 77,5% no segundo (Figura 2), e de 62,5 a 78,5% no terceiro (Figura 3).

Tabela 1. Emergência de adultos (\pm Erro Padrão) de *Bradysia mabiusi*, de vasos de *Chrysanthemum* sp. tratados com os nematóides *Heterorhabditis indica* (IBCB-n5) e *Steinernema feltiae* (IBCB-n21) – Experimento 1, Holambra, SP, Brasil.

Tratamento	Média de Adultos*	
Testemunha	11 \pm 3,50	A
<i>H. indica</i> 10 JI/cm ²	11 \pm 2,15	A
<i>H. indica</i> 50 JI/cm ²	4 \pm 1,01	A
<i>H. indica</i> 100 JI/cm ²	3 \pm 0,99	A
<i>S. feltiae</i> 10 JI/cm ²	11 \pm 1,86	A
<i>S. feltiae</i> 50 JI/cm ²	11 \pm 5,64	A
<i>Steinernema feltiae</i> 100 JI/cm ²	7 \pm 2,16	A

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P 0,05).

Tabela 2. Emergência de adultos (\pm Erro Padrão) de *Bradysia mabiusi*, de vasos de *Chrysanthemum* sp. tratados com os nematóides *Heterorhabditis indica* (IBCB-n5) e *Steinernema feltiae* (IBCB-n21) – Experimento 2, Holambra, SP, Brasil.

Tratamento	Média de Adultos*	
Testemunha	13 \pm 3,39	A
<i>H. indica</i> 10 JI/cm ²	8 \pm 2,01	A
<i>H. indica</i> 50 JI/cm ²	4 \pm 1,14	A
<i>H. indica</i> 100 JI/cm ²	3 \pm 1,18	A
<i>S. feltiae</i> 10 JI/cm ²	13 \pm 4,24	A
<i>S. feltiae</i> 50 JI/cm ²	13 \pm 4,91	A
<i>S. feltiae</i> 100 JI/cm ²	5 \pm 1,73	A

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P 0,05).

Tabela 3. Emergência de adultos (\pm Erro Padrão) de *Bradysia mabiusi*, de vasos de *Chrysanthemum* sp. tratados com os nematóides *Heterorhabditis indica* (IBCB-n5) e *Steinernema feltiae* (IBCB-n21) – Experimento 3.

Tratamento	Média de Adultos*	
Testemunha	24 \pm 1,57	A
<i>H. indica</i> 10 JI/cm ²	9 \pm 1,63	BC
<i>H. indica</i> 50 JI/cm ²	9 \pm 1,60	BC
<i>H. indica</i> 100 JI/cm ²	5 \pm 0,86	C
<i>S. feltiae</i> 10 JI/cm ²	16 \pm 1,42	B
<i>S. feltiae</i> 50 JI/cm ²	14 \pm 2,70	B
<i>S. feltiae</i> 100 JI/cm ²	13 \pm 1,70	B

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P 0,05).

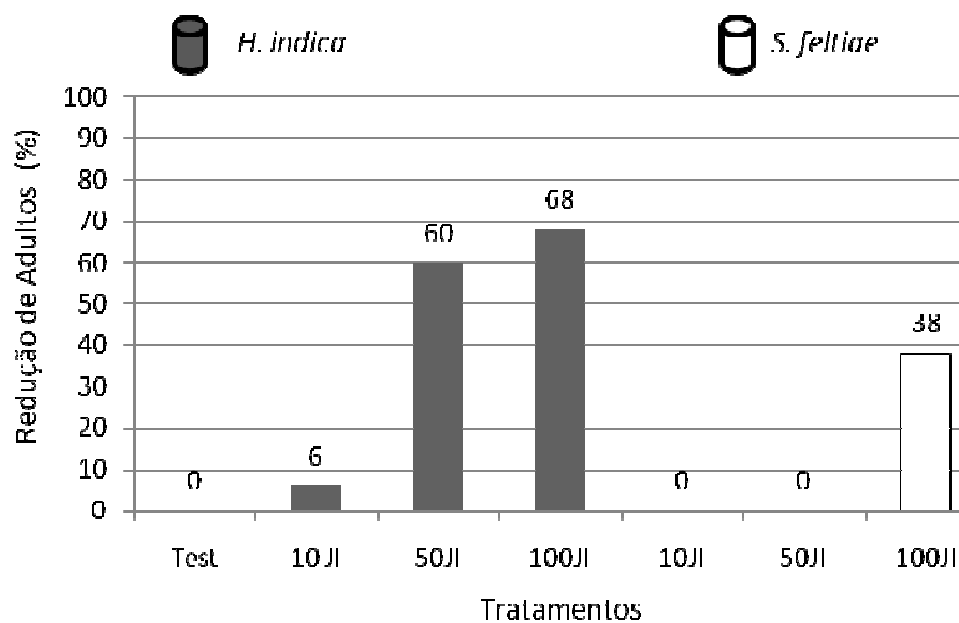


Figura 1. Porcentagem de adultos de *Bradysia mabiusi* emergentes de vasos tratados com *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, nas dosagens de 10, 50 e 100 JI/cm², em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp. Experimento 1, Holambra, SP, Brasil.

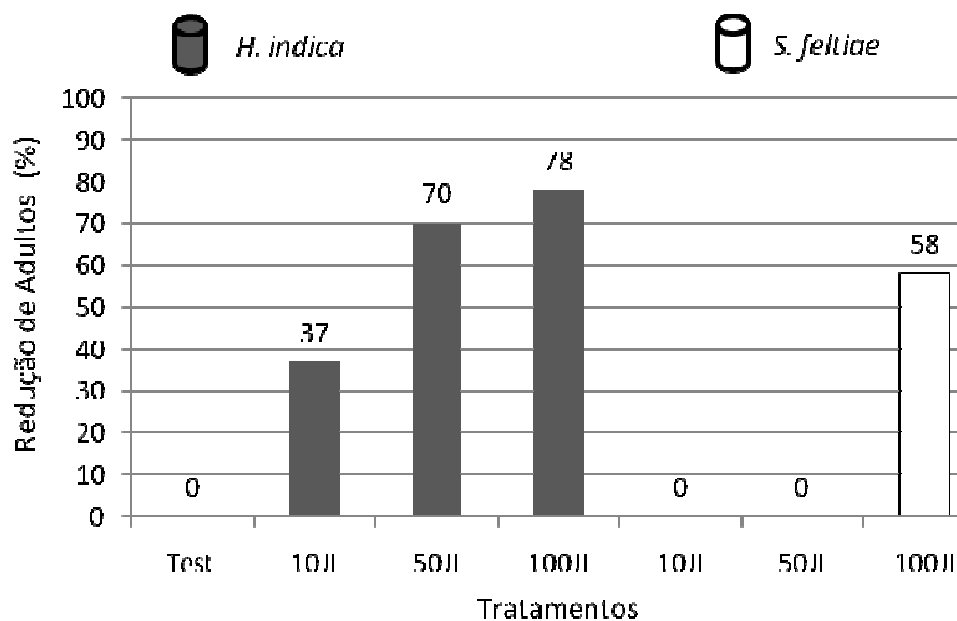


Figura 2. Porcentagem de adultos de *Bradysia mabiusi* emergentes de vasos tratados com *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, nas dosagens de 10, 50 e 100 JI/cm², em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp. Experimento 2, Holambra, SP, Brasil.

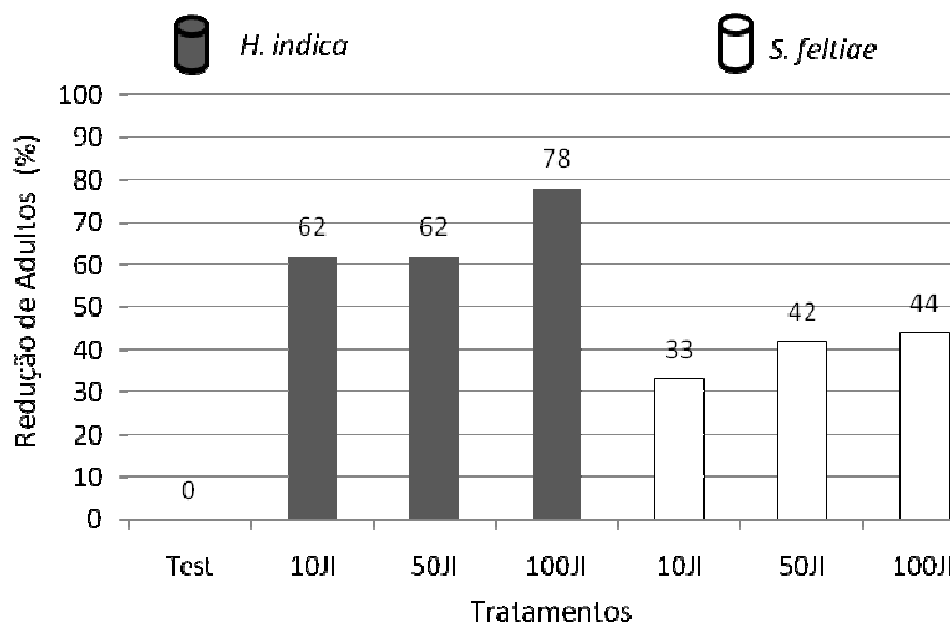


Figura 3. Porcentagem de adultos de *Bradysia mabiusi* emergentes de vasos tratados com *Heterorhabditis indica* e *Steinernema feltiae*, nas dosagens de 10, 50 e 100 JI/cm², em cultivo protegido de *Chrysanthemum* sp. Experimento 3, Holambra, SP, Brasil.

O nematóide *H. indica* apresentou-se mais eficiente que o *S. feltiae* provavelmente devido a sua maior patogenicidade para o inseto em temperaturas mais quentes como as registradas nos três testes em cultivos protegido, superando a marca dos 30°C. Jagdale *et al.* (2007) compararam o efeito desses dois nematóides no controle de *Bradysia difformis*, e verificaram que *H. indica* foi mais eficiente em temperaturas superiores a 29°C. Mais recentemente, a empresa BioControl Systems, Inc., Aurora, IN, EUA, lançou no mercado americano o nematóide *H. indica* para uso no controle de larvas do fungus gnat em condições de temperaturas mais elevadas (18 a 35°C), e vem comercializando também o *S. feltiae* para o controle desse mesmo inseto em condições de temperatura mais amena (10 a 29°C) (Grewal & Power, 2009). Jagdale *et al.* (2007) avaliaram a persistência de *H. indica* em cultivo protegido de poinsétia, e a eficiência do nematóide no controle de fungus gnats, obtendo mais de 50% de controle do inseto após 30 dias da aplicação na dosagem de 25 JI/cm².

Quanto ao *S. feltiae*, apesar de apresentar-se menos eficiente que o *H. indica*, o mesmo é um nematóide já usado comercialmente em diversos países para o controle da mosca dos fungos, existindo provavelmente isolados mais virulentos que o testado no presente estudo. Em casa de vegetação, Gouge & Hague (1995) avaliaram *S. feltiae* Filipjev na dosagem de 78 JI/cm² contra o fungus gnat *B. paupera* em cultivo de fuchsia sobre substrato composto, obtendo mais de 92% de eficiência; enquanto Lindquist & Piatkowski (1993) usaram 88,6 JI/cm² (10 nematóides a mais) dessa mesma espécie e obtiveram somente 50% de controle de *B. coprophila* Lintner em cultivo de milho sobre substrato Pro-mix. Da mesma forma, Harris *et al.* (1995) avaliaram *S. feltiae* na dosagem de 25 JI/cm² contra larvas de *B. coprophila* atacando plantas de poinsétia em substrato Metro-mix, e obtiveram mais de 80% de eficiência. Já Jagdale *et al.* (2004) obtiveram no máximo 66% de controle desse inseto infestando impatiens, 30 dias após a aplicação desse mesmo nematóide, na mesma dosagem. Esses autores concluíram que diversos fatores podem afetar a eficiência do *S. feltiae*, incluindo a temperatura do ambiente, o tipo de substrato, a espécie de planta atacada pelo inseto, o momento da aplicação do nematóide e também a dosagem aplicada.

De forma geral, houve um aumento na eficiência dos nematóides do primeiro para o terceiro teste, com maior evidencia na menor dose do nematóide *H. indica*. Esse aumento na eficiência esteve relacionado à um aumento nas populações do inseto presentes nesses

experimentos (densidades de 11, 13 e 24 insetos/vaso nas respectivas testemunhas), o que pode ter contribuído para um aumento na reposição do nematóide nos substratos decorrente de uma maior disponibilidade de insetos para reciclagem, resultando em melhores níveis de controle. O estudo sugere ocorrer um aumento na eficiência do nematóide em populações mais elevadas do inseto, o que se torna mais vantajoso para o agricultor. A reciclagem dos nematóides no ambiente também foi verificado por Tavares *et al.* (2007), quando avaliaram o nematóide *Steinernema* sp. (isolado IBCB n-6), contra larvas de *Sphenophorus levis*. Geralmente, os insetos demonstram ser uma importante fonte de inoculo para nematóides, contribuindo para um controle mais satisfatório da praga alvo e maior persistência no substrato (Kaya, 1990).

Com base no estudo o nematóide *H. indica* é mais eficiente que o *S. feltiae*, podendo proporcionar controle satisfatório da mosca-dos-fungos *B. mabiusi*. Novos estudos devem ser conduzidos em casa-de-vegetação, desenvolvendo-se novas metodologias que permitam avaliar o inseto no próprio local.

Literatura Citada

AMORIM, D.S. A catalogue of the family Sciaridae (Diptera) in the Americas South of the United States. Revista Brasileira de Entomologia, v. 36, p. 55-77, 1992.

ANDALO, V.; NGUYEN, K.B.; MOINO JR, A. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. Nematology, v. 8, p. 853-867, 2006.

BECKER UNDERWOOD. Nemasys®. Disponível em:
<http://www.beckerunderwood.com/en/products/nemasys_BN> Acesso em: 15 nov. 2009.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides Entomopatogênicos, p. 541-569. In S.B. ALVES (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1163p, 1998.

GOUGE, D.H.; HAGUE, N.G.M. Glasshouse controlo f fungus gnats, *Bradysia paupera*, on fuchsias by *Steinernema feltiae*. Fundamental and Applied Nematology, v. 18, p. 77-80, 1995.

GREWAL, P.S.; POWER, K. Commercial sources: Insect Parasitic Nematode. Disponível em: <http://www.oardc.ohio-state.edu/nematodes/nematode_suppliers.htm>. Acesso em: 02 nov. 2009.

HARRIS, M.A.; OETTING, R.D.; GARDNER, W.A. Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for controlo f fungus gnats, *Brasysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. Biological Control, v. 5, n. 3, p. 412-418, 1995.

HOMINICK, W.M. Biogeography. In: GAUGLER, R. (Ed.). Entomopathogenic Nematology. RutgersUniversity, New Jersey, p. 115-143, 2002.

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

JAGDALE, G.B.; CASEY, M.L.; CAÑAS, L. GREWAL, P.S. Effect of entomopathogenic species, split application and potting médium on the controlo f the fungus gnats, *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae), in the greenhouse at alternating cold and warm temperatures. Biological Control, v. 43, p. 23-30, 2007.

KAYA, H.K. Soil ecology. In GAUGLER, R.; KAYA, H.K. (eds.), Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Florida: Boca Raton, CRC Press, p. 93-115, 1990.

KENNEDY, M.K. Survival and development of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae) on fungal and non-fungal food sources. Annals of the Entomological Society of America, v. 67, n. 5, p. 745-749, 1974.

LEATH, K.T.; NEWTON, R.C. Interaction of a fungus gnats, *Bradysia* sp. (Sciaridae) with *Fusarium* spp. On alfafa and red clover. Phitopathology, v. 59, p. 257-258, 1969.

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; BUSSÓLA, R.A.; AMORIM, D.M.; AMBRÓS, C.M.; HARAKAWA, R. Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabdita) contra larvas da mosca-dos-fungos *Bradysia mabiusi* (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.* 1992, em substratos orgânicos. Arquivos do Instituto Biológico, v. 74, n. 4, p. 337-342, 2007.

LINDQUIST, R.K.; PIATLOWSKI, J. Evaluation of entomopathogenic nematodes control of fungus gnat larvae. IOBC/ WPRS Bulletin, v. 16, p. 97-100, 1993.

MACHADO, L.A. Criação de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In B.B. CRUZ (ed.), Pragas das Culturas e Controle Biológico. Campinas, Fundação Cargill, p. 8-35, 1988.

PAIVA, P.E.B. Mosca dos fungos: praga potencial de mudas cítricas em São Paulo. Citricultura Atual, v. 40, p. 18-19, 2004..

RADIN, B.; WOLFF, V.R.S.; LISBOA, B.B.; WITTER, S.; BARNI, V.; SILVEIRA, J.R.P. Mosquito do fungo: Uma nova praga no morango cultivado em estufa. Série Técnica Fepagro, n. 2, p. 1-12, 2006.

SPRINGER, T.L. Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedlings. Journal of the Kansas Entomological Society, v. 68, n. 2, p. 240-242, 1995.

SHAPIRO-ILAN, D.I.; GAUGE, D.H.; KOPPENHÖFER, A.M. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In: GAUGLER, R. (ed.), Entomopathogenic Nematology, Wallingford: CAB International, p. 333-355, 2002.

TAVARES, F.M. BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; SILVA, A.C. AMBRÓS, C.M.G. Efeito de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Nemata: Rhabditida) sobre larvas do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera, Curculionidae), em laboratório e casa-de-vegetação. Nematologia Brasileira, v.31, n. 1, p. 12-19, 2007.

5. CONCLUSÕES

- *Bradysia mabiusi* é suscetível a nematóides entomopatogênicos
- *Heterorhabditis indica* reduziu a emergência de adultos de *Bradysia mabiusi*, em laboratório, nas condições avaliadas.
- *Heterorhabditis indica* reduziu a emergência de adultos de *Bradysia mabiusi*, em casa-de-vegetação, nas condições avaliadas.

6. REVISÃO DE LITERATURA

ALVES, S.B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

AMORIM, D.S. A catalogue of the family Sciaridae (Diptera) in the Americas South of the United States. Revista Brasileira de Entomologia, v. 36, p. 55-77, 1992.

ANDALO, V.; NGUYEN, K.B.; MOINO JR, A. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. Nematology, v. 8, p. 853-867, 2006.

ARGO, W.R. Root medium chemical properties. 1998. Disponível em: http://www.imok.ufl.edu/veghort/docs/media_072602.pdf, Acesso em: 04 fev. 2008.

BECKER UNDERWOOD. Nemasys®. Disponível em: http://www.beckerunderwood.com/en/products/nemasys_BN> Acesso em: 15 nov. 2009.

BEDDING, R.A.; MILLER, L.A. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control Black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*, in potted plants. *Annals of Applied Biology*, v. 99, p. 211-216, 1981.

BERTO FILHO, E.; WILCKEN, C.F. Um novo inseto associado aos viveiros florestais: *Sciara* sp. (Diptera: Sciaridae). *Revista de Agricultura*, v. 68, n. 3, p. 331-332, 1993.

BRAVO, I.S.J.; ALVES, M.A.R.; ZUCOLOTO, F.S.; ANDRADE, L.A.M. Aspectos alimentares de criação de *Bradysia hygida* Sauaia & Alves (Diptera: Sciaridae) em laboratório. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 10, n. 2, p. 343-353, 1993.

EHLERS, R. U. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied Microbiology Biotechnology*, Oxford, v. 56, p. 623-633, 2001.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides Entomopatogênicos, p. 541-569. In S.B. ALVES (ed.), *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1163p, 1998.

FRANCISCO, A.L.; ZUCOLOTO, F.S. Obtenção de uma dieta artificial para *Bradysia hygida* (Diptera: Sciaridae). *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 2, n. 6, p. 383-386, 1985.

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

GLAZER, I. Survival Biology. In: GAUGLER, R. (Ed). *Entomopathogenic Nematology*. New Jersey: Rutgers University, p. 169-187, 2002.

GOUGE, D.H.; HAGUE, N.G.M. Development of *Steinernema feltiae* (Steinernematidae: Nematoda) in *Bradysia pauper* (Sciaridae: Diptera). *IOBC/WPRS Bulletin*, v. 17, p. 132-135, 1994.

GOUGE, D.H.; HAGUE, N.G.M. The susceptibility of different species of sciarid flies to entomopathogenic nematodes. *Journal of Helminthology*, v. 69, p. 313-318, 1995a.

GOUGE, D.H.; HAGUE, N.G.M. Glasshouse control of fungus gnats, *Bradysia paupera*, on fuchsias by *Steinernema feltiae*. *Fundamental and Applied Nematology*, v. 18, p. 77-80, 1995b.

GRAHAM, C.L.; MCNEILL, M.J. Soybean Crow and root damage by *Bradysia coprophila*. *Journal of Economic Entomology*, v. 65, n. 2, p. 597-599, 1972.

GREWAL, P.S.; SELVAN, S.; GAUGLER, R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, v. 19, p. 245-253, 1994.

GREWAL, P.S.; POWER, K. Commercial sources: Insect Parasitic Nematode. Disponível em: <http://www.oardc.ohio-state.edu/nematodes/nematode_suppliers.htm>. Acesso em: 02 nov. 2009.

HARRIS, M.A.; OETTING, R.D.; GARDNER, W.A. Use of entomopathogenic nematodes and a new monitoring technique for control of fungus gnats, *Bradysia coprophila* (Diptera: Sciaridae), in floriculture. *Biological Control*, v. 5, n. 3, p. 412-418, 1995.

HOMINICK, W.M. Biogeography. In: GAUGLER, R. (Ed.). *Entomopathogenic Nematology*. Rutgers University, New Jersey, p. 115-143, 2002.

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

JAGDALE, G.B.; CASEY, M.L.; CAÑAS, L. GREWAL, P.S. Effect of entomopathogenic species, split application and potting medium on the control of the fungus gnats, *Bradysia difformis* (Diptera: Sciaridae), in the greenhouse at alternating cold and warm temperatures. *Biological Control*, v. 43, p. 23-30, 2007.

JARVIS, W.R.; SHIPP, J.L.; GARDINER, R.B. Transmission of *Pythium aphanidermatum* to greenhouse cucumber by the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of Applied Biology*, v. 122, n. 1, p. 23-29, 1993.

KAYA, H.K. Soil ecology. In GAUGLER, R.; KAYA, H.K. (eds.), *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Florida: Boca Raton, CRC Press, p. 93-115, 1990.

KENNEDY, M.K. Survival and development of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae) on fungal and non-fungal food sources. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 67, n. 5, p. 745-749, 1974.

KIM, H.H.; CHOO, H.Y.; KAYA, H.K.; LEE, D.W.; LEE, S.M.; JEON, H.Y. *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) as a biological control agent against fungus gnat *Bradysia agrestis* (Diptera: Sciaridae) in propagation houses. *Biocontrol Science and Technology*, v. 14, p. 171-183, 2004.

LEATH, K.T.; NEWTON, R.C. Interaction of a fungus gnats, *Bradysia* sp. (Sciaridae) with *Fusarium* spp. On alfafa and red clover. *Phitopathology*, v. 59, p. 257-258, 1969.

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; BUSSÓLA, R.A.; AMORIM, D.M.; AMBRÓS, C.M.; HARAKAWA, R. Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabdita) contra larvas da mosca-dos-fungos *Bradysia mabiusi* (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhabditis indica* Poinar *et al.* 1992, em substratos orgânicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 74, n. 4, p. 337-342, 2007.

LINDQUIST, R.K.; FABER, W.R.; CASEY, M.L. Effect of various soilless root media and insecticides on fungus gnats. *Hortscience*, v. 20, n. 3, p. 358-360, 1985.

LINDQUIST, R.K.; PIATLOWSKI, J. Evaluation of entomopathogenic nematodes control of fungus gnat larvae. *IOBC/ WPRS Bulletin*, v. 16, p. 97-100, 1993.

MACHADO, L.A. Criação de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In B.B. CRUZ (ed.), *Pragas das Culturas e Controle Biológico*. Campinas, Fundação Cargill, p. 8-35, 1988.

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: www.agricultura.gov.br, Acesso em: 20 out. 2009.

MENZEL, F.; SMITH, J.E.; COLAUTO, N.B. *Bradysia difformis* Frey and *Bradysia ocellaris* (Comstock): two additional neotropical species of black fungus gnats (Diptera: Sciaridae) of economic importance: a redescription and review. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 96, n. 4, p. 448-457, 2003.

NEDSTAM, B.; BURMAN, M. The use of nematodes against sciarids in Swedish greenhouses. *SPOR/WPRS Bulletin*, v. 13, p. 147-148, 1990.

NIELSEN, G.R. Fungus gnats. Disponível em: <http://www.uvm.edu/extension/publications/el/el50.htm>, Acesso em: 20 abr. 2007.

OETTING, R.D.; LATIMER, J.G. An entomogenous nematode *Steinernema carpocapsae* is compatible with potting media environments created by horticultural practices. *Journal of Entomological Science*, v. 26, p. 390-394, 1991.

OLSON, D.L.; OETTING, R.D. & VAN IERSEL, M.W. Effect of soilless potting media and water management on development of fungus gnats (Diptera: Sciaridae) and plant growth. *Hortscience*, v. 37, n. 6, p. 919-923, 2002.

PAIVA, P.E.B. Mosca dos fungos: praga potencial de mudas cítricas em São Paulo. *Citricultura Atual*, v. 40, p. 18-19, 2004.

POWELL, C.C.; LINDQUIST, R.K. Ball pest & disease, Batavia: Ball Publishing, 426p., 1996.

RADIN, B.; WOLFF, V.R.S.; LISBOA, B.B.; WITTER, S.; BARNI, V.; SILVEIRA, J.R.P. Mosquito do fungo: Uma nova praga no morango cultivado em estufa. *Série Técnica Fepagro*, n. 2, p. 1-12, 2006.

RUTHERFORD, T.A.; TROTTER, D.B.; WEBSTER, J.M. Monitoring fungus gnats (Diptera: Sciaridae) in cucumber greenhouses. *The Canadian Entomologist*, v. 117, p. 1387-1394, 1985.

SCHEEPMAKER, J.W.A.; GEELS, F.P.; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D.; SMITS, P.H. Susceptibility of larvae of the mushroom fly *Megaselia halterata* to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in bioassays. *Biocontrol*, v. 43, p. 201-214, 1998.

SHAPIRO-ILAN, D.I.; GAUGE, D.H.; KOPPENHÖFER, A.M. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In: GAUGLER, R. (ed.), *Entomopathogenic Nematology*, Wallingford: CAB International, p. 333-355, 2002.

SPRINGER, T.L. Fungus gnats (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedlings. *Journal of the Kansas Entomological Society*, v. 68, n. 2, p. 240-242, 1995.

STUART, R.J.; SHAPIRO-ILAN, D.I.; JAMES, R.R.; NGUYEN, K.B. MACCOY, C.W. Virulence of new and mixed strains of entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* to larvae of the citrus root weevil *Diaprepes abbreviatus*. *Biological Control*, v. 30, p. 339-445, 2004.

TAVARES, F.M. BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; SILVA, A.C. AMBRÓS, C.M.G. Efeito de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Nemata: Rhabditida) sobre larvas do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera, Curculionidae), em laboratório e casa-de-vegetação. *Nematologia Brasileira*, v.31, n. 1, p. 12-19, 2007.

TAVARES, F.M. BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; GOULART, T.M. Efeitos sinérgicos de combinações de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) e inseticidas químicos na mortalidade de *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). *Bioassay*, v. 4, p. 1-10, 2009.

TAVEIRA, J.A.M. Fungus Gnats (*Bradysia* spp.). *Boletim Técnico: Horticultura Piracicaba*, p. 1-5, 1995.

TOMALAK, M. Selective breeding of *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) for improved efficacy in control of a mushroom fly, *Lycoriella solani* Winnertz (Diptera: Sciaridae). *Biocontrol Science and Technology*, v. 4, p. 187-198, 1994.

TOMALAK, M.; PIGGOTT, S.; JAGDALE, G.B. Glasshouse Applications. In: GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D.I. (Eds.). *Nematodes as Biocontrol Agents*, Cambridge: CABI Publishing, p. 147-166, 2005.

VALENT BIOSCIENCES. Gnatrol DG. Disponível em: <
<http://www.greenbook.net/docs/Label/L69935.PDF>> Acesso em: 29 nov. 2009.

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

WILKINSON, J.D. & DAUGHERTY, D.M. The biology na immature stages of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 63, n. 3, p. 656-660, 1970.

ZANETTI, M.; LEITE, L.G. Fungus gnat: disseminador de doenças fúngicas. *Informativo Vivecitrus*, n. 14, 5 p., 2004.