

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

ANDERSON RODRIGUES SABINO

**Utilização de Nematoides Entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) e Inseticidas Botânicos Visando ao Controle de Adultos de *Rhynchophorus palmarum* L., 1764 (Coleoptera: Curculionidae)**

Rio Largo, AL  
2014

ANDERSON RODRIGUES SABINO

**Utilização de Nematoides Entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) e Inseticidas Botânicos Visando ao Controle de Adultos de *Rhynchophorus palmarum* L., 1764 (Coleoptera: Curculionidae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Guimarães Duarte

Coorientador: Dr. Aldomario Santo Negrisola Junior

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Roseane Cristina Prêdes Trindade

Rio Largo, AL  
2014

**ANDERSON RODRIGUES SABINO**

**UTILIZAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (NEMATODA:  
RHABDITIDA) E INSETICIDAS BOTÂNICOS VISANDO AO CONTROLE DE  
ADULTOS DE *Rhynchophorus palmarum* L., 1764 (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE)**

Dissertação submetida à banca avaliadora como requisito para conclusão do curso de Mestrado em Proteção de Plantas.

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Guimarães Duarte – Centro de Ciências Agrárias - UFAL**  
**Orientadora**

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Prof. Dr. Edmilson Santos Silva – UFAL *Campus* Arapiraca**  
**Avaliador Interno**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Andaló Mendes de Carvalho - Instituto de Ciências Agrárias - UFU**  
**Avaliadora Externa**

Rio Largo, AL  
2014

Aos meus pais **Amaro José Sabino** e **Maria do Carmo Rodrigues Sabino** pela dedicação e por proporcionar a mim e a meus irmãos condições para que alcançássemos nossos objetivos.

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me conceder saúde e capacidade para que eu possa lutar e conquistar meus objetivos.

Aos meus orientadores Dr<sup>a</sup>. Adriana Guimarães Duarte, Dr. Aldomario Santo Negrisoli Junior e Dr<sup>a</sup>. Rosenae Cristina Prêdes Trindade pelos ensinamentos, apoio e confiança.

Aos meus familiares Adilson Rodrigues Sabino, Andressa Rodrigues Sabino, Jaciele Santa de Melo e Maria Cícera de Melo pela união, apoio e convívio.

À minha namorada Anilde da Graça Sousa Maciel pelo amor, companherismo nos momentos bons e ruins e pelo grande auxílio neste trabalho.

Ao meu irmão Paulo Eduardo Pontes Lessa pela grande amizade e por tudo que vivemos até hoje.

Aos meus amigos-irmãos Renato Nunes do Nascimento e Jefferson Moura Leal pelos conselhos, companhia nas viagens, as aventuras e risadas.

Às minhas amigas Sylveneide Farias, Werlânia Farias e Roberta Caetano pela amizade e mensagens de carinho enviadas.

À equipe de trabalho que me ajudou muito nessa pesquisa Samara dos Santos, Janaina Ferreira da Silva, Hully Monayse Alencar de Lima, Alexandre Guimarães Duarte, Josemildo Verçosa de Araújo, Ana Paula e Hugo Leoncio Paiva. Principalmente a Samara e Janaina que apesar dos momentos de estresse, podemos construir uma verdadeira amizade o que nos fez dividir inúmeros momentos inusitados e felizes.

Aos colegas de turma Andrezo dos Santos, Jean Criador, Emerson dos Santos, Antônio Plácido, Jesemildo Verçosa, Lucas Menezes, Anilde Maciel, Simone Costa, Daniela dos Santos, Mércia Duarte, Janaina Feitosa, Lourdes Regina e Rosangela Lima.

Novamente a Prof<sup>a</sup>. Adriana que juntamente com o Prof<sup>o</sup>. Ivanildo acreditaram em mim quando ainda era graduando, por ter me iniciado na cultura do coqueiro, por acreditar em

minhas ideias e ouvir minhas sugestões. Sobretudo pela amizade, carinho e por sempre tentar me ajudar.

Mais uma vez ao Dr. Aldomario por não só aceitar me orientar, mas por ter acreditado em meu projeto e não medir esforços para que os objetivos fossem alcançados.

À secretaria de agricultura de Feliz Deserto – AL em especial ao Secretário Emmanuel Lessa e o funcionário Maciel por todo apoio e parceria nas coletas dos insetos.

Ao Centro de Ciências Agrárias, mais precisamente aos, na época, Diretor: Paulo Vanderlei Ferreira e Vice-Diretor: Gaus Silvestre de Andrade Lima pela permissão para fazer o mestrado.

À Embrapa por permitir que eu utilizasse suas estruturas no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Proteção de Plantas.

A todos, meu MUITO OBRIGADO!

## RESUMO

Apesar de promissor, são raros trabalhos que utilizam nematoides e inseticidas botânicos para o controle de *Rhynchophorus palmarum*. Diante disso, avaliou-se o potencial dos inseticidas naturais e de alguns isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis*, bem como a compatibilidade com óleo de nim e eficiência da mistura no controle de adultos da broca-do-olho-do-coqueiro. Todos os isolados de NEPs foram patogênicos a esta praga destacando-se os heterorhabditideos. O nematoide *Heterorhabditis* sp. AL43 destacou-se por causar maior taxa de mortalidade em adultos de *R. palmarum*. Apenas o inseticida à base de óleo de nim mostrou-se eficiente, causando, na concentração de 5% mortalidade superior a 90% em adultos de *R. palmarum*. Os entomopatógenos do gênero *Heterorhabditis* foram compatíveis com o óleo de nim em todas as concentrações testadas. Já o NEP *Steinernema glaseri* RS38 mostrou-se compatível com o óleo de nim a 1%, mas mostrou sensibilidade quando exposto as concentrações 2, 3 e 4%. A mistura (nim 4% + 500 JI/ mL) destacou-se por provocar mortalidade em 70%, seguida da mistura (nim 3% + 1000 JI/ mL) que causou 60% de mortalidade nos insetos testados. Sendo assim, a utilização de nematoide entomopatogênico e óleo de nim mostrou ser uma estratégia com potencialidade para ser usada no controle integrado desta praga.

**Palavras-chave:** Broca-do-olho-do-coqueiro. Controle. Óleo de nim. *Steinernema*. *Heterorhabditis*.

## ABSTRACT

Although promising, there are few studies that use nematodes and botanical insecticides for the control of *Rhynchophorus palmarum*. Thus, this study evaluated the potential of natural pesticides and some isolates of *Steinernema* and *Heterorhabditis*, as well as compatibility with neem oil and efficiency of the mix to control the palm weevil. All EPNs isolates were pathogenic to this pest, mainly the heterorhabtids strains. The nematode *Heterorhabditis* sp. AL43 caused the higher mortality rate in adults of *R. palmarum*. Only the insecticide based on neem oil was efficient, specifically in the concentration of 5% it was greater than 90% adult mortality of *R. palmarum*. Entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis* were compatible with neem oil at all concentrations tested. The strain *Steinernema glaseri* RS38 was compatible with neem oil 1%, despite have shown sensitivity when exposed to concentrations 2, 3 and 4%. The mix (4% neem + 500 IJs / mL) provoked 70% of insect mortality by, then the mixture (3% neem +1000 IJs / mL) caused 60% of insect mortality. Thus, the use of entomopathogenic nematodes and neem oil in mixture could be a potential strategy to be used in the integrated control of this pest.

**Keywords:** Palm weevil. Control. Neem oil. *Steinernema*. *Heterorhabditis*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Armadilha tipo balde e captura de *Rhynchophorus palmarum*. A – Armadilha pronta para ser instalada. B – Armadilha instalada. C – Insetos capturados..... 35
- Figura 2 - Etapas da produção *in vivo* de juvenis infectantes. A – Suspensão de nematoides. B – Inoculação em *Galleria mellonella*. C – Lagartas com sintomas de mortalidade por nematoides entomopatogênicos. D – Disposição das lagartas mortas em armadilha de White. E – Vertendo-se a suspensão em saco zip-lock contendo esponjas. F – Armazenamento de juvenis infectantes em esponjas. .... 37
- Figura 3 - Etapas da montagem do bioensaio. A – Suspensão de juvenis infectantes. B – Determinação da concentração. C – Deposição da suspensão no pulverizador. D – Aplicação da suspensão. E – Adição de cana-de-açúcar ..... 38
- Figura 4 - Avaliação de confirmação de mortalidade por nematoides entomopatogênicos. A – Insetos mortos na placa de seis células. B – Utilização de estereoscópio. C – Sintomas e sinais da morte por *Steinernema glaseri* RS38. D – Sintomas e sinais da morte por *Heterorhabditis* sp ..... 39
- Figura 5 - Inseticidas botânicos utilizados..... 40
- Figura 6 - Montagem do bioensaio e avaliação de mortalidade por inseticidas botânicos. A – Deposição da solução no pulverizador. B – Aplicação da solução. C – Insetos mortos..... 41
- Figura 7 - Montagem do bioensaio. A – Adição da solução de óleo de nim. B – Adição da suspensão de Nematoides Entomopatogênicos. C – Disposição da suspensão e da solução nos tubos de fundo chato. .... 43
- Figura 8 - Teste de infectividade e preparo das armadilhas de White para o teste de produção de Nematoides Entomopatogênicos. A – Infectividade de *Galleria mellonella* em diferentes tratamentos. B – Disposição das lagartas mortas por nematoides entomopatogênicos em armadilha de White..... 44
- Figura 9 - Mortalidade de adultos de *Rhynchophorus palmarum* causada por isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h). .... 46
- Figura 10 - Sintomatologia (coloração da hemolinfa) de adultos de *R. palmarum* mortos por nematoides entomopatogênicos em comparação ao morto por outra causa... 49
- Figura 11 - Presença de juvenil infectivo parasitando ovo de *Rhynchophorus palmarum* ..... 50

Figura 12 - Ensaio com inseticidas botânicos na mortalidade de adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R. $70 \pm 10\%$ e foto fase de 12h). .....	51
Figura 13 - Eficiência e interação da mistura (2000 JIs + Nim 1%) no controle de adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> , em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R. $70 \pm 10\%$ e foto fase de 12h).....	59
Figura 14 - Eficiência e interação da mistura (1500 JIs + Nim 2%) no controle de adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> , em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R. $70 \pm 10\%$ e foto fase de 12h). .....	59
Figura 15 - Eficiência e interação da mistura (1000 JIs + Nim 3%) no controle de adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> , em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R. $70 \pm 10\%$ e foto fase de 12h). .....	60
Figura 16 - Eficiência e interação da mistura de (500 JIs + Nim 4%) no controle de adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> , em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R. $70 \pm 10\%$ e foto fase de 12h).....	60
Figura 17 - Mortalidade total de adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> causada pela mistura e verificação da mortalidade por nematoide entomopatogênico, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R. $70 \pm 10\%$ e foto fase de 12h).....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Identificação e procedência dos isolados de nematoides entomopatogênicos.....	36
Tabela 2 - Análise de Probit para determinação das concentrações letais (CL <sub>50</sub> , CL <sub>70</sub> , CL <sub>90</sub> ,) dos isolados de nematoides <i>Steinernema glaseri</i> RS38, <i>Heterorhabditis</i> sp. AL39, <i>Heterorhabditis</i> sp. AL43, <i>Heterorhabditis</i> sp. AL44, <i>Heterorhabditis</i> sp. AL47 .....	50
Tabela 3 - Análise de Probit para determinação das concentrações letais (CL <sub>50</sub> e CL <sub>90</sub> ,) do inseticida natural Óleo de Neem Puro <sup>®</sup> em condições de laboratório (25 ± 1°C; U.R. 70 ± 10% e foto fase de 12h) .....	53
Tabela 4 - Efeito da associação entre óleo de nim e <i>Steinernema glaseri</i> RS38.....	54
Tabela 5 - Efeito da associação entre óleo de nim e <i>Heterorhabditis</i> sp. AL39 .....	56
Tabela 6 - Efeito da associação entre óleo de nim e <i>Heterorhabditis</i> sp. AL43 .....	56
Tabela 7 - Efeito da associação entre óleo de nim e <i>Heterorhabditis</i> sp. AL44 .....	57
Tabela 8 - Efeito da associação entre óleo de nim e <i>Heterorhabditis</i> sp. AL47 .....	57
Tabela 9 - Análise de Probit para determinação dos tempos letais (TL <sub>50</sub> e TL <sub>70</sub> ,) dos isolados .....	62

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1	Coqueiro ( <i>Cocos nucifera</i> L.).....	17
2.1.1	Importância econômica.....	17
2.1.2	Principais pragas.....	19
2.2	Broca-do-Olho-do-Coqueiro.....	20
2.2.1	Origem e distribuição.....	20
2.2.2	Hospedeiros.....	20
2.2.3	Biologia.....	21
2.2.4	Danos causados por <i>Rhynchophorus palmarum</i> .....	22
2.2.5	Controle.....	22
2.3	Nematoides Entomopatogênicos (NEPs).....	23
2.3.1	Biologia e comportamento.....	24
2.3.2	Relação NEPs x bactérias simbiotes.....	26
2.3.3	Relação com o sistema imunológico do inseto.....	27
2.3.4	Compatibilidade com produtos fitossanitários.....	27
2.3.5	Utilização dos Nematoides Entomopatogênicos no controle biológico.....	29
2.4	Inseticidas Botânicos.....	30
2.4.1	Rotenona.....	31
2.4.2	Extrato pirolenhoso.....	32
2.4.3	Óleo de nim.....	33
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
3.1	Obtenção de <i>Rhynchophorus palmarum</i> e manutenção em laboratório.....	35
3.2	Origem e Multiplicação dos Nematoides Entomopatogênicos.....	36
3.3	Seleção de Isolados e Determinação da Concentração Letal de Nematoides Entomopatogênicos no Controle de <i>Rhynchophorus palmarum</i> .....	37
3.4	Seleção de Inseticidas Botânicos no Controle de Adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> .....	39
3.4.1	Ensaio com inseticidas botânicos.....	39
3.4.2	Ensaio com óleo de nim.....	40
3.5	Teste de Compatibilidade de NEPs com Óleo de Nim.....	41

3.6	Eficiência da Mistura Contendo Nematoides Entomopatogênicos e Óleo de Nim no Controle de <i>Rhynchophorus palmarum</i> , em Laboratório.....	44
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>46</b>
4.1	Seleção de Isolados de Nematoides Entomopatogênicos no Controle de <i>Rhynchophorus palmarum</i> . ....	46
4.2	Seleção de Inseticidas Botânicos no Controle de Adultos de <i>Rhynchophorus palmarum</i> . ....	51
4.3	Teste de Compatibilidade de Nematoides Entomopatogênicos com Óleo de Nim. ....	53
4.4	Eficiência da Mistura Contendo Nematoides Entomopatogênicos e Óleo de Nim no Controle de <i>Rhynchophorus palmarum</i> , em Laboratório.....	58
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>64</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L), originário do Sudeste Asiático e pertencente à família Arecaceae, é uma das frutíferas mais difundidas no globo terrestre, ocorrendo em praticamente todos os continentes. Em virtude desta dispersão e adaptabilidade, seu cultivo e utilização dão-se de forma expressiva em todo o mundo, com os mais variados produtos, tanto de forma *in natura* quanto industrializada (MARTINS; JESUS JÚNIOR, 2011). Raiz, estipe, inflorescência, folhas e palmito geram diversos subprodutos ou derivados de interesse econômico (COSTA et al., 2005).

O Brasil possui 259.737 ha cultivados com coqueiro, em todo território nacional, com produção 1.954.354 toneladas de frutos. A região Nordeste destaca-se com 208.977 ha plantados e produção de 1.345.962 toneladas. Alagoas apresenta 6.218 ha plantados, produzindo 29.287 toneladas (IBGE 2012).

Apesar dos avanços na produção de coco no Brasil, ainda existem vários fatores limitantes à produção da cultura. Dentre estes, os artrópodes pragas representam limites à cultura, respondendo de maneira significativa pelo depauperamento geral do coqueiro e também pela redução da produtividade, visto que grande parte do coqueiral brasileiro é cultivado por pequenos produtores sem acesso à tecnologia e a recursos financeiros, aumentando ainda mais a precariedade no manejo dessas enfermidades (MOURA; VILELA, 1998).

Esta situação é agravada pela ocorrência da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. 1764 (Coleoptera: Curculionidae) (FERREIRA; ARAÚJO; SARRO, 2002). Os danos à cultura são causados pelas larvas, que destroem o broto apical, construindo galerias no estipe, e pelos adultos que agem como transmissores do nematoide *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb, 1919) Baujard, 1989 (Nematoda: Tylenchida), causador da doença conhecida por anel-vermelho-do-coqueiro. O ataque severo desta praga, quando concentrado na copa da palmeira, causa queda das folhas verdes e da copa, levando geralmente a planta à morte (FERREIRA; MICHEREFF FILHO, 2002; FERREIRA; LINS, 2006). Descobriu-se também uma estreita relação entre *R. palmarum* e a resinose do coqueiro, outra doença bastante severa para a cultura, causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* [(De

Seynes) Hölh (*Chalara paradoxa*; teliomorfo *Ceratocystis paradoxa*] (PARRA et al., 2003; WARWICK; TALAMINI, 2009).

Os adultos de *R. palmarum* são besouros de coloração preto-fosca, que medem entre 3,5 e 6,0 cm, e apresentam um rostro alongado, com cerca de 1 cm de comprimento, sendo que o dos machos apresenta uma série de pelos em forma de escova na região dorsal, diferenciando assim do das fêmeas, que é liso. As larvas são brancas, com cabeça castanho-escura, recurvadas e chegam a medir 7,5 cm de comprimento ao final do seu desenvolvimento. As pupas são amareladas e permanecem abrigadas no interior de um casulo de 8 a 10 cm de comprimento, construído pela larva com as fibras do coqueiro (HOWARD, 2001; GALLO et al., 2002; FERREIRA; ARAÚJO; SARRO, 2002).

O aumento das populações de *R. palmarum* é favorecida pelos hábitos crípticos de suas larvas, pois seu crescimento ocorre dentro de galerias formadas no interior da planta protegendo-os de possíveis inimigos naturais. Este comportamento críptico é um grande empecilho físico para o sucesso de bactérias e fungos no controle biológico, uma vez que estes organismos não têm estruturas adequadas ou comportamentos de busca para colonizar os insetos dentro do estipe. Por sua vez o comportamento dos nematoides entomopatogênicos (NEPs) permite a busca e localização desta praga. Esses atributos tornam estes inimigos naturais, uma promissora alternativa para ser usada no controle de *R. palmarum* (GAUGLER; CAMPBELL, 1991).

Uma alternativa para o controle dessa praga seria o uso de NEPs das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae (ALVES, 1998). Esses agentes são encontrados no solo, em diversas regiões do globo, e após penetrarem no hospedeiro pelas aberturas naturais, liberam uma bactéria entomopatogênica que carregam em seu trato digestório, causando septicemia no inseto entre 24 a 48 horas (FERRAZ, 1998; HOMINICK, 2002).

Dentre as principais vantagens apresentadas pelos NEPs, está o fato de que apresentam a maior resistência a produtos fitossanitários que outros entomopatógenos, possibilitando sua utilização em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP); podem apresentar ação sinérgica com outros agentes entomopatogênicos; apresentam boa capacidade de adaptação a novos ambientes; algumas espécies podem movimentar-se no ambiente, buscando pelo

hospedeiro; podem reproduzir-se por partenogênese e são inócuos às plantas e outros animais, inclusive ao homem (FERRAZ, 1998; SHAPIRO-ILAN et al., 2006; LEWIS et al., 2006).

Os NEPs vêm sendo estudados como alternativa de controle de diversos curculionídeos como: *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (CABANILLAS, 2002), *Hylobius abietis* L., 1758 (GIRLING et al., 2010), *Diaprepes abbreviatus* L., 1758 (SHAPIRO-ILAN et al.; 2010), *Rhyncophorus ferrugineus* Olivier, 1790 (DEMBILIO et al., 2010) e *R. palmarum* (ALMEIDA et al., 2005), entre outros.

No MIP, em estratégias envolvendo o uso de NEPs e produtos fitossanitários é importante conhecer o grau em que estes nematoides podem ser afetados pelos produtos (GORDON; CHIPPETT; TILLEY, 1996). Assim, o uso conjunto de produtos fitossanitários de origem botânica e dos NEPs pode ser uma forma promissora utilizada no MIP da broca-do-olho-do-coqueiro que deve ser investigada.

O controle de *R. palmarum* tem sido basicamente o cultural, o mecânico, o químico ou o biológico, existindo a possibilidade de monitoramento e controle de adultos utilizando armadilhas com feromônios sexuais sintetizados. Portanto, uma alternativa promissora seria a utilização de inseticidas botânicos.

Há um número muito grande de plantas cuja atividade inseticida tem sido estudada. As plantas das famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiatae e Canellaceae são consideradas as mais promissoras (JACOBSON, 1989). Os princípios ativos dos inseticidas botânicos são compostos resultantes de substâncias secundárias da planta sendo acumulados em pequenas proporções nos tecidos vegetais (VENDRAMIM, 2004). Tais substâncias podem ser úteis para síntese de inseticidas mais eficientes, menos tóxicos e menos persistentes no meio ambiente (SAITO; LUCHINI, 1998).

Uma das alternativas que surge em substituição ou complementação ao uso de defensivos químicos no controle das pragas é o uso de extratos naturais de plantas que sejam específicos, biodegradáveis, de fácil aquisição e de custo relativamente baixo, quando comparado aos inseticidas convencionais. Os extratos de plantas com potencial inseticida têm

sido utilizados em sistemas de produção em que não é permitido o uso de agrotóxicos, como na produção orgânica e em alguns sistemas de agricultura familiar (SILVA et al., 2011).

Existem vários inseticidas botânicos para os quais podem ser encontrados produtos comerciais como: óleo de nim, piretrina, rotenona, sabadilha, rianoides, nicotina, óleo de citros, piperinas, dialil-disulfito e eucaliptol. Há também os que não possuem produtos comerciais desenvolvidos, entre eles:  $\alpha$ -tomatina, manipueira, sabão de extratos vegetais, óleo de soja, cumarina e flavanoides (MOREIRA et al., 2005).

Os efeitos dos inseticidas botânicos sobre os insetos são variáveis podendo ser tóxico, repelente, causar esterilidade, modificar o comportamento, o desenvolvimento ou reduzir a alimentação (ARNASON; PHILOGÈNE; MORAND, 1990; BELL; SIMMONDS, 1990).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho verificar a eficiência dos NEPs e dos inseticidas botânicos em adultos de *R. palmarum*, bem como verificar se existe compatibilidade destes NEPs com o inseticida botânico e se a aplicação conjunta, em mistura, é eficiente.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Coqueiro (*Cocos nucifera* L.)

#### 2.1.1 Importância econômica

O coqueiro é uma Arecaceae originária das ilhas de clima tropical e subtropical do Oceano Pacífico, tendo o Sudeste Asiático como sua principal referência de centro de origem e diversidade, tendo em vista que seu cultivo se estendeu também na América Latina, Caribe e África Tropical. O coqueiro encontra-se em mais de 200 países diferentes, sendo encontrado em grandes plantios entre os paralelos 23°N e 23°S (FOALE; HARRIES, 2009).

No Brasil, o coqueiro foi introduzido pelos portugueses em 1553, no Estado da Bahia, com material proveniente da Ilha de Cabo Verde. A introdução do coqueiro no Brasil e sua adaptação aos solos arenosos da costa brasileira permitiu o surgimento de uma classe produtora, ocupando um ecossistema com poucas possibilidades de outras explorações comerciais, cuja cadeia produtiva é muito diversificada e de grande significado social (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002).

O coqueiro é considerado uma das 20 mais importantes espécies de plantas cultivadas. Seu principal produto é o fruto, o coco, do qual se extraem o óleo, a água e a polpa para o consumo humano, sendo que a fibra também apresenta valor comercial cada vez maior e é usada para a confecção de esteiras, cordas e produtos similares (HOWARD, 2001).

Em termos de importância econômica e social, a cultura do coco assume posição importante como atividade geradora de emprego e renda, empregando mão-de-obra durante todo o ano, e permitindo o consórcio com outras culturas, tais como cultivos de subsistência, e principalmente a criação de animais, contribuindo assim, para a fixação do homem no campo (CUENCA, 1998).

O aproveitamento industrial do fruto do coqueiro dá-se mediante o processamento do endosperma sólido ou albúmen submetido à secagem (copra) ou fresco, este último mais utilizado no Brasil, sendo destinados à fabricação de produtos tais como, o leite de coco e o coco ralado, empregados na indústria alimentícia de doces, bolos, bombons, chocolates, etc.,

ou utilizado “*in natura*” na culinária. Um tipo de processamento é a extração e envasamento da água-de-coco (endosperma líquido) mediante a aplicação de tecnologias de processamento e conservação. Não bastasse o considerável grau de diversificação da indústria de beneficiamento das partes comestíveis do fruto, surge na lista de produtos oriundos do coqueiro, e apresentando crescente demanda no mercado internacional, a fibra de coco proveniente do mesocarpo do fruto, que dá origem a uma série de bens como tapetes, enchimentos para bancos de automóveis, pó para substrato agrícola, etc (CUENCA, 1998).

Além da aplicação industrial existente para o fruto, há uma série de aplicações para as diversas partes do coqueiro, tais como o uso no artesanato e em construções do tronco (estipe), folhas, raízes, etc. Toda essa gama de aplicações de seus produtos e subprodutos confere à cultura do coqueiro uma elevada importância econômica, fazendo com que a agroindústria do coco se firme cada vez mais no contexto nacional, haja vista a expansão das áreas cultivadas que já extrapolaram os limites da região Nordeste, alcançando as regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (CUENCA, 1998).

O gênero *Cocos* é constituído apenas pela espécie *C. nucifera* L., a qual é composta de algumas variedades, entre as quais as mais importantes são: *Typica* (Var. Gigante) e *Nana* (Var. Anã). Os híbridos de coqueiro mais utilizados são resultantes dos cruzamentos entre essas variedades (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002).

A variedade *Typica* Nar., conhecida como coqueiro gigante é, predominantemente de polinização cruzada devido as flores masculinas se formarem antes das flores femininas. As plantas têm estipe, com circunferência média de 84 centímetros e atinge, em média, altura de 18 metros. As folhas são compridas, com comprimento médio de 5,5 metros. O florescimento é tardio, ocorrendo normalmente entre seis e oito anos após o plantio. A produção de flores é contínua. Os frutos variam de tamanho, de médio a grande. A copra dessa variedade é de boa qualidade. As plantas são tolerantes a diversos tipos de solos e de climas. Sob condições favoráveis, o período de produção econômica é de cerca de 60 anos (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002).

A variedade *Anã* apresenta desenvolvimento vegetativo lento, é precoce, iniciando a produção em média com dois a três anos após o plantio. Chega a atingir 10 a 12 m de altura e

tem vida útil em torno de 30 a 40 anos. Apresenta estipe delgado, folhas curtas, produz um grande número de pequenos frutos (150 a 200 frutos/planta/ano), é mais sensível ao ataque de pragas, como ácaro, e doenças foliares. Em geral, apresenta maiores exigências de clima e solo do que a variedade Gigante (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002).

O coqueiro híbrido intervarietal anão x gigante, é uma cultivar de ampla utilidade comercial, podendo ser empregada para produções de água de coco e de fibras, e principalmente, para produção de polpa ou albúmen sólido. A grande dificuldade a curto e médio prazo, é a baixa disponibilidade de sementes híbridas no mercado, para implantação de extensas áreas com essa variedade (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002).

Ressalta-se que, cerca de 90% da produção de coco do mundo, advêm de pequenos agricultores, com áreas de até 5 hectares, sendo que esta produção é praticamente consumida internamente nos países produtores. Situação que no Brasil se repete com cerca de 70% da exploração de coqueiro com propriedades de até 10 ha (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002). Portanto, os produtores não aplicam tecnologias relacionadas à irrigação, controle fitossanitário e adubação, o que justifica a atual baixa produtividade, estimada em 30 frutos/planta/ano (FONTES; RIBEIRO; FERNANDES, 2003; WANDERLEY; LOPES, 2009; IBGE, 2012).

### 2.1.2 Principais pragas

A incidência de pragas e de doenças nos coqueirais brasileiro constitui um problema limitante a essa exploração, respondendo, de maneira significativa, pelo depauperamento geral da cultura e também pela baixa produtividade (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 1998). Kurian; Sathiamma; Pillai (1979) listaram 547 insetos e ácaros atacando coqueiro em diversos países produtores.

A ação nociva das pragas pode ser observada desde a implantação da cultura, ocasionando grande número de replantas, atraso no desenvolvimento vegetativo e conseqüente retardamento no início de produção, agravando-se à medida que a planta entra em produção e atinge a fase adulta. Nesta fase, é intensa a ação das coleobrocas, cujas larvas, ao se alimentarem dos tecidos interno da planta, podem ocasionar tanto sua perda total como

afetar diretamente a produção, reduzindo-a drasticamente ou até anulando-a (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 1998).

As coleobrocas (Coleoptera: Curculionidae), *Rhinostomus barbirostris* (Fabricius, 1775), *Rhynchophorus palmarum* (Linnaeus, 1764), *Homalinotus coriaceus* (Gyllenhal, 1836), *Amerrhinus ynca* (Sahlberg, 1823), a lagarta desfolhadora *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae) e o ácaro *Aceria guerreronis* (Keifer, 1965) (Acari: Eriophyidae) são as pragas mais prejudiciais à cultura do coqueiro no Brasil, provocando perdas significativas na produção (FERREIRA; WARWICK; SIQUEIRA, 1998).

## 2.2 Broca-do-Olho-do-Coqueiro

### 2.2.1 Origem e distribuição

A broca-do-olho-do-coqueiro tem origem americana, ocorrendo desde a Argentina até a Califórnia, incluindo as Antilhas (BONDAR, 1940), sendo conhecida como praga do coqueiro e do dendezeiro no Brasil já no século XVI. Sua ocorrência tem sido constatada nos estados do Amazonas, Pará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio Grande do Norte, Sergipe (FERREIRA; ARAÚJO; SARRO, 2002), Alagoas (DUARTE et al., 2003) e Mato Grosso do Sul (SÁNCHEZ-SOTO; NAKANO, 2002).

Além do Brasil, México, Caribe, Costa Rica, Cuba, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaraguá, Panamá, Porto Rico, Trinidad e Tobago, Belize, Dominica, Grenada, Guadalupe, Martinique, São Vicente, Argentina, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Paraguai, Peru, Suriname, Uruguai e Venezuela já relataram a presença da broca-do-olho-do-coqueiro (OEPP, 2005).

### 2.2.2 Hospedeiros

Além do coqueiro, *R. palmarum* pode ainda utilizar como planta hospedeira, ou fonte de alimento, a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), a banana (*Musa* spp. L.) o dendê (*Elaeis guineenses* Jacq.), o mamão (*Carica papaya* L.), o abacaxi (*Ananas comosus* L.),

dentre outras plantas cultivadas, levando a perdas e danos consideráveis às respectivas plantações (NAVARRO et al., 2002).

Relatos indicam a ocorrência do gênero *Rhynchophorus* em várias palmeiras, distribuídas por quase toda a região tropical do planeta. As espécies mais comuns em coqueiro são: *R. palmarum* e *R. cruentatus* (Fabricius, 1775), no continente americano; *R. phoenicis* (Fabricius, 1801), no continente africano; *R. ferrugineus* (Olivier, 1790) e *R. vulneratus* (Panzer, 1798), no Sudeste da Ásia; *R. ferrugineus*, no Oriente Médio; e *R. bilineatus* (Montrouzier, 1857), nas Ilhas do Pacífico (Oceania) (FERREIRA, 2002).

### 2.2.3 Biologia

O adulto é um besouro de coloração preta de 45 a 60 mm de comprimento, de rostró desenvolvido, com 10 a 12 mm de comprimento e recurvado, os élitros são curtos, não cobrem a extremidade do abdome e têm 9 sulcos longitudinais. O dimorfismo sexual é percebido pela presença de pelos rígidos no lado dorsal do rostró do macho, as fêmeas não possuem esses pelos. As fêmeas efetuam a postura em incisões na base do ráquis, pondo, cada fêmea, de 5 a 6 ovos por dia, perfazendo um total de até 250 ovos durante sua vida. Após 2 ou 3 dias, as larvas, que completamente desenvolvidas atingem cerca de 70 mm de comprimento, eclodem e começam, pelo hábito da alimentação, a abrir galerias nos tecidos das plantas, principalmente na gema apical, no pecíolo das folhas novas e no estipe mole (GALLO et al., 2002).

A duração do ciclo de vida do *R. palmarum* vai depender do tipo de fonte alimentar. Sánchez et al. (1993), utilizando estipe do coqueiro como fonte de alimento, verificaram que as larvas podem passar por seis a 10 ínstaes ao longo de um período de 52 dias. Após esse período, as larvas se abrigam dentro do casulo, onde vão permanecer durante a fase de pré-pupa (4 a 17 dias) e a fase de pupa (8 a 23 dias). Após a emergência, os adultos ainda permanecem dentro do casulo por aproximadamente sete dias. Os machos podem viver, em média, 44 dias e as fêmeas, 40 dias.

Esse inseto adulto tem hábito diurno, principalmente nas horas com temperaturas mais amenas, sendo capaz de se deslocar 1,6 km por dia (HAGLEY, 1965). Sobre a dinâmica diária

é conhecido que há um pico de atividade de voo pela manhã e um à tarde. Os adultos são mais ativos entre 7 e 11 horas e 17 e 19 horas (HAGLEY, 1965; SÁNCHEZ et al, 1993). Durante as horas de maior calor (12:00 a 16:00), não é comum ver os insetos voando. Além disso, percebe-se uma diminuição acentuada na atividade durante dias chuvosos.

#### 2.2.4 Danos causados por *Rhynchophorus palmarum*

O *R. palmarum* é dentre os curculionídeos que atacam o coqueiro o mais severo, pois além da capacidade de localizar sua planta hospedeira a longas distâncias através do olfato, causa perdas na plantação pelas sua alimentação e, principalmente por ser o principal vetor, na transmissão do nematoide *Bursaphelenchus cocophilus*, agente causal da doença letal conhecida como anel-vermelho (FERREIRA, 2002) e possível vetor da resinose do coqueiro, cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa*, cujo teleomorfo é *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. (COSTA e CARVALHO et al., 2011)

Os odores da fermentação produzidos pelas plantas infestadas ou estressadas, devido aos ferimentos durante a colheita e os tratos culturais, atraem insetos adultos de *R. palmarum* que se alimentam, copulam e ovipositam nas cicatrizes recém abertas (DUARTE et al., 2003). As larvas da broca-do-olho-do-coqueiro penetram pela gema apical das areáceas e entre as folhas em formação, danificando-as e, conseqüentemente, destruindo-as (GALLO et al., 2002). Segundo Griffith (1968), 30 larvas são suficientes para causar a morte de uma planta adulta. Em plantas jovens, é possível que um número menor de larvas provoque o mesmo efeito (SÁNCHEZ; CERDA, 1993).

#### 2.2.5 Controle

Visando diminuir os danos causados a cultura, recomenda-se, atualmente, como forma de controle a instalação de armadilhas contendo pedaços de cana-de-açúcar, como material atrativo, associados ao feromônio de agregação Rincoforol (rhynchophorol) (FERREIRA, 2002). Armadilhas com iscas vegetais impregnadas com inseticidas são alternativas para atrair e eliminar os adultos da broca-do-olho (FONTES; RIBEIRO; FERNANDES, 2003).

Na Índia, a espécie *R. ferrugineus* é controlada por um vírus que ataca todos os estádios do inseto (GOPINADHAN; MOHANDAS; NAIR, 1990). Em Nova Britânia, a espécie *R. bilineatus* apresenta um nematoide como agente regulador (BEDFORD, 1974). No Brasil, a espécie *R. palmarum* é parasitada pelos dípteros taquinídeos *Parabillaea rhynchophorae* Blanchard, 1937, *Paratheresia brasiliensis* Townsend, 1917 e *Paratheresia menezesi* Townsend (MOURA; VILELA 1991).

Fungos entomopatogênicos também são considerados eficientes reguladores de um grande número de pragas. Mendonça (2007), com testes em laboratório comprovou a ação patogênica de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre adultos de *R. palmarum*. A propagação da infecção deste patógeno na plantação pode ser viabilizada utilizando-se o próprio adulto como transmissor (FERREIRA; LIMA, 1996).

Assim, apesar de haver uma série de táticas de controle para essa praga, ainda não existe uma que seja eficiente, econômica e ecologicamente viável (NEGRISOLI JR. et al., 2011). Na inexistência de inseticida registrado para o controle da broca-do-olho-do-coqueiro junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (AGROFIT, 2014), o controle biológico e o uso de produtos naturais apresentam-se como alternativas promissoras e elaboração de ações conjuntas visando o MIP.

### 2.3 Nematoides Entomopatogênicos (NEPs)

Nematoides são vermes cilíndricos não segmentados que pertencem ao Filo Nematoda e estão entre os organismos mais abundantes do planeta (DOLINSKI, 2006). Esses animais apresentam aparentemente uma simplicidade morfológica, no entanto, escondem uma ampla variedade de estruturas especializadas presentes em sua anatomia, como por exemplo, os aparelhos bucais e as ornamentações da cutícula. Essa diversidade dentro do filo está intimamente relacionada às características biológicas e ecológicas (DE LEY, 2006).

As espécies de nematoides associadas a insetos encontram-se distribuídas em diferentes famílias, quatro delas com maior importância no que diz respeito à exploração econômica para controle: Mermithidae, Sphaerulariidae, Steinernematidae e Heterorhabditidae (POPIEL; HOMINICK, 1992).

As famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae compreendem os nematoides entomopatogênicos que possuem diversas espécies, classificadas nos gêneros *Heterorhabditis*, *Steinernema* e *Neosteinernema* onde muitas delas são bastante estudadas e exploradas comercialmente no controle biológico de insetos-praga (ALMENARA et al., 2012).

Em termos de distribuição geográfica, os NEPs são cosmopolitas, havendo exemplos da recuperação de NEPs em solos de seis diferentes biomas mundiais (Neoártico, Neotropical, Paleoártico, Etíope, Oriental e Australiano) (LAWRENCE; HOY; GREWAL, 2006). A prospecção de NEPs no solo normalmente é realizada através da utilização de larvas do lepidóptero *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) como isca. As larvas são expostas à amostra de solo e monitoradas quanto à infecção. Dados gerais apontam para uma maior abundância de steinernematídeos em regiões temperadas e heterorhabditídeos em solos tropicais e subtropicais (POPIEL; HOMINICK, 1992; LAWRENCE; HOY; GREWAL, 2006).

### 2.3.1 Biologia e comportamento

O ciclo de vida dos NEPs inclui três fases de desenvolvimento: ovo, juvenil e adulto (machos e fêmeas), sendo a fase juvenil composta de quatro estádios (J1, J2, J3 ou Juvenil Infectante (JI) e J4) (DOLINSKI, 2006). O JI, único ínstar adaptado a sobreviver fora do hospedeiro, possui duas cutículas superpostas e seus orifícios naturais (boca e ânus) encontram-se fechados, de forma a evitar dessecação e conferir maior tempo de sobrevivência no solo (ALMENARA, et al., 2012). Quando no solo, o JI consegue encontrar o hospedeiro através de órgãos quimiotáteis, chamados anfídeos, existentes na parte anterior do corpo, assim, penetrando pelas suas aberturas corporais naturais (boca, espiráculos e poros anal e genital), ou pela sua cutícula, alcançando a hemocele. Alguns NEPs possuem a habilidade em penetrar a cutícula do hospedeiro através de um dente quitinoso localizado frontalmente em sua extremidade anterior (KAYA; GAUGLER, 1993; DOLINSKI, 2006; ALMENARA, et al., 2012).

Quanto ao comportamento de procura de hospedeiro, os JIs são classificados em três categorias: emboscadores, cruzadores e intermediários (LEWIS, 2002). As espécies emboscadoras se posicionam de forma a interceptar um inseto que se movimenta próximo

(ALMENARA et al., 2012). Para isso, os JIs apoiam-se sobre a cauda, levantam-se, saltam e circulam a procura do hospedeiro. O que os tornam adaptados para infectar hospedeiros que se movimentam sob a superfície do solo (KONDO; ISHIBASHI, 1986). Já as espécies cruzadoras movem-se ativamente à procura do hospedeiro, localizando-os pelos produtos de excreção, níveis de CO<sub>2</sub> e gradientes de temperatura (DOLINSKI, 2006). Dessa forma, de acordo com a estratégia adotada, aumenta-se a probabilidade de encontro e reconhecimento do hospedeiro susceptível (SCHROEDER; BEAVERS, 1987; CAMPBELL; KAYA, 2002, ALMENARA et al., 2012). Os JIs de comportamento intermediário apresentam características de cruzadores e emboscadores, de acordo com a proximidade do hospedeiro (DOLINSKI, 2006).

No hospedeiro, os nematoides alimentam-se e desenvolvem-se em adultos maduros sexualmente. Havendo machos e fêmeas no mesmo cadáver, ocorre a cópula. Inicialmente, os ovos fertilizados são postos e, mais tarde, alguns são retidos no interior do abdômen da fêmea até a eclosão dos J1, quando rompem a parede do corpo da mãe e atingem também o inseto, aonde vão se alimentar. Alguns J1 vão mudar para o estágio J2 e, mais tarde, vão se transformar em JI, retendo a cutícula do estágio anterior. Outros J1 vão completar o ciclo de desenvolvimento, passando por J2, J3, J4 e adultos de segunda geração, que são menores que os de primeira geração. Estes adultos copulam e novos ovos e juvenis são liberados. Quando os recursos alimentares se esgotam, estes ciclos de reprodução cessam e os JIs migram para o ambiente, onde permanecem até encontrarem outro inseto e reiniciar o ciclo (KAYA; GAUGLER, 1993; KAYA; BEDDING; AKHURST, 1993; ALMENARA et al., 2012).

O ciclo de vida de *Heterorhabditis* spp. é similar ao de *Steinernema* spp., porém os adultos da primeira geração são hermafroditas e a progênie destes hermafroditas é composta de machos e fêmeas (ADAMS; NGUYEN, 2002). O aumento na densidade populacional de nematoides no cadáver somado às condições limitantes de nutrientes levam ao desenvolvimento das formas resistentes, os JIs. Estes emergem do cadáver e penetram no solo carregando a bactéria em seu intestino, prontos para infectar um novo hospedeiro (POINAR, 1990; STUART; GAUGLER; GEORGIS, 1996).

De acordo com Downes (1996) e Lewis (2002) os NEPs são capazes de se dispersar por curtas e longas distâncias à procura de microambiente adequado e hospedeiro susceptível, que são atraídos pelos seus materiais fecais e gradientes térmicos.

### 2.3.2 Relação NEPs x bactérias simbiotes

Nematoides entomopatogênicos apresentam um tipo de simbiose bastante específica: os gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* são colonizados, exclusivamente, por bactérias dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente. Uma vez dentro do hospedeiro, os NEPs liberam suas bactérias causando septicemia, levando a morte do inseto dentro de 24 a 72h pós-infecção (DOWDS; PETERS, 2002).

As bactérias simbiotes *Xenorhabdus* spp. e *Photorhabdus* spp. pertencem à família Enterobacteriaceae, são anaeróbicas facultativas, gram-negativas e estão presentes na parte anterior do intestino dos NEPs da família Heterorhabditidae ou contidas em uma vesícula no intestino dos NEPs da família Steinernematidae (AKHURST, 1980; CHICHE; ENSIGN, 2003).

Uma espécie de *Heterorhabditis* apresenta como bactéria simbiote sempre e somente uma única linhagem daquela espécie de *Photorhabdus*. Já no caso de *Steinernema*, sua especificidade com bactérias do gênero *Xenorhabdus* é menor onde, diferentes espécies de nematoide podem apresentar a mesma espécie de bactéria simbiote (FORST; CLARKE, 2002).

A relação entre a bactéria e o nematoide é simbiótica porque a bactéria faz a bioconversão do tecido do hospedeiro como fonte de alimento para o nematoide, além de a própria biomassa bacteriana lhe servir de alimento. Além disso, essas bactérias produzem compostos com amplo espectro de atividade biológica: antibióticos, antifúngicos, bacteriocinas, proteases, lipases e lipopolissacarídeos. A presença destes compostos impede a colonização do cadáver do inseto por outras espécies bacterianas existentes no ambiente (DOLINSKI, 2006; BODE et al., 2009). Por outro lado, o nematoide fornece abrigo à bactéria, uma vez que ela não é encontrada sozinha na natureza (WOODRING; KAYA, 1988). As bactérias entomopatogênicas possuem um extenso repertório de genes envolvidos

na produção de toxinas e metabólitos secundários. Acredita-se que estas moléculas sejam responsáveis por garantir tanto o processo de patogenicidade para o inseto quanto o reconhecimento pelo nematoide e a manutenção da simbiose (CLARKE, 2008).

### 2.3.3 Relação com o sistema imunológico do inseto

Como forma de defesa pela entrada dos nematoides na hemolinfa, o sistema imunológico do inseto apresenta um papel fundamental no mecanismo de defesa, que envolvem processos de encapsulamento e melanização. Algumas espécies das ordens Orthoptera, Coleoptera, Lepidoptera e Diptera apresentaram o encapsulamento e a melanização em resposta à entrada dos JIs (DOWDS; PETERS, 2002; MANACHINI; SCHILLACI; ARIZZA, 2013). Em contra partida, os NEPs podem resistir à resposta de encapsulamento e melanização através de três mecanismos principais: evasão (não reconhecimento pelo hospedeiro), tolerância (escape com número elevado de indivíduos que atinge a hemocele) e supressão (proteínas de superfície dos nematoides permitem a modulação da resposta imunológica do inseto).

Mastore et al. (2014) observou que no estágio inicial da infecção, o nematoide induz forte inibição no sistema de melanização do hospedeiro, além de serem evasivos aos mecanismos mediados por células hospedeiras de encapsulamento.

Com relação às bactérias simbiontes, o sistema imunológico do inseto passa a enfrentar estratégias alternativas de escape. Esses patógenos bacterianos podem evitar ou impedir a sua detecção ou suprimir diretamente a ativação do sistema imune (VALLET-GELY; LEMAITRE; BOCCARD, 2008). Espécies de bactérias simbiontes possuem a capacidade de escapar da ação de peptídeos antimicrobianos e de sofrerem fagocitose na hemoceloma dos insetos. Esses simbiontes interferem na atividade de fagócitos bloqueando a produção de metabólitos de ação bacteriostática e também produzem toxinas capazes de destruir os hemócitos ativamente (DABORN et al., 2002; ELEFThERIANOS, 2009).

### 2.3.4 Compatibilidade com produtos fitossanitários

A atividade dos produtos fitossanitários sobre os entomopatógenos pode variar de acordo com a espécie e linhagem dos patógenos, da natureza química e concentrações dos

produtos utilizados (ALVES; MOINO JR; ALMEIDA, 1998). Nematoides entomopatogênicos são frequentemente aplicados em diferentes países em conjunto com outros produtos fitossanitários químicos, naturais e biológicos, fertilizantes e corretivos de solo, sendo mais comum e econômica a mistura de tanque dos nematoides com estes produtos na aplicação (KRISHNAYYA; GREWAL, 2002).

As interações entre produtos e controladores biológicos podem ser positivas (ação sinérgica, aditiva) ou negativas (ação supressiva, antagonista). Os efeitos de produtos fitossanitários sobre NEPs podem ser avaliados de forma direta e indireta. Diretamente quando observados a viabilidade e o comportamento dos JIs expostos a determinadas concentrações e períodos de exposição a determinado produto. Indiretamente quando verificada a capacidade destes juvenis serem infectivos a determinado inseto hospedeiro após o contato com o produto (NEGRISOLI JR., 2005).

Diversos trabalhos mostram que há compatibilidade de NEPs com os mais variados produtos fitossanitários. Sendo eles inseticidas, fungicidas, herbicidas, dentre outros. Negrisoli Jr. (2008) mostrou ser possível à utilização conjunta do herbicida Glifosato 480 CS (Agripec) com os nematoides *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*. O inseticida imidaclopride mostrou-se compatível com alguns isolados do gênero *Heterorhabditis* (SOUZA et al., 2012). Laznik e Trdan (2013) mostraram que a azadiractina na concentração de 0,3% foi compatível com *H. bacteriophora*. Por outro lado, Rohde et al. (2013) observaram que os extratos aquosos de cinamomo, arruda, gengibre e alho foram incompatíveis com *Heterorhabditis* sp. JPM4 e *S. carpocapsae* ALL.

Andaló, Moino Jr. e Santa-Cecília (2004), verificando a compatibilidade de NEPs com produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro, descobriram que os nematoides *S. carpocapsae*, *S. glaseri*, *S. arenarium* e *H. bacteriophora* foram compatíveis com os inseticidas imidaclopride e tiametoxan. No entanto, estes NEPs foram incompatíveis aos herbicidas 2,4-D, acetoclor e oxifluorfen.

### 2.3.5 Utilização dos Nematoides Entomopatogênicos no controle biológico

Desde a década de 30 os NEPs vêm sendo utilizados no controle de insetos-praga (DOLINSKI, 2006). Apresentam uma ampla ordem de hospedeiros e podem ser produzidos e estocados em massa em esponja de poliéster-poliuretano, vermiculita, gel de poliacrilamida, gel de alginato, pó-molhável, grânulos e em água destilada (FRIEDMAN, 1990; GREWAL, 2002).

A fácil manipulação, o comportamento de busca pelo hospedeiro, compatibilidade com produtos químicos, a ação sinérgica com outros entomopatógenos, como exemplo *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bacillales: Bacillaceae) aumentando a eficiência e economia do método, resistência às variações ambientais, longo tempo de estocagem (dependendo da técnica aplicada), a ausência de toxicidade para seres humanos, são específicos a insetos, não causando dano às plantas cultivadas e o fato de poderem ser aspergidos pelos sistemas convencionais de aplicação de agroquímicos, como irrigação e bombas elétricas, mecânicas ou costais têm estimulado o intenso interesse no desenvolvimento de inseticidas biológicos à base de NEPs (FERRAZ, 1998; GAUGLER; HAN, 2002; GREWAL, 2002; LEITE et al., 2006; SHAPIRO-ILAN et al., 2006).

Atualmente, existem empresas especializadas na produção em massa de NEPs e de formulações prontas para a aplicação. Na Europa a empresa E-nema comercializa produtos à base de *Steinernema feltiae* (Nemaplus<sup>®</sup>, Nemaflor<sup>®</sup>, Nemycel<sup>®</sup> e Nemapom<sup>®</sup>), *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematop<sup>®</sup> e Nema-green<sup>®</sup>) e *S. carpocapsae* (Nemastar<sup>®</sup> e Nematop<sup>®</sup> Käfer-Stopp) visando ao controle de pragas como *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Curculionidae), *Synanthedon myopaeformis* (Borkhausen, 1789) (Lepidoptera: Sesiidae), entre outras (E-NEMA, 2014). No Brasil, a empresa Bio Controle em parceria com o Instituto Biológico produz o bioinseticida, Bio Nep<sup>®</sup>, à base de *S. puertoricense* para o controle do *Sphenophorus levis* (Vaurie, 1978) (Coleoptera: Curculionidae) (BIO CONTROLE, 2014).

Visando ao controle de *R. ferrugineus* em *Phoenix canariensis* Chabaud (Arecales: Areaceae) algumas empresas europeias desenvolveram produtos à base de nematoides entomopatogênicos. Um desses produtos é o Biorend R<sup>®</sup> Palmeras que é composto de *S.*

*carpocapsae* e é usado junto com Biorend<sup>®</sup> que tem como ingrediente ativo o Quitosano (GREENBERRY, 2014). Estudos realizados por Llácer, Altube e Jacas (2009), utilizando Biorend R<sup>®</sup> Palmeras, mostraram eficácias em cerca de 80% no ensaio curativo e até 98% no tratamento preventivo de *R. ferrugineus*. Outro produto comercializado para o controle desta praga é o Nemopak SC Palme que também é composto de *S. carpocapsae* (VERDEPIENO, 2014).

Estudos realizados com *R. ferrugineus* mostram que tanto larvas, pupas e adultos são eficientemente controlados por NEPs, obtendo taxa de mortalidade superior a 80% (ABBAS; SALEH; AKIL, 2001; MANACHINI; SCHILLACI; ARIZZA, 2013).

Santos et al. (2012), utilizando o nematoide *Heterorhabditis* sp. AL39 em larvas de *R. palmarum* com 16 mm de comprimento, nas dosagens de 20, 40 e 80 JI/ larva, conseguiu mortalidade de até 66,7% e para larvas com 8 mm, nas mesmas dosagens, a taxa de mortalidade foi de até 100%. Com isso, os autores concluíram que os estágios larvais da broca-do-olho-do-coqueiro foram susceptíveis ao isolado *Heterorhabditis* sp. AL39, principalmente nos instares iniciais.

#### 2.4 Inseticidas Botânicos

Diante da necessidade de adoção de táticas menos impactantes de controle, uma alternativa que vem sendo bastante estudada para o controle de pragas é o uso de substâncias secundárias presentes em “plantas inseticidas”. Substâncias como rotenoides, piretroides, alcaloides e terpenoides são produtos intermediários ou finais do metabolismo secundário de plantas, que podem ser encontradas principalmente em suas partes vitais, tais como raízes, folhas e sementes. Essas substâncias podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, sem necessariamente causar morte (MEDEIROS, 1990; LANCHER, 2000).

Considerando que plantas, insetos e outros microrganismos tiveram uma coevolução, as plantas são conhecidas como fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que a produção das mesmas ocorre em resposta a um ataque patogênico no vegetal

(GRAYER; KOKUBUN, 2011). Em função disto, nos últimos anos, substâncias biologicamente ativas têm como algumas fontes óleos essenciais extraídos de diversas espécies vegetais (SIMAS et al., 2004).

Segundo Gallo et al. (2002), dentre algumas vantagens da utilização de inseticidas botânicos, deve-se ressaltar o fato de existir menor probabilidade de desenvolvimento de resistência do inseto, pois nas plantas, normalmente estão presentes mais do que um princípio ativo.

#### 2.4.1 Rotenona

Encontrada principalmente em *Lonchocarpus* spp. (Fabales: Fabaceae) e *Derris* spp. (Fabales: Fabaceae), os rotenoides são séries de compostos extraídos das raízes dessas plantas. A toxicidade da rotenona ocorre inicialmente nos músculos e nervos cessando rapidamente a alimentação dos insetos e causando sua morte algumas horas ou dias após a exposição. Ela atua também como potente inibidor da respiração celular bloqueando a cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias (LUMMEN, 1998; GLYNNE-JONES, 2001; KLAASSEN; WATKINS III, 2003; TADA-OIKAWA et al., 2003).

Atua por ingestão e contato sendo instável a luz, ao calor e ao ar. Em exposição a luz, a rotenona tem um período útil médio de 1 a 3 dias. Possui persistência de aproximadamente uma semana, quando aplicada em pulverizações sobre a superfície das plantas. É um inseticida e acaricida de largo espectro de ação sendo usado contra lagartas, besouros, pulgas, pulgões, formigas, cigarrinhas, moscas, cochonilhas e ácaros (COSTA; BELO; BARBOSA, 1997; COX, 2002).

Saito e Luchini (1998) relatam que a rotenona é eficaz para o controle de besouros e lagartas, porém sua toxicidade pode ser mais ou menos ativa de acordo com a espécie de inseto e, sua ação, pode demorar um pouco para se manifestar.

Alécio et al. (2005) avaliaram o potencial inseticida do extrato de raízes de *Derris rariflora* Macbride sobre o gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais* Mots) em condições de laboratório. Os autores determinaram a concentração letal de 0,82 µl do extrato por cm<sup>2</sup> de

superfície tratada (papel-filtro) e concluíram que o extrato apresentou-se promissor para o controle da referida praga.

#### 2.4.2 Extrato pirolenhoso

O extrato pirolenhoso (EP), também conhecido como ácido pirolenhoso, é obtido pela condensação da fumaça formada pela queima da madeira na produção de carvão vegetal. Trata-se de um líquido de cor amarela a marrom avermelhada, composto, em sua maior parte, por água e mais de 200 compostos orgânicos, dentre eles ácido acético, álcoois, cetonas, fenóis e alguns derivados de lignina. O extrato pirolenhoso pode ser obtido de diferentes espécies vegetais, como bambu, eucalipto e pinus (MAEKAWA, 2002).

Quando aplicado em diluições de 300 a 600 vezes, o extrato pirolenhoso apresenta-se promissor no controle de pragas e doenças, podendo ser aplicado isoladamente ou misturado com outros extratos de plantas (MAEKAWA, 2002).

O EP pode ser utilizado como inseticida, na composição de adubos orgânicos e na compostagem, potencializador da eficiência de produtos fitossanitários e absorção de nutrientes em pulverizações foliares com potencial quelatizante, desinfecção de ambientes, esterilizante eficiente; aditivo de alimentos, na área humana é usado em banhos para lavagem da pele áspera e como aditivo para alimentos (CAMPOS, 2007).

O poder inseticida do extrato pirolenhoso é variável com a espécie de madeira utilizada para sua obtenção, além da espécie de praga alvo. Pansiera et al. (2003a) estudaram o efeito repelente do extrato pirolenhoso de três espécies arbóreas sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) e constataram que nenhum dos extratos afetou a oviposição de *S. frugiperda* e que somente o extrato pirolenhoso oriundo de *Eucalyptus grandis* afetou a oviposição de *T. absoluta*. Com relação ao poder inseticida, verificaram que somente os extratos pirolenhosos das espécies arbóreas *Pinus caribaea* e *E. grandis* foram eficazes na mortalidade de *S. frugiperda* e *T. absoluta*, respectivamente.

### 2.4.3 Óleo de nim

É extraído da semente da árvore de nim, *Azadirachta indica* A. Juss. família Meliaceae, que se desenvolve nas regiões tropicais e subtropicais de diversos continentes. Essa planta de origem asiática é considerada a planta inseticida mais importante do mundo (BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001). Apresenta diversos compostos com atividade biológica, sendo que o principal composto é a azadiractina (MORDUE; BLACKELL, 1993).

Diferente dos inseticidas químicos, os insetos não desenvolvem resistência a nim. Isso graças aos seus mais de 150 princípios ativos, aliado aos quatro tipos de efeito que a azadiractina exerce: efeito antialimentar (a ação direta torna o alimento impalatável aos insetos); efeito regulador do crescimento (provocando distúrbio hormonal generalizado, levando a deformidades e mortalidade); efeito inibidor da reprodução (afeta os hormônios sexuais comprometendo a atração sexual, diminuindo o número de ovos, sendo que os ovos postos terão uma baixa viabilidade e eclosão); efeito repelente (os insetos vão evitar as superfícies tratadas, não vai haver postura nesses locais e não vai haver consumo) (SCRIBD, 2014).

Beard (1989) verificou que a azadiractina não é tóxica ao homem nas doses empregadas no controle de insetos. Entre os inseticidas botânicos comercializados atualmente o óleo de nim está entre os menos tóxicos ao homem (COX, 2002).

Algumas vantagens tornam o nim um inseticida botânico bastante aceito no mercado, como: baixa toxicidade ao homem; totalmente biodegradável; não é bioacumulável; possui relativa seletividade para inimigos naturais; apresenta diversas formas de ação sobre os insetos, não gerando resistência; mundialmente aceito pela IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements); não apresenta período de carência; ótima relação custo x benefício (SCHMUTTERER, 1990, 1997; AKOL et al., 2002; ISMAN, 2006; SCRIBD, 2014). Pode ser associado ao controle biológico, inclusive com NEPs. Isso mantém a qualidade e reduz a poluição do meio ambiente, além de contribuir para conservação dos recursos naturais e aumentar a sustentabilidade dos ecossistemas.

Há relatos na literatura sobre o efeito inseticida do nim envolvendo principalmente, lepidópteros e coleópteros, e também sob homópteros, dípteros e heterópteros testadas com resultados positivos (MARTINEZ, 2002). Trabalhos realizados com os curculionídeos *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824), *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius, 1775) e *Anthonomus grandis* (Boheman, 1843) mostraram que o nim causou diminuição na fecundidade e provocou morte de larvas (MUSABYIMANA et al., 2001; COWLES, 2004; SHOWLER; GREENBERG; ARNASON, 2004).

Nardi et al. (2011) buscaram controlar *R. ferrugineus* (larva, pupa e adulto) em *P. canariensis* utilizando o nematoide *S. carpocapsae* e azadiractina. Para isso, o tratamento consistiu na mistura de Nemasys<sup>®</sup> C a uma concentração de  $50 \times 10^6$  JIs por planta e NeemAzal na concentração de 3 mL/ L. O volume de pulverização foi de 20L por planta. Os resultados mostraram que o a mistura causou mortalidade média de 68,6%.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros/UEP Rio Largo, AL.

#### 3.1 Obtenção de *Rhynchophorus palmarum* e manutenção em laboratório.

Os insetos foram capturados em coqueirais do município de Feliz Deserto, Litoral Sul de Alagoas, latitude: -10,264977 (10° 15' 53,919" S) e longitude: -36,270890 (36° 16' 15,205" W). A coleta de *R. palmarum* foi feita com o auxílio de armadilhas tipo balde com iscas à base de cana-de-açúcar e feromônio de agregação Rincoforol<sup>®</sup> (Interacta Química LTDA) (Figura 1).

Os insetos capturados foram mantidos em gaiolas quadrangulares com 30 cm<sup>3</sup>, alimentados com cana-de-açúcar e dispostos em sala climatizada à temperatura de 25 ± 1°C, foto fase de 12 horas e umidade relativa de 60 ± 10%. O alimento foi trocado a cada dois dias. Os adultos da broca-do-olho-do-coqueiro foram utilizados para os bioensaios com no máximo sete dias após captura em campo.

**Figura 1 – Armadilha tipo balde e captura de *Rhynchophorus palmarum*. A – Armadilha pronta para ser instalada. B – Armadilha instalada. C – Insetos capturados.**



Fonte: Autor, 2013 (A e B); Lima, H. M. A. 2013 (C).

### 3.2 Origem e Multiplicação dos Nematoides Entomopatogênicos.

Os NEPs utilizados no presente estudo foram provenientes da coleção da Embrapa CPATC, UEP Rio Largo, AL (Tabela 1), os quais foram armazenados em suspensões aquosas e colocados em câmara climatizada a 16°C.

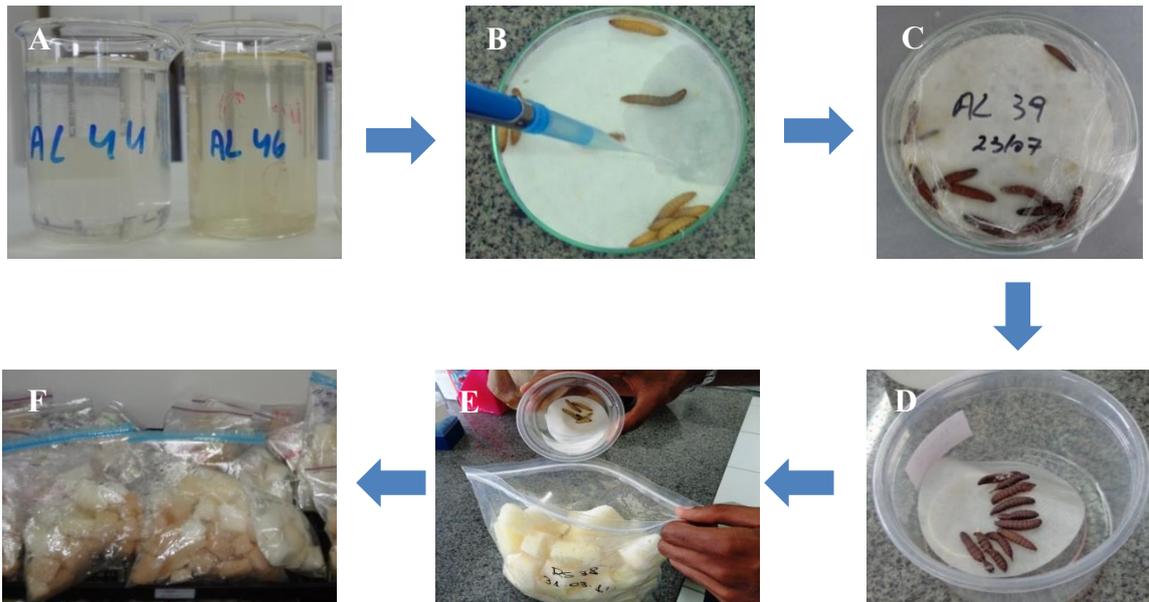
A multiplicação dos nematoides foi feita por métodos *in vivo* modificados de White (1927), Woodring e Kaya (1988) e Molina e López (2001), utilizando lagartas de último ínstar de *Galleria mellonella*, provenientes de criações já estabelecidas. Para isso, inoculou-se 2000 JIs suspensos em 2 mL de água destilada em dez lagartas de *G. mellonella* dispostas em uma placa de Petri forrada com dois discos de papel filtro (Figuras 2 A e 2 B). Após 72 horas as lagartas mortas foram dispostas em armadilhas de White (Figuras 2 C e 2 D). As coletas dos NEPs foram realizadas vertendo-se diariamente, por cinco dias, as suspensões aquosas contidas nas armadilhas em sacos do tipo zip-lock, contendo esponjas de poliuretano (Figuras 2 E e 2 F). Os nematoides foram armazenados em câmara fria à 16° C.

**Tabela 1 - Identificação e procedência dos isolados de nematoides entomopatogênicos.**

<b>Espécie</b>	<b>Isolado</b>	<b>Ambiente</b>	<b>Origem</b>
<i>Steinernema glaseri</i>	RS38	Milharal	Passo Fundo, RS
<i>Heterorhabditis</i> sp.	AL39	Coqueiral	São Miguel dos Campos, AL
<i>Heterorhabditis</i> sp.	AL43	Laranjal	Arapiraca, AL
<i>Heterorhabditis</i> sp.	AL44	Canavial	Arapiraca, AL
<i>Heterorhabditis</i> sp.	AL47	Canavial	Arapiraca, AL

Fonte: Autor, 2014.

**Figura 2 – Etapas da produção *in vivo* de juvenis infectantes. A – Suspensão de nematoides. B – Inoculação em *Galleria mellonella*. C – Lagartas com sintomas de mortalidade por nematoides entomopatogênicos. D – Disposição das lagartas mortas em armadilha de White. E – Vertendo-se a suspensão em saco zip-lock contendo esponjas. F – Armazenamento de juvenis infectantes em esponjas.**



Fonte: Autor, 2013.

### 3.3 Seleção de Isolados e Determinação da Concentração Letal de Nematoides Entomopatogênicos no Controle de *Rhynchophorus palmarum*.

Para a realização do ensaio foram utilizados recipientes plásticos com dimensões 15 x 10 x 5 cm (C x L x A), forrados cada um com 5 g de paneiro de coqueiro, que são camadas fibrosas que envolvem a base da bainha foliar. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Foram utilizados os nematoides *Steinernema glaseri* RS38, *Heterorhabditis* sp. AL43, *Heterorhabditis* sp. AL44, *Heterorhabditis* sp. AL39 e *Heterorhabditis* sp. AL47 nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 JIs/ mL (Figuras 3 A e 3 B). Como controle, foi utilizada água destilada. Foram utilizadas cinco repetições, cada repetição constituída por seis adultos de *R. palmarum*. Para todos os tratamentos utilizou-se o surfactante Will Fix<sup>®</sup> na concentração de 0,1%.

Aplicaram-se as suspensões com o auxílio de pulverizador manual de compressão prévia (Vonder<sup>®</sup>, referência PU 015) com capacidade de 1,5 L. Foram aplicados  $18 \pm 1$  mL da

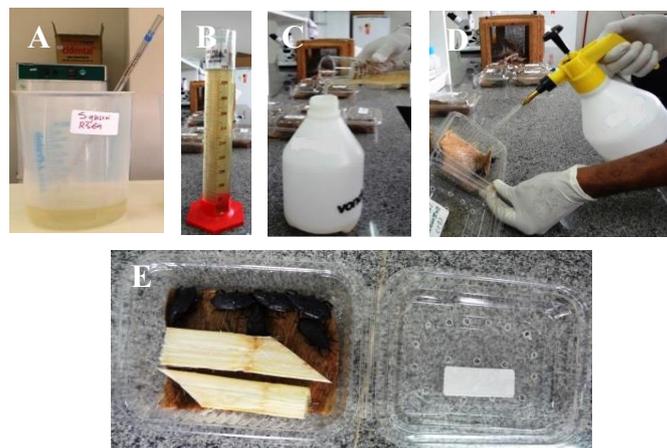
suspensão de NEPs por repetição (Figuras 3 C e 3 D). Colocaram-se duas seções de cana-de-açúcar de 5 cm de comprimento em cada recipiente para a alimentação dos insetos (Figura 3 E). Os tratamentos foram mantidos em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , foto fase de 12 horas e umidade relativa de  $60 \pm 10\%$ . A cana-de-açúcar foi trocada no terceiro dia após montagem do experimento.

A avaliação foi realizada durante cinco dias, verificando-se diariamente a mortalidade dos adultos de *R. palmarum*. Dez dias após a morte dos insetos, estes foram individualizados em placas de seis células (Figura 4 A), dissecados com a ajuda de pinças, retirando-se a hemolinfa dos mesmos (Figuras 4 C e 4 D). Logo após, adicionou-se água destilada sobre a hemolinfa e com o auxílio de um microscópio estereoscópio (Figura 4 B), foi verificado se nos insetos havia presença de NEPs e/ou sintomas (coloração da hemolinfa) para confirmação do agente causal.

Os dados de mortalidade dos insetos foram utilizados para determinar a patogenicidade de cada isolado, bem como a virulência, em diferentes concentrações.

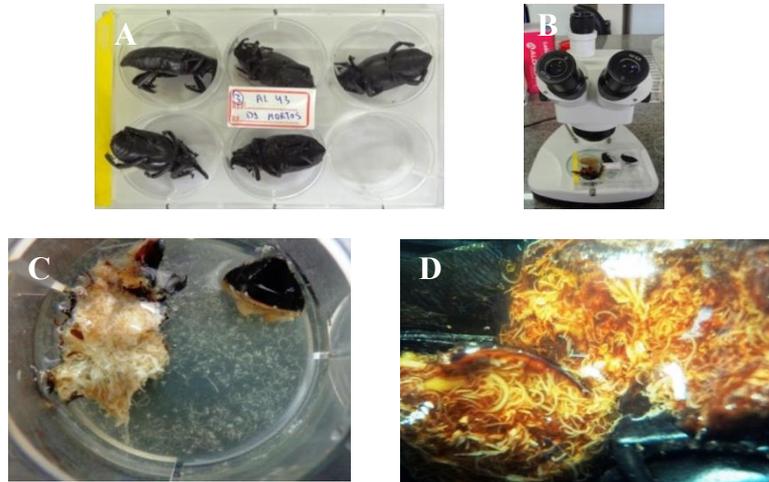
Análise de regressão polinomial foi realizada, seguida de análise de variância utilizando o programa estatístico Assistat 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2014) a 5 % de significância. Análise de Probit foi realizada a fim de determinar as concentrações letais ( $CL_{50}$ ,  $CL_{70}$  e  $CL_{90}$ ) de cada isolado, para tal usou-se o programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute Inc, 2003).

**Figura 3 – Etapas da montagem do bioensaio. A – Suspensão de juvenis infectantes. B – Determinação da concentração. C – Deposição da suspensão no pulverizador. D – Aplicação da suspensão. E – Adição de cana-de-açúcar.**



Fonte: Autor, 2013.

**Figura 4 – Avaliação de confirmação de mortalidade por nematoides entomopatogênicos. A – Insetos mortos na placa de seis células. B – Utilização de estereoscópio. C – Sintomas e sinais da morte por *Steinernema glaseri* RS38. D – Sintomas e sinais da morte por *Heterorhabditis* sp.**



Fonte: Autor, 2013.

### 3.4 Seleção de Inseticidas Botânicos no Controle de Adultos de *Rhynchophorus palmarum*.

#### 3.4.1 Ensaio com inseticidas botânicos.

Para a realização do ensaio de seleção de inseticidas botânicos, foram utilizados recipientes plásticos com dimensões 15 x 10 x 5 cm (C x L x A), forrados com 5g de paneiro de coqueiro. O bioensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os inseticidas botânicos usados foram: Derris Rotenona<sup>®</sup> CE (Agrotterra Insumos), Extrato Pirolenhoso<sup>®</sup> (Agrotterra Insumos), Pironim Super<sup>®</sup> WG (Agrotterra Insumos), Codipiroil<sup>®</sup> (Codipa Indústria e Comércio de - Agricultura e Pecuária), Óleo de Neem Puro (Organix<sup>®</sup>) (Figura 5), todos aplicados nas concentrações de 1, 5 e 10%. O controle foi composto de água destilada. Para todos os tratamentos utilizou-se o surfactante Will Fix<sup>®</sup> (Charmon Destyl Indústria Química LTDA) na concentração de 0,1%. Foram consideradas cinco repetições com seis adultos de *R. palmarum* por repetição. Nos recipientes adicionaram-se duas seções de cana-de-açúcar de 5 cm de comprimento, como dieta natural. A troca da cana-de-açúcar aconteceu três dias após montagem do ensaio.

As soluções foram aplicadas com o auxílio de pulverizador manual de compressão prévia Vonder<sup>®</sup>, com capacidade de 1,5 L. Aplicaram-se  $18 \pm 1$  mL da calda inseticida por

repetição (Figuras 6 A e 6 B). Os tratamentos foram mantidos em sala climatizada à temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , foto fase de 12 horas e umidade relativa de  $60 \pm 10\%$ .

A avaliação foi realizada durante cinco dias, verificando-se diariamente a mortalidade (Figura 6 C). Selecionou-se para os próximos ensaios o Óleo de Neem Puro que foi o produto natural que causou maior mortalidade. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação entre médias (Scott-Knott). Para tal, utilizou-se o programa estatístico Assistat 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2014) a 5 % de significância.

#### 3.4.2 Ensaio com óleo de nim.

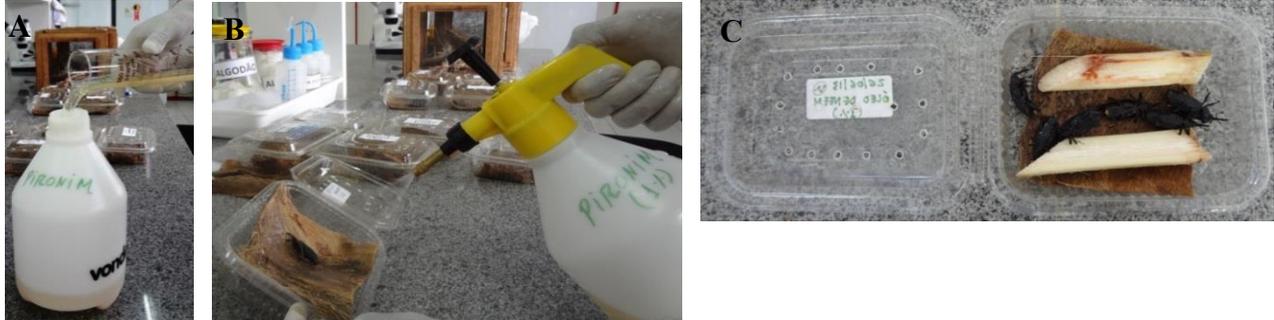
Para a determinação das CLs, foi selecionado o produto de maior eficiência. Determinaram-se suas concentrações letais:  $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ . Para isso, o bioensaio foi conduzido da mesma forma descrita acima. Utilizando como tratamentos as concentrações 1, 2, 3, 4 e 5% do óleo de nim e controle, todos aplicados com adição de surfactante Will Fix a 0,1%. A avaliação foi realizada durante cinco dias, verificando-se diariamente a mortalidade. Os dados obtidos foram submetidos à análise de Probit, utilizando o programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute Inc, 2003).

**Figura 5 – Inseticidas botânicos utilizados.**



Fonte: Autor, 2013.

**Figura 6 – Montagem do bioensaio e avaliação de mortalidade por inseticidas botânicos. A – Deposição da solução no pulverizador. B – Aplicação da solução. C – Insetos mortos.**



Fonte: Autor, 2013.

### 3.5 Teste de Compatibilidade de NEPs com Óleo de Nim.

Foram utilizados os nematoides *Steinernema glaseri* RS38, *Heterorhabditis* sp. AL39, *Heterorhabditis* sp. AL43, *Heterorhabditis* sp. AL44 e *Heterorhabditis* sp. AL47 todos com no máximo cinco dias de armazenamento e o Óleo de Neem Puro<sup>®</sup> nas concentrações de 1, 2, 3 e 4%. O controle foi composto por água destilada. Em todos os tratamentos utilizou-se o surfactante Will Fix<sup>®</sup> a 0,1%. Fez-se também o teste usando apenas o surfactante a 0,1%. O experimento foi composto de cinco repetições, cada repetição correspondeu a um tubo de ensaio de fundo chato contendo a mistura do inseticida e dos NEPs. A metodologia utilizada foi a de Negrisoli Jr. et al. (2008), por ser um método de baixo custo e o mais adequado na avaliação da compatibilidade entre NEPs e produtos fitossanitários de diferentes classes. Foram preparados 100 mL de solução do óleo de nim para cada concentração e alíquotas de 1 mL foram colocadas nos tubos (Figura 7 A). Em seguida adicionaram-se aos tubos uma suspensão de 2000 JIs em 1 mL de água destilada (Figura 7 B). Os tratamentos foram mantidos em ambiente controlado, na temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , foto fase de 12 horas e umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  (Figura 7 C).

A viabilidade dos nematoides foi avaliada 48 horas após exposição às concentrações do óleo de nim. Assim, uma alíquota de 0,1 mL da suspensão foi retirada e os JIs observados sob estereoscópio, para a determinação da mortalidade. Foram considerados mortos aqueles que não responderam a seguidos estímulos com agulha.

A infectividade dos nematoides foi testada no mesmo período que a viabilidade. Os tubos foram completados com água destilada (3 mL) e deixados para decantar por meia hora. O sobrenadante (cerca de 3 mL) foi descartado e a lavagem repetida por três vezes. Após a última lavagem, 2 mL (cerca de 2000 JIs) foram retirados de cada tubo e pipetados em cinco placas de Petri (uma para cada repetição) forradas com dupla camada de papel filtro por tratamento. Cada placa recebeu dez lagartas de último ínstar de *G. mellonella* e foi mantida em sala climatizada nas mesmas condições do teste anterior, durante cinco dias. As lagartas mortas foram contabilizadas e transferidas para armadilhas de White (Figura 8 A e B). Os nematoides produzidos foram contabilizados durante cinco dias, a fim de determinar a produção de cada isolado sob cada concentração utilizada. Os dados de viabilidade dos JIs e mortalidade de insetos foram submetidos à análise de variância.

Os dados de mortalidade de nematoides foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925):

$$M_{corr}\% = \left( \frac{Mt\% - Mc\%}{100 - Mc\%} \right) \times 100$$

Onde:  $M_{corr}\%$  = Mortalidade corrigida;  $Mt\%$  = Mortalidade do tratamento; e  $Mc\%$  = Mortalidade do controle.

A infectividade foi medida com a porcentagem de larvas de *G. mellonella* infectada. A redução de infectividade no tratamento em comparação com o controle foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$R_{inf}\% = \left( 1 - \frac{It\%}{Ic\%} \right) \times 100$$

Onde:  $R_{inf}\%$  = Redução da infectividade;  $It\%$  = Infectividade do tratamento; e  $Ic\%$  = Infectividade do controle.

A produção de cada isolado foi medida contabilizando o número de JIs descendentes. A redução da produção no tratamento em comparação com o controle foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$Rfec\% = \left(1 - \frac{Ft}{Fc}\right) \times 100$$

Onde: Rfec% = Redução na produção; Ft = Produção do tratamento; e Fc = Produção do controle.

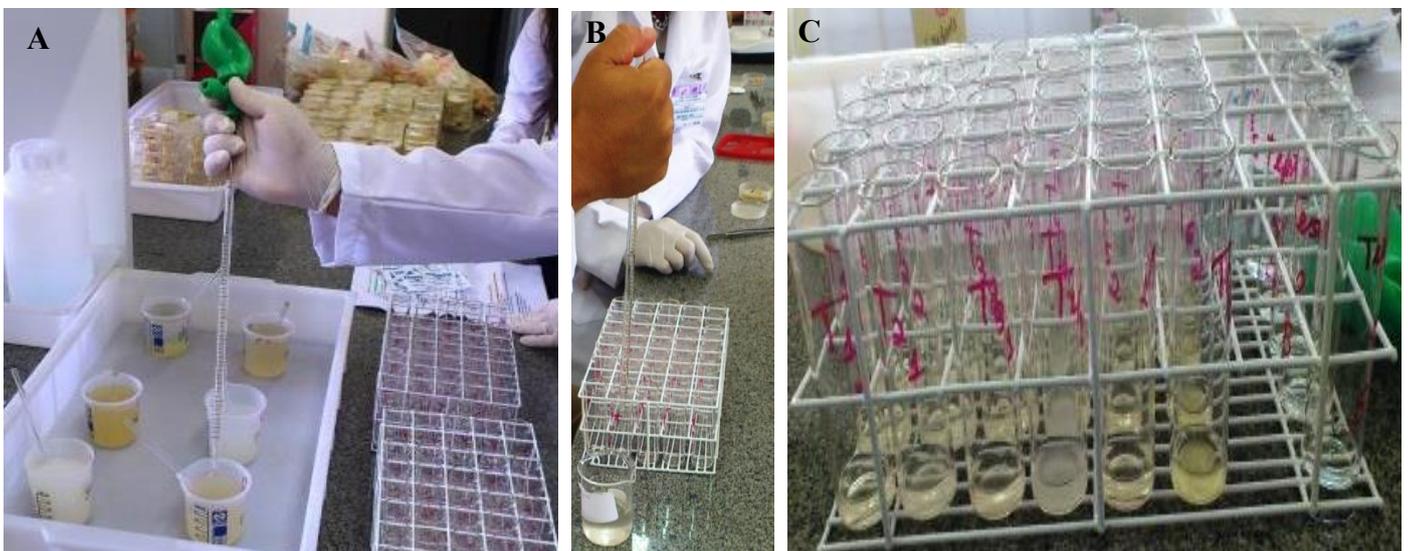
Para o cálculo do efeito do inseticida (E%), utilizou-se a fórmula modificada de Peters e Poullot (2004):

$$E\% = 100 - (100 - Mcorr\% - Rinf\% - Rfec\%)$$

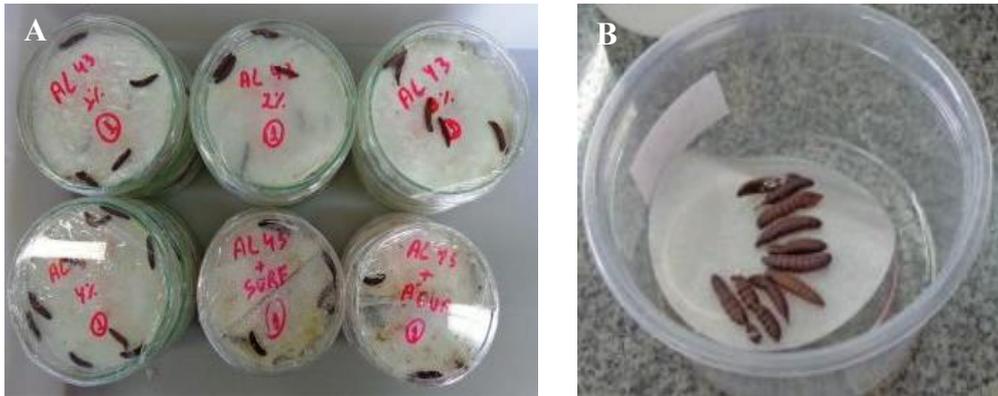
Para o cálculo de E%, atribui-se valor zero (0) quando os fatores Mcorr%, Rinf% e Rfec% apresentou valor negativo.

Essas fórmulas foram usadas de acordo com a International Organisation for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants (IOBC). Os valores do efeito do inseticida para cada isolado foram classificados como: inócuo (E% < 30); levemente nocivo (E% entre 30 a 79); moderadamente nocivo (E% entre 80 a 99); e nocivo (E% > 99). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando o programa Assisat 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2014) a 5% de significância.

**Figura 7 – Montagem do bioensaio. A – Adição da solução de óleo de nim. B – Adição da suspensão de Nematoides Entomopatogênicos. C – Disposição da suspensão e da solução nos tubos de fundo chato.**



**Figura 8 – Teste de infectividade e preparo das armadilhas de White para o teste de produção de Nematoides Entomopatogênicos. A – Infectividade de *Galleria mellonella* em diferentes tratamentos. B – Disposição das lagartas mortas por nematoides entomopatogênicos em armadilha de White.**



Fonte: Autor, 2013.

### 3.6 Eficiência da Mistura Contendo Nematoides Entomopatogênicos e Óleo de Nim no Controle de *Rhynchophorus palmarum*, em Laboratório.

Para a realização do ensaio foram utilizados recipientes plásticos com dimensões 15 x 10 x 5 cm (C x L x A), forrados com 5 g de paneiro de coqueiro. Foi utilizado o NEP *Heterorhabditis* sp. AL43 e o óleo de nim. Portanto, os tratamentos foram: NEP nas concentrações 500, 1000, 1500 e 2000 JI/ mL; nim nas concentrações 1, 2, 3 e 4%; NEP + nim nas concentrações 2000 JI/ mL + 1%, 1500 JI/ mL + 2%, 1000 JI/ mL + 3% e 500 JI/ mL + 4%, de forma que a concentração do nematoide fosse inversamente proporcional à concentração do nim, objetivando assim observar se houve interação positiva ou negativa. O controle foi composto por água destilada. Em todos os tratamentos utilizou-se o surfactante Will Fix<sup>®</sup> na concentração de 0,1%. Foram consideradas cinco repetições. Colocaram-se seis adultos de *R. palmarum* por repetição. A troca da cana aconteceu três dias após montagem do ensaio.

Os tratamentos foram aplicados com o auxílio de pulverizador manual de compressão prévia Vonder<sup>®</sup>. Aplicaram-se  $18 \pm 1$  mL da mistura de NEPs e óleo nim por repetição. Foram colocadas duas seções de cana-de-açúcar de 5 cm de comprimento, partidas longitudinalmente, como dieta natural aos *R. palmarum*. Os tratamentos foram mantidos em

ambiente controlado com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , foto fase de 12 horas e umidade relativa de  $60 \pm 10\%$ .

A avaliação foi realizada durante cinco dias, verificando-se diariamente a mortalidade. Os insetos mortos foram colocados em câmara seca e após dez dias foram individualizados em placas de seis células, dissecados com a ajuda de pinças, retirando-se toda hemolinfa dos mesmos. Logo após, adicionou-se água destilada sobre a hemolinfa e com o auxílio de um microscópio estereoscópio verificou-se se nos insetos se havia presença de NEPs e/ou sintomas (coloração da hemolinfa) para confirmação do agente causal.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação entre médias (Tukey). Para tal, utilizou-se o programa estatístico Assistat 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2014) a 5 % de significância. Fez-se, utilizando o programa estatístico SAS 9.1 (SAS Institute Inc, 2003), análise de Probit para determinação dos tempos letais ( $TL_{50}$  e  $TL_{70}$ ).

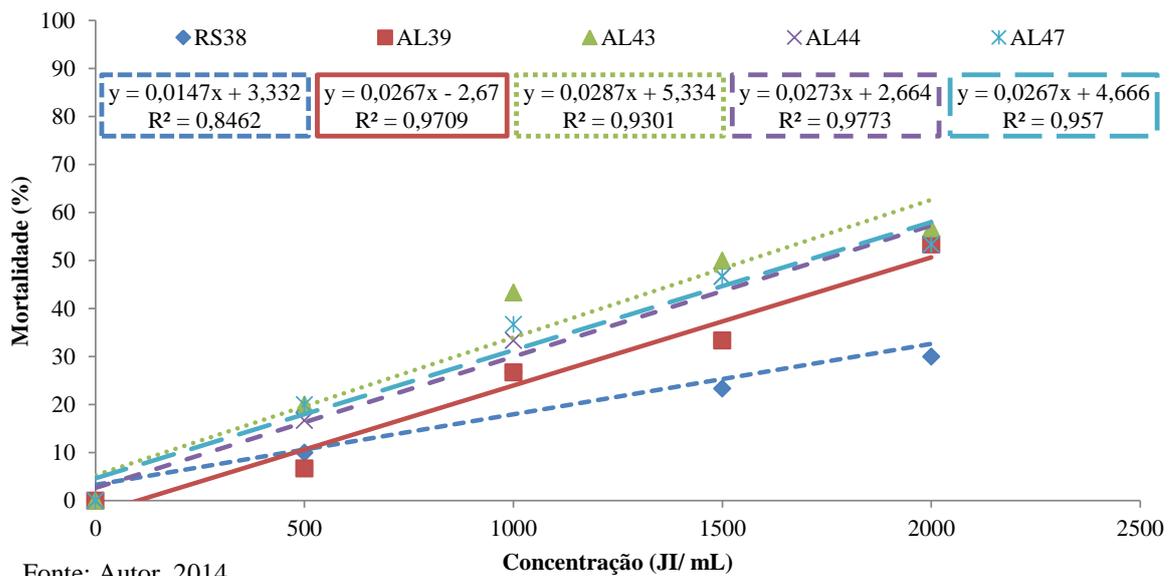
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Seleção de Isolados de Nematoides Entomopatogênicos no Controle de *Rhynchophorus palmarum*.

Todos os isolados nas concentrações utilizadas foram patogênicos aos adultos de *R. palmarum*, sendo que houve um acréscimo na mortalidade dos insetos em função do aumento da concentração de JIs, chegando a 56,6% de mortalidade confirmada na concentração de 2000 JIs/ mL para o NEP *Heterorhabditis* sp. AL43 (Figura 9).

Na concentração de 500 JI/ mL os NEPs proporcionaram mortalidade de 10%; 6,6%; 20%; 16,6% e 20% para os nematoides *Steinernema glaseri* RS38, *Heterorhabditis* sp. AL39, *Heterorhabditis* sp. AL43, *Heterorhabditis* sp. AL44 e *Heterorhabditis* sp. AL47, respectivamente. Com isso, verificou-se que os isolados AL43 e AL47 foram os mais eficientes nesta concentração. O NEP *Heterorhabditis* sp. AL39 apresentou-se como o menos eficiente nessa concentração.

**Figura 9 – Mortalidade de adultos de *Rhynchophorus palmarum* causada por isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório (25 ± 1°C; U.R. 70 ± 10% e foto fase de 12h).**



Na segunda concentração testada (1000 JIs/ mL), o isolado AL43 apresentou maior taxa de mortalidade em adultos de *R. palmarum*, sendo responsável pela morte de 43,3% dos insetos testados. *Heterorhabditis* sp. AL47 e AL44 mostraram eficiência em 36,6% e 33,3%, respectivamente. Os menos eficientes foram AL39 e RS38, onde ambos mataram 26,6% desta praga.

Na concentração de 1500 JI/ mL, os NEPs apresentaram taxa de mortalidade de adultos de *R. palmarum* em 23,3%, 33,3%, 50%, 46,6% e 46,6% dos insetos testados. Isso, para os nematoides *Steinernema glaseri* RS38, *Heterorhabditis* sp. AL39, *Heterorhabditis* sp. AL43, *Heterorhabditis* sp. AL44 e *Heterorhabditis* sp. AL47, respectivamente. Com isso, verificou-se que o isolado AL43 foi o mais eficiente nesta concentração. Verificou-se também que em comparação às concentrações de 500 e 1000 JIs/ mL, os nematoides apresentaram crescimento em suas virulências, com exceção do *S. glaseri* RS38 que diminuiu sua eficiência em relação a 1000 JIs/ mL.

Na quarta concentração testada (2000 JIs/ mL), o nematoide *Heterorhabditis* sp. AL43 continuou apresentando maior taxa de mortalidade em adultos de *R. palmarum*, sendo responsável por 56,6% das mortes nos insetos testados. Os demais heterorhabtideos (AL39, AL44 e AL47) proporcionaram, igualmente, 53,3% de mortalidade. O isolado RS38 foi o menos eficiente, causando mortalidade em 30% dos insetos testados. Portanto, de acordo com os dados divulgados na figura 9, conclui-se que os NEPs do gênero *Heterorhabditis* mostraram-se mais eficiente que *S. glaseri* RS38.

Os resultados obtidos com a utilização do isolado AL43 na concentração 2000 JIs/ mL mostram que os nematoides podem ser igualmente eficientes quando comparados ao fungo *B. bassiana*. Mendonça (2007) encontrou mortalidade de 61,4% de adultos de *R. palmarum* usando *B. bassiana* na concentração de  $10^9$  conídios/ mL. No entanto, sabe-se que o fungo apresenta vantagem por poder ser disseminado através do hábito comportamental do inseto. Por outro lado, os nematoides se sobressaem por causar mortalidade em curto período de tempo e por serem capazes de irem à busca do hospedeiro, mesmo que estes estejam em ambientes de difícil acesso (crípticos).

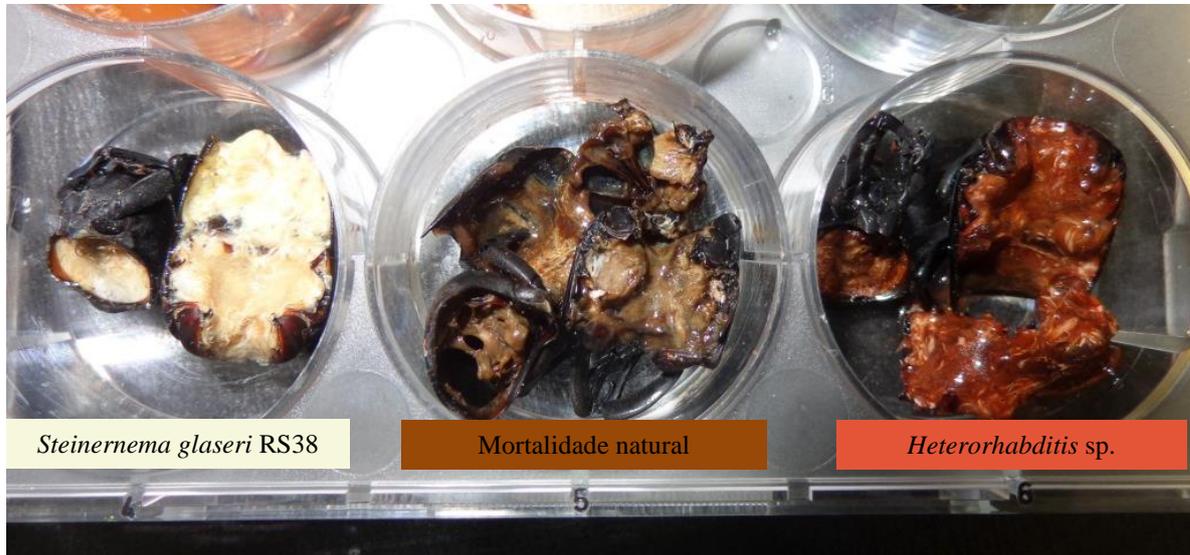
Resultados obtidos por Almeida et al. (2005), em testes com adultos de *R. palmarum*, o nematoide *Heterorhabditis* sp. proporcionou até 92% de mortalidade na dosagem de 50.000 JIs/inseto. No entanto, essa dosagem é cerca de oito vezes maior que a utilizada neste trabalho e foi aplicado em areia favorecendo a ação do NEP. Justificando assim, a maior taxa de mortalidade.

A menor virulência encontrada para *S. glaseri* RS38, em comparação ao isolados do gênero *Heterorhabditis*, pode ser explicada com base no princípio de que a penetração dos steinernematídeos se dá apenas pelos orifícios naturais do inseto. Em contra partida, os *Heterorhabditis* além de utilizarem as aberturas naturais do inseto para penetração, apresentam um dente córneo na região anterior do corpo e conseguem penetrar em algumas regiões menos resistente do exoesqueleto do inseto (ALMENARA et al., 2012).

Rodrigueiro et al. (2008) constatou que o tegumento mais quitinizado do *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) induziu resistência na penetração de nematoides, além da habilidade de realizar comportamentos de auto-limpeza quando percebem a presença dos nematoides no corpo, diminuindo assim a incidência de infecções por esses patógenos. Mastore et al. (2014), estudando as respostas imunológicas de larvas de *R. ferrugineus* a *S. carpocapsae*, verificaram que esta praga possui um sistema imunológico eficiente, depositando melanina e encapsulando os NEPs.

Observaram-se alguns insetos mortos apresentando sintomatologia de morte por NEP-bactéria (coloração da hemolinfa), mas não foram encontrados nematoides (Figura 10). Isto sugere que o sistema imunológico de *R. palmarum* foi eficiente para controlar a ação dos nematoides, mas não impediu que estes liberassem suas bactérias o que acabou gerando infecção generalizada e conseqüentemente morte dos insetos. De acordo com Almenara et al. (2012), espécies do gênero *Steinernema* liberam suas bactérias em até 6 horas enquanto, os heterorhabditídeos levam cerca de 30 minutos para fazer essa liberação. Isto pode sugerir que a defesa do inseto tenha agido após este período.

**Figura 10 – Sintomatologia (coloração da hemolinfa) de adultos de *R. palmarum* mortos por nematoides entomopatogênicos em comparação ao morto por outra causa.**

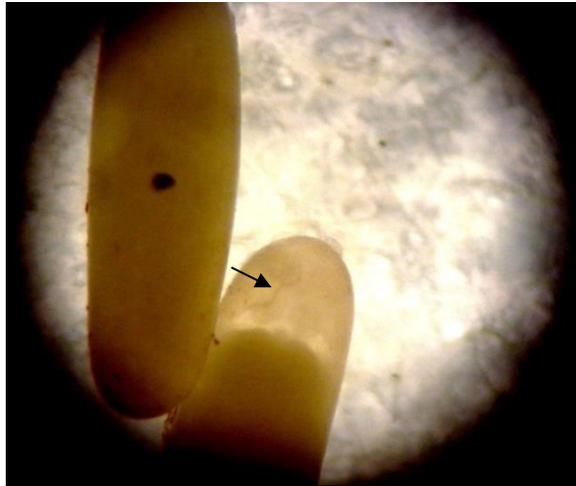


Fonte: Autor, 2013.

Pôde-se observar durante esses experimentos JI de *Heterorhabditis* sp. AL43 no interior de um ovo de *R. palmarum* (Figura 11). O mesmo foi observado, em outro momento, por Negrisolli Jr. (dados não publicados) utilizando *Heterorhabditis* sp. AL39. Resultados obtidos por Machado et al. (2005), mostram que utilizando *Heterorhabditis indica* nas doses de 60 e 600 JIs/ ovo causaram inviabilidade em 53,3 e 60% dos ovos de *Migdolus fryanus* (Westwood,1863) (Coleoptera: Cerambycidae), respectivamente.

Essas informações associadas ao fato de os NEPs possuírem grande eficiência no controle de pragas com hábitos crípticos (BEGLEY, 1990) e por serem patogênicos a larvas de *R. palmarum* (SANTOS et al., 2012) e larvas, pupas e adultos de *R. ferrugineus* (ABBAS; SALEH; AKIL, 2001), fortalece a potencialidade do uso dos NEPs no controle de ovos, larvas, pupas e adultos da broca-do-olho-do-coqueiro.

**Figura 11 – Presença de juvenil infectivo parasitando ovo de *Rhynchophorus palmarum*.**



Fonte: Autor, 2013.

De maneira geral os isolados do gênero *Heterorhabditis* foram igualmente eficientes, no controle de adultos de *R. palmarum*, o que dificultou na escolha do NEP mais eficiente. Para isso foi adotado como padrão de seleção o NEP que apresentou maior virulência (menor  $CL_{50}$ ) (Tabela 2). Sendo assim, selecionou-se *Heterorhabditis* sp. AL43 como o isolado mais eficiente.

**Tabela 2 – Análise de Probit para determinação das concentrações letais ( $CL_{50}$ ,  $CL_{70}$ ,  $CL_{90}$ ) dos isolados de nematoides *Steinernema glaseri* RS38, *Heterorhabditis* sp. AL39, *Heterorhabditis* sp. AL43, *Heterorhabditis* sp. AL44, *Heterorhabditis* sp. AL47.**

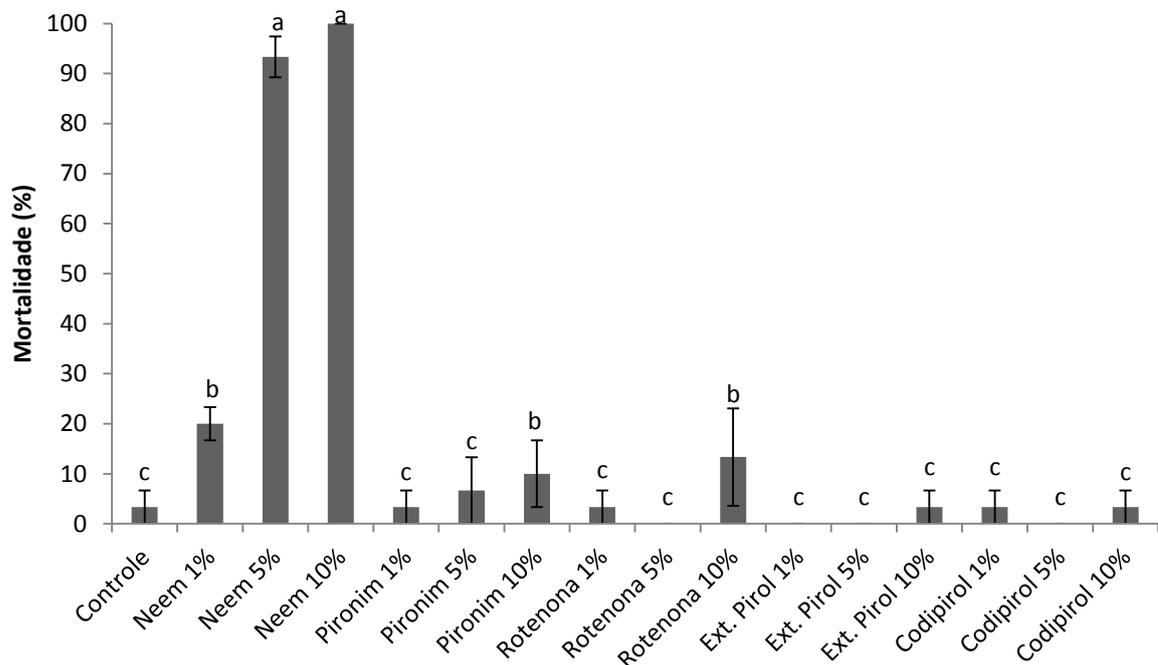
Isolado	$CL_{50}$ (JI/mL) (IC 95%)	$CL_{70}$ (JI/mL) (IC 95%)	$CL_{90}$ (JI/mL) (IC 95%)	$X^2$	P	Inclinação $\pm$ EP
<b>RS38</b>	5693 (-)	17140 (-)	84158 (-)	1,02	0,59	1,09 $\pm$ 0,60
<b>AL39</b>	1964 (1528 - 3453)	3203 (2216 - 9023)	6490 (3613 - 37879)	0,61	0,73	2,47 $\pm$ 0,65
<b>AL43</b>	1479 (1065 - 2939)	3084 (1935 - 20364)	8909 (3836 - 398165)	0,35	0,84	1,64 $\pm$ 0,54
<b>AL44</b>	1741 (1278 - 3855)	3441 (2134 - 21096)	9199 (4043 - 271758)	0,03	0,98	1,77 $\pm$ 0,56
<b>AL47</b>	1721 (1214 - 5091)	3771 (2165 - 59620)	11709 (4372 - 23758061)	0,02	0,99	1,54 $\pm$ 0,54

Fonte: Autor, 2014.

#### 4.2 Seleção de Inseticidas Botânicos no Controle de Adultos de *Rhynchophorus palmarum*.

Após os dados levantados, verificou-se que o inseticida botânico Óleo de Neem Puro<sup>®</sup> apresentou alta eficiência no controle de adultos da broca-do-olho-do-coqueiro, apresentando 93 e 100% de mortalidade nas concentrações 5 e 10%, respectivamente, não diferindo entre si, mas apresentaram diferença com os demais tratamentos testados. Já os produtos Derris Rotenona<sup>®</sup> CE, Extrato Pirolenhoso<sup>®</sup>, Pironim Super<sup>®</sup> WG e Codipirol<sup>®</sup> não se mostraram eficientes no controle de *R. palmarum* apresentando taxa de mortalidade inferior a 15% mesmo na maior concentração (Figura 12).

**Figura 12 – Ensaio com inseticidas botânicos na mortalidade de adultos de *Rhynchophorus palmarum* em condições de laboratório (25 ± 1°C; U.R. 70 ± 10% e foto fase de 12h).**



**F = 26,4594; P < 0,001; CV = 79,93%**

**Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.**

Fonte: Autor, 2014.

Estudos realizados por Abdullah (2009) mostraram que aplicando-se extratos de rotenona sobre o colmo da cana-de-açúcar, esta causou mortalidade em 6,2; 28,1 e 47,3% de

adultos de *R. ferrugineus*, respectivamente, nas concentrações 1,5; 6,0 e 9,0%. Valores estes superiores ao encontrado neste trabalho, aonde o inseticida à base de rotenona matou no máximo 13,3% dos insetos testados na maior concentração (10%). Saito e Luchini (1998) relatam que a rotenona é eficaz para o controle de besouros, porém sua toxicidade pode ser mais ou menos ativa de acordo com a espécie de inseto e, sua ação pode ser tardia. Isto, pode justificar o fato da espécie *R. palmarum* ter apresentado menor taxa de mortalidade em relação ao *R. ferrugineus* ou então, o tempo de avaliação não foi suficiente para evidenciar os efeitos da rotenona em adultos da broca-do-olho-do-coqueiro.

De acordo com Tsuzuki, Morimitsu, Matsui (2000), em condições naturais, o efeito do extrato pirolenhoso dá-se devido à ativação de substâncias do metabolismo secundário das plantas, induzindo desta maneira a resistência ao ataque dos insetos. Portanto, acredita-se que maior eficiência do extrato pirolenhoso no controle de *R. palmarum* só poderá ser observada quando aplicado em plantas de coqueiro. Justificando assim, as baixas eficiências dos produtos Extrato Pirolenhoso, Codipirol e Pironim. Pansiera et al. (2003b) constataram que ao aplicarem extrato pirolenhoso de *E. grandis* em folhas de tomateiro, conseguiram reduzir significativamente a oviposição de *T. absoluta* induzindo desta maneira a resistência ao ataque dos insetos.

Bream et al. (2001), testando seis doses de azadiractina, no intervalo de 0.5 - 0.001 µg/inseto em prepupa de *R. ferrugineus* mostraram que houve alteração no desenvolvimento e morfogênese nos insetos testados. Foram diagnosticadas nas pupas: desidratação, perda de peso, pequeno índice de crescimento, levando-as a morte. Além disso, observaram-se várias deformações em adultos. Abdullah et al. (2010), usaram as doses de 50, 100 e 500 ppm de extrato de nim sobre prepupas de *R. ferrugineus*, objetivando investigar os efeitos sobre a histologia dos ovários e testículos, e em alguns parâmetros biológicos. Os resultados mostraram que o nim foi capaz de interromper o crescimento, desenvolvimento e reprodução desta praga. Portanto, as informações obtidas por Bream et al. (2001) e Abdullah et al. (2010) mostram que além de ser bastante eficiente na mortalidade de adulto de *R. palmarum*, o óleo de nim pode ser eficiente nas formas imaturas desta praga.

Uma vez o produto à base de óleo de nim sendo o que causou maior mortalidade em *R. palmarum*, determinou-se os valores de suas concentrações letais. Foram estabelecidos como parâmetros de escolha as  $CL_{50}$  (2,19%) e  $CL_{90}$  (6,42%) (Tabela 3).

**Tabela 3 – Análise de Probit para determinação das concentrações letais ( $CL_{50}$  e  $CL_{90}$ ) do inseticida natural Óleo de Neem Puro<sup>®</sup> em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h).**

Óleo de Neem Puro <sup>®</sup>				
$CL_{50}$ (IC 95%)	$CL_{90}$ (IC 95%)	$X^2$	P	Inclinação $\pm$ EP
2,19 (1,75- 2,63)	6,42 (4,83 – 10,90)	3,67	0,30	$2,74 \pm 0,48$

Fonte: Autor, 2014.

#### 4.3 Teste de Compatibilidade de Nematoides Entomopatogênicos com Óleo de Nim.

Em relação à viabilidade os resultados para *S. glaseri* RS38 (Tabela 4) mostram que surfactante e nim a 1 e 4% apresentaram valores superior a 90%, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo dos demais. Nim a 2 e 3% apresentaram 52,3 e 64% de viabilidade de nematoide, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si.

Quanto à infectividade, não houve diferença significativa entre os tratamentos. As taxas de infectividade apresentadas foram: 96% surfactante; 96, 94, 80 e 98% para nim de 1 a 4%, respectivamente. Os resultados de viabilidade assemelham-se aos encontrados por Murugan e Vasugi (2011), que demonstraram que ao expor *S. glaseri* ao óleo de nim a 4%, encontrou 99,5% de viabilidade. Já a infectividade encontrada por esses autores em cupins foi inferior, chegando a 47% na concentração de 2000 JIs/ mL.

Os valores de efeito do inseticida (E%) para *S. glaseri* RS38 mostram que o produto Óleo de Neem Puro<sup>®</sup> é compatível ao nível de 1%, corroborando com Krishnayya e Grewal (2002) que concluíram não haver qualquer efeito do óleo de nim a 1% sobre *S. feltiae*. O mesmo foi concluído por Laznik e Trdan (2013), quando testou o impacto da azadiractina a 0,3% sobre *S. feltiae*.

Este inseticida foi, de acordo com a IOBC, considerado levemente nocivo ao nematoide *S. glaseri* RS38 nas concentrações 2, 3 e 4%. Apesar deste produto, na concentração de 4%, causar baixa mortalidade (5,6%) de JIs e baixa redução de infectividade (2%), diminui consideravelmente (68,2%) o poder reprodutivo deste isolado. Stark (1996) observou que o produto Margosan-O, uma formulação comercial do nim, também foi incompatível com os nematoides *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. glaseri*, mas em doses muito superiores à recomendada (20 mg de azadiractina/ L).

Tabela 4 – Efeito da associação entre óleo de nim e *Steinernema glaseri* RS38.

<i>Steinernema glaseri</i> RS38							
Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	Mcorr%	Rinf%	Rfec%	E%	Classe IOBC
Controle	98,3±0,9 a	100,0±0,0 a	0	0,0	0,0	0,0	Inócuo
Surfactante	97,9±0,5 a	96,0±4,0 a	0,4	4,0	-43,9	4,4	Inócuo
Neem 1%	92,2±2,2 a	96,0±2,0 a	6,2	4,0	-127,5	10,2	Inócuo
Neem 2%	52,3±4,7 b	94,0±4,0 a	46,8	6,0	-374,9	52,8	levemente nocivo
Neem 3%	64,0±5,3 b	80,0±20,0 a	34,9	20,0	-247,2	54,9	levemente nocivo
Neem 4%	92,9±1,6 a	98,0±2,0 a	5,6	2,0	68,2	75,8	levemente nocivo
CV	8,54%	20,30%	-	-	-	-	-
F	39,7755**	0,7291 ns	-	-	-	-	-
P	< 0,001	> 0,050	-	-	-	-	-

Mcorr = Mortalidade corrigida de JIs

Rinf = Redução de infectividade

Rfec = Redução na produção

E = Efeito do inseticida

\*\* = significativo a 1% de probabilidade

ns = não significativo

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

Os efeitos do óleo de nim sobre os heterorhabditídeos (Tabelas 5, 6, 7 e 8) mostram que, quanto à viabilidade, todos os tratamentos foram semelhantes estatisticamente, apresentando valores de: 97,7 a 100% para o isolado AL39; 98,6 a 99,7% para AL43; 98,1 a 99,4% para AL44; 96,8 a 99,7% para AL47. Laznik e Trdan (2013) encontraram 100% de viabilidade quando testou o impacto da azadiractina a 0,3% sobre *H. bacteriophora*, assemelhando-se aos resultados deste trabalho.

Quanto à infectividade, *Heterorhabditis* sp. AL39 não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, apresentando taxas de 100% para surfactante, nim 2 e 3% e 96% para nim 1 e 4%. *Heterorhabditis* sp. AL43 foi 100% infectivo para larvas de *G. mellonella* após ser exposto ao surfactante, nim 2 e 4%, sendo semelhantes estatisticamente entre eles e nim a 1%, no tratamento com nim a 3% a infectividade foi de 90%, diferindo dos tratamentos com surfactante e nim (2 e 4%), no entanto foi semelhante a nim 1%. Já *Heterorhabditis* sp. AL44 não mostrou diferença estatística entre seus tratamentos, apresentando taxas de 100% para nim 2 e 4%, e 98% para nim 1 e 3% e 96% para surfactante. Por fim, os JIs de *Heterorhabditis* sp. AL47 proporcionaram 100% de infectividade após serem expostos ao nim 1, 2 e 3%, 94% no tratamento com nim 4%, não apresentando diferença estatística entre si, e 86% no tratamento com surfactante, este sendo semelhante ao nim 4% e diferindo significativamente dos demais tratamentos (Tabelas 5, 6, 7 e 8).

Em todas as concentrações testadas, o óleo de nim mostrou-se inócuo aos heterorhabditídeos. Além disso, induziu o aumento na produção de JIs para todos isolados, em relação ao tratamento controle. Por outro lado, Rohde et al. (2013) observaram que os extratos aquosos das folhas, ramos e frutos de cinamomo *Melia azedarach* (Meliaceae), mesma família do nim, na proporção de 40% p/v foram incompatíveis ao nematoide *Heterorhabditis* sp. JPM4, pois apresentaram viabilidade inferior a 4% e redução na infectividade superior a 86%, após 48 horas de exposição, mostrando-se nocivo ao uso conjunto.

O surfactante Will Fix<sup>®</sup> a 0,1% foi inócuo para *Heterorhabditis* sp. AL43 e *Heterorhabditis* sp. AL44, no entanto foi levemente nocivo a *Heterorhabditis* sp. AL39 e *Heterorhabditis* sp. AL47, isto por que o espalhante adesivo reduziu o poder reprodutivo destes isolados. O fato do surfactante ter se mostrado levemente nocivo a estes isolados, pode indicar que seria possível encontrar resultados mais expressivos no experimento de seleção de isolados caso fosse utilizado um produto compatível com os nematoides testados. Portanto, objetivando uma aplicação mais eficiente, deve-se conhecer de antemão quais surfactantes são adequados para uso no campo, uma vez que cada isolado pode ser mais ou menos sensível ao adjuvante.

Tabela 5 – Efeito da associação entre óleo de nim e *Heterorhabditis* sp. AL39.

<i>Heterorhabditis</i> sp. AL39							
Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	Mcorr%	Rinf%	Rfec%	E%	Classe IOBC
Controle	99,8±0,2 a	100,0±0,0 a	0,0	0,0	0,0	0,0	Inócuo
Surfactante	99,2±0,5 a	100,0±0,0a	0,5	0,0	61,2	61,7	levemente nocivo
Neem 1%	100,0±0 a	96,0±2,4 a	-0,2	4,0	-51,7	4,0	Inócuo
Neem 2%	99,3±0,4 a	100,0±0,0 a	0,4	0,0	-5,4	0,5	Inócuo
Neem 3%	98,9±0,5 a	100,0±0,0 a	0,9	0,0	-42,6	0,9	Inócuo
Neem 4%	97,7±0,9 a	96,0±4,0 a	2,0	4,0	-10,6	6,0	Inócuo
CV	1,15%	4,73%	-	-	-	-	-
F	2,0989 ns	0,8923 ns	-	-	-	-	-
P	0,1006	> 0,050	-	-	-	-	-

Mcorr = Mortalidade corrigida de JIs

Rinf = Redução de infectividade

Rfec = Redução na produção

E = Efeito do inseticida

ns = não significativo

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

Tabela 6 – Efeito da associação entre óleo de nim e *Heterorhabditis* sp. AL43.

<i>Heterorhabditis</i> sp. AL43							
Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	Mcorr%	Rinf%	Rfec%	E%	Classe IOBC
Controle	99,7±0,3 a	98,0±2,0 ab	0	0,0	0,0	0,0	Inócuo
Surfactante	99,7±0,3 a	100,0±0,0 a	0	-2,0	-15,3	0,0	Inócuo
Neem 1%	99,5±0,3 a	98,0±2,0 ab	0,2	0,0	-153,7	0,2	Inócuo
Neem 2%	99,7±0,2 a	100,0±0,0 a	0	-2,0	-229,0	0,0	Inócuo
Neem 3%	98,6±0,6 a	90,0±4,5 b	1,1	8,2	-430,9	9,2	Inócuo
Neem 4%	98,9±0,9 a	100,0±0,0 a	0,8	-2,0	-262,0	0,8	Inócuo
CV	1,12%	4,95%	-	-	-	-	-
F	0,9321 ns	3,2286*	-	-	-	-	-
P	> 0,050	0,0228	-	-	-	-	-

Mcorr = Mortalidade corrigida de JIs

Rinf = Redução de infectividade

Rfec = Redução na produção

E = Efeito do inseticida

ns = não significativo

\* = significativo a 5% de probabilidade

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

Tabela 7 – Efeito da associação entre óleo de nim e *Heterorhabditis* sp. AL44.

<i>Heterorhabditis</i> sp. AL44							
Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	Mcorr%	Rinf%	Rfec%	E%	Classe IOBC
Controle	99,3±0,4 a	98,0±2,0 a	0	0,0	0,0	0,0	Inócuo
Surfactante	99,2±0,4 a	96,0±2,4 a	0,1	2,0	14,0	16,1	Inócuo
Neem 1%	99,0±0,7 a	98,0±2,0 a	0,3	0,0	-182,4	0,3	Inócuo
Neem 2%	98,1±1,1 a	100,0±0,0 a	1,1	-2,0	-244,6	1,1	Inócuo
Neem 3%	98,6±0,6 a	98,0±2,0 a	0,7	0,0	-148,8	0,7	Inócuo
Neem 4%	99,4±0,3 a	100,0±0,0 a	-0,1	-2,0	-107,3	0,0	Inócuo
CV	1,50%	3,94%	-	-	-	-	-
F	0,4822 ns	0,7556 ns	-	-	-	-	-
P	> 0,050	> 0,050	-	-	-	-	-

Mcorr = Mortalidade corrigida de JIs

Rinf = Redução de infectividade

Rfec = Redução na produção

E = Efeito do inseticida

ns = não significativo

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

Tabela 8 – Efeito da associação entre óleo de nim e *Heterorhabditis* sp. AL47.

<i>Heterorhabditis</i> sp. AL47							
Tratamento	Viabilidade (%)	Infectividade (%)	Mcorr%	Rinf%	Rfec%	E%	Classe IOBC
Controle	99,7±0,4 a	100,0±0,0 a	0,0	0,0	0,0	0,0	Inócuo
Surfactante	99,4±0,7 a	86,0±6,8 b	0,3	14,0	47,5	61,7	levemente nocivo
Neem 1%	96,8±0,6 a	100,0±0,0 a	2,8	0,0	-389,0	2,8	Inócuo
Neem 2%	98,3±0,5 a	100,0±0,0 a	1,4	0,0	-247,0	1,4	Inócuo
Neem 3%	99,4±0,4 a	100,0±0,0 a	0,3	0,0	-334,4	0,3	Inócuo
Neem 4%	98,4±1,2 a	94,0±2,4 ab	1,3	6,0	-407,8	7,3	Inócuo
CV	1,57%	7,09%	-	-	-	-	-
F	2,3140 ns	3,3286*	-	-	-	-	-
P	0,0752	0,0201	-	-	-	-	-

Mcorr = Mortalidade corrigida de JIs

Rinf = Redução de infectividade

Rfec = Redução na produção

E = Efeito do inseticida

ns = não significativo

\* = significativo a 5% de probabilidade

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

Segundo Zasada e Ferris (2004), a maior sensibilidade de algumas espécies de nematoide ocorre devido às variações nas características biológicas das mesmas, tornando-as inerentemente, mais ou menos resistentes aos efeitos nocivos de determinados produtos. Portanto, isso pode explicar a maior sensibilidade apresentada por *S. glaseri* em relação aos heterorhabditídeos.

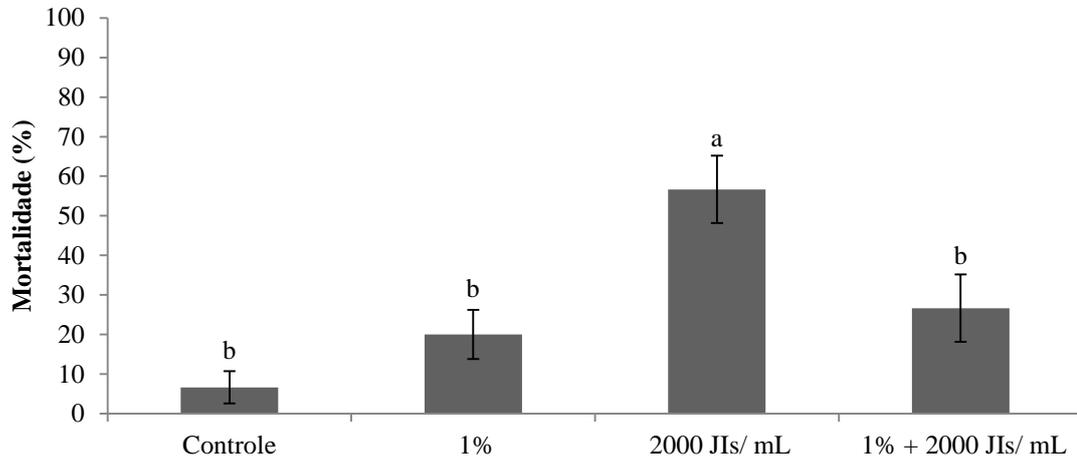
#### 4.4 Eficiência da Mistura Contendo Nematoides Entomopatogênicos e Óleo de Nim no Controle de *Rhynchophorus palmarum*, em Laboratório.

O tratamento contendo apenas óleo de nim a 1% provocou 20% de mortalidade em adultos de *R. palmarum*. O nematoide *Heterorhabditis* sp. AL43 na concentração de 2000 JIs/ mL apresentou eficiência de 56,6%. Por outro lado, o mesmo inseticida e o mesmo isolado, nas mesmas concentrações, quando aplicados em mistura, causou mortalidade em 26,6%, havendo interação negativa. Isto indica que este inseticida botânico, nesta concentração, suprimiu a virulência do NEP (Figura 13). No tratamento (1500 JIs/ mL + nim 2%) quando comparado com os tratamentos, de forma separada, os valores foram estatisticamente iguais (Figura 14).

Encontrou-se interação positiva quando se misturou nim e NEP nas concentrações 3% e 1000 JIs/ mL, pois a mistura causou mortalidade de 60% e só o inseticida e só o nematoide 56,6 e 43,3%, respectivamente, no entanto foram semelhantes estatisticamente entre si (Figura 15).

Resultados iguais foram encontrados no tratamento com o nim a 4% e a aplicação conjunta do nim a 4% com 500 JIs/ mL do isolado AL43, onde ambos causaram a morte em 70% dos insetos testados. Já o nematoide, de forma isolada, apresentou taxa de mortalidade de 20% (Figura 16). Esses resultados são semelhantes ao encontrado por Nardi et al. (2011), que obteve 68,6% de mortalidade de *R. ferrugineus* quando utilizou *S. carpocapsae* e azadiractina em mistura.

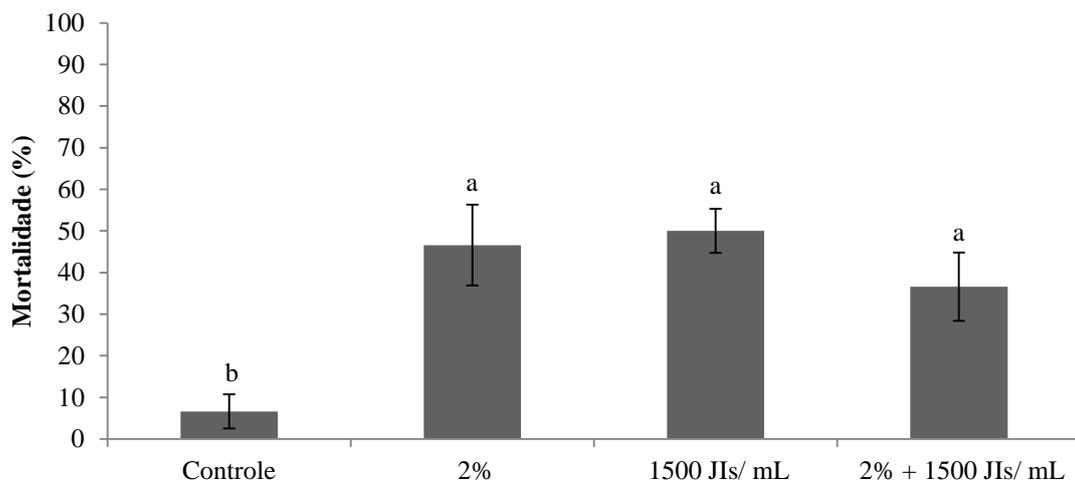
**Figura 13** – Eficiência e interação da mistura (2000 JIs + Nim 1%) no controle de adultos de *Rhynchophorus palmarum*, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h).



**F = 5,7872; P = 0,0071; CV = 50.62%;**  
**Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.**

Fonte: Autor, 2014.

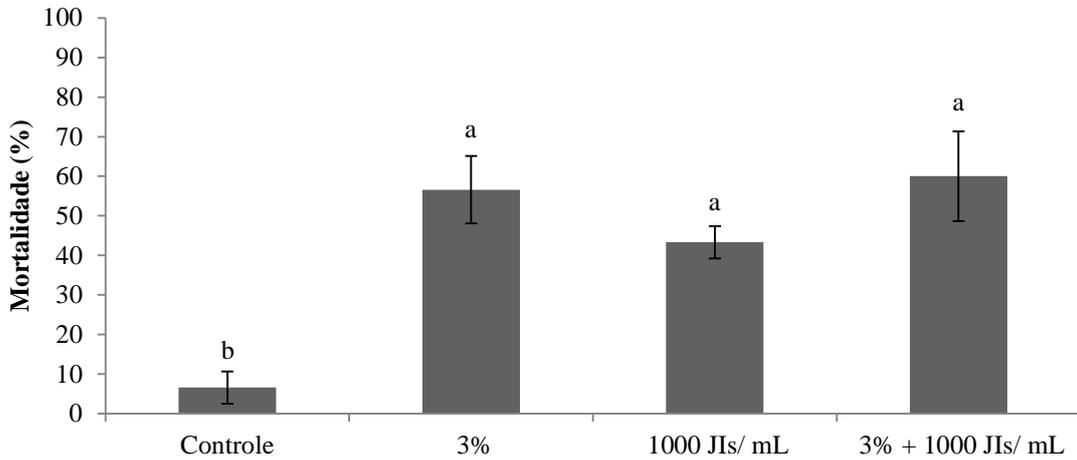
**Figura 14** – Eficiência e interação da mistura (1500 JIs + Nim 2%) no controle de adultos de *Rhynchophorus palmarum*, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h).



**F = 12,5386; P < 0,001; CV = 29,71%**  
**Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.**

Fonte: Autor, 2014.

**Figura 15** – Eficiência e interação da mistura (1000 JIs + Nim 3%) no controle de adultos de *Rhynchophorus palmarum*, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h).

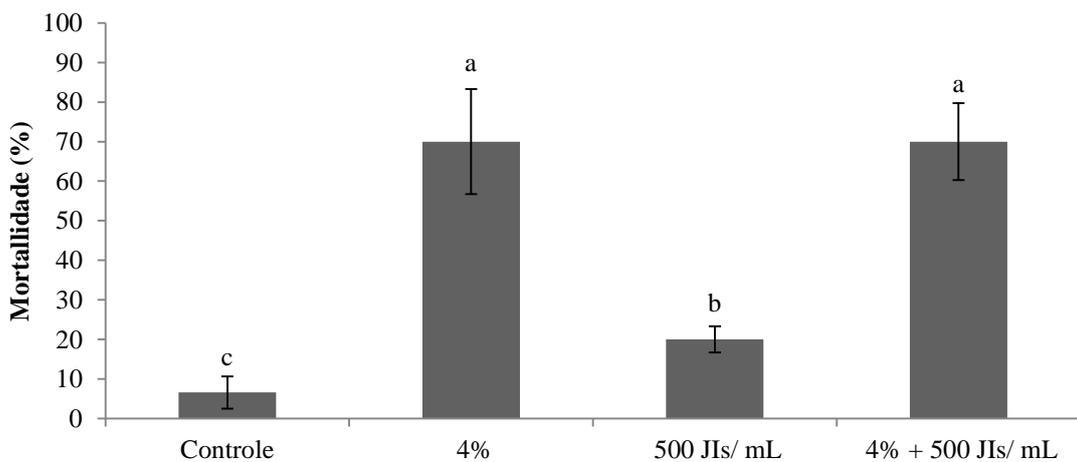


$F = 15,8543$ ;  $P < 0,001$ ;  $CV = 27,77\%$

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

**Figura 16** – Eficiência e interação da mistura de (500 JIs + Nim 4%) no controle de adultos de *Rhynchophorus palmarum*, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h).



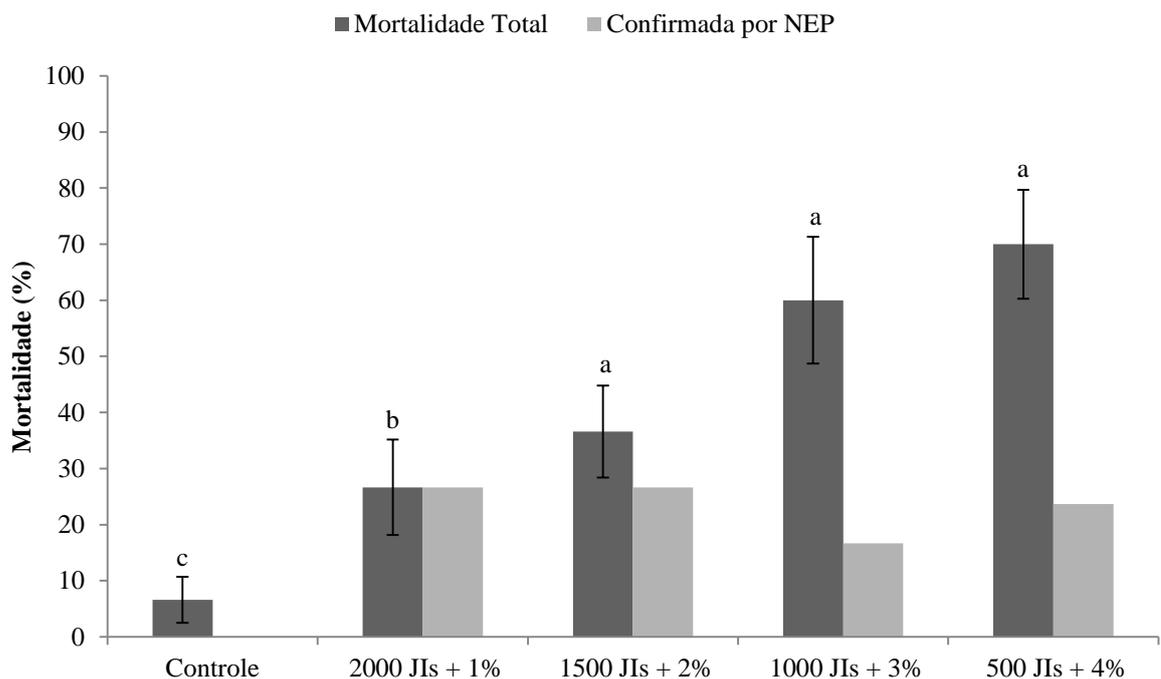
$F = 19,5055$ ;  $P < 0,001$ ;  $CV = 28,93\%$

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2014.

Comparando-se as diferentes misturas utilizadas e levando-se em consideração os dados do tempo letal (TL) (Tabela 9), percebeu-se que a aplicação do inseticida botânico Óleo de Neem Puro<sup>®</sup> em associação com o entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. AL43 nas concentrações 4% e 500 JIs/ mL, foi a mais eficiente, pois além de apresentar a maior taxa de mortalidade (70%), possui a menor  $TL_{50} = 0,98$  e  $TL_{70} = 4,64$  dias e não interferiu na virulência do isolado (Figura 17). Este intervalo de tempo (0 a 5 dias) é o que se acredita que os agentes terão potencialidade de agir, em condições de campo, pois a azadiractina apresenta persistência de 4 a 8 dias no ambiente (CABONI et al., 2002) e o nematoide menos de 24 horas para as condições de aplicação em coqueirais.

**Figura 17 – Mortalidade total de adultos de *Rhynchophorus palmarum* causada pela mistura e verificação da mortalidade por nematoide entomopatogênico, em condições de laboratório ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; U.R.  $70 \pm 10\%$  e foto fase de 12h).**



**F = 9,1388; P < 0,001; CV = 35,09%**

**Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.**

Fonte: Autor, 2014.

Tabela 9 – Análise de Probit para determinação dos tempos letais (TL<sub>50</sub> e TL<sub>70</sub>) dos isolados.

<i>Heterorhabditis</i> sp. AL43					
NEP + Nim	TL <sub>50</sub> (dias) (IC 95%)	TL <sub>70</sub> (dias) (IC 95%)	X <sup>2</sup>	P	Inclinação ± EP
2000 JIs + 1%	7,94 (5,53 – 30,75)	12,48 (7,44 – 97,41)	0,52	0,91	2,67 ± 0,83
1500 JIs + 2%	7,09 (4,88 – 23,14)	12,98 (7,38 – 93,11)	0,64	0,88	1,99 ± 0,58
1000 JIs + 3%	1,48 (-)	13,06 (-)	0,26	0,96	0,55 ± 0,41
500 JIs + 4%	0,98 (-)	4,64 (-)	0,82	0,99	0,78 ± 0,43

Fonte: Autor, 2014.

Mesmo a utilização de um único agente (nim ou NEP) ter demonstrado eficiência satisfatória, igualmente a mistura, justifica-se adotar a mistura como potencial uso em campo. Isso porque cada agente atua de forma diferente. Podendo o nematoide partir em busca do inseto, mesmo este estando em ambiente críptico, e o óleo de nim atuando diretamente por contato ou tornando a planta não preferível (repelência) para a praga. Portanto, um pode suprir a deficiência do outro. Garantindo assim maior possibilidade de sucesso no controle de *R. palmarum*.

Abdel-Rasek e Gowen (2002) observaram que a combinação de nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* com extrato de plantas de nim pode ser favorável para o controle de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). Mahmoud (2007) chegou à mesma conclusão ao testar a combinação NEP e nim no controle de *Bactrocera zonata* (Saunders, 1841) (Diptera: Tephritidae). Isso reforça a importância em adotar a mistura entre óleo de nim e NEP como forma de controle da broca-do-olho-do-coqueiro.

Outro fator que favorece a escolha da mistura contendo nematoides e óleo de nim é o fato de que estes agentes são também potencialmente eficientes no controle de outras pragas que habitam a copa do coqueiro, como: *Aceria guerreronis*, *Homalinotus coriaceus*, *Amerrhinus ynca*, *Coralimela brunnea* (Thunberg, 1821) (Coleoptera: Chrysomelidae),

*Brassolis sophorae*, *Eupalamides daedalus* (Cramer, 1775) (Lepidoptera: Castniidae),  
*Atheloca subrufella* (Dyar, 1919) (Lepidoptera: Phycitidae).

No entanto, novos ensaios com outras concentrações da mistura devem ser realizados para encontrar resultados mais promissores. Testes de campo também devem ser realizados a fim de se determinar a eficiência e persistência de NEPs e óleo de nim no controle da broca-do-olho-do-coqueiro e de outras pragas que incidem sobre a cultura do coqueiro.

## 5 CONCLUSÕES

- Os isolados de nematoides entomopatogênicos testados são patogênicos para adultos do coleóptero *Rhynchophorus palmarum* em condições de laboratório.
- O inseticida botânico Óleo de Neem Puro<sup>®</sup> mostrou-se eficiente no controle de adultos da broca-do-olho-do-coqueiro em condições de laboratório.
- Os nematoides *Heterorhabditis* sp. AL39, *Heterorhabditis* sp. AL43, *Heterorhabditis* sp. AL44 e *Heterorhabditis* sp. AL47 são compatíveis com o óleo de nim.
- É promissora a utilização do óleo de nim e do NEP *Heterorhabditis* sp. AL43 em mistura no controle de *R. palmarum*.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, M. S. T.; SALEH, M. M. E.; AKIL, A. M. Laboratory and field evaluation of the pathogenicity of entomopathogenic nematodes to the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) (Col.: Curculionidae). **Journal of Pest Science**, Blackwell Wissenschafts-Verlag, v. 74, n. 6, p. 145-168, 2001.

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economic Entomology**, Lanham, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.

ABDEL-RASEK, A. S.; GOWEN, S. The integrated effect to the nematode-bacteria complex and neem plant extracts against *Plutella xylostella* (L.) larvae (Lepidoptera: Yponomeutidae) on chinese cabbage. **Archive Phytopathology**, Berlin, v. 35, n. 2, p. 181-188, 2002.

ABDULLAH, M. A. R. et al. Biological and histopathological effects of some insecticidal agents against red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, v. 1, n. 1, p. 7 – 22, 2010.

ABDULLAH, M. A. R. Identification of the biological active compounds of two natural extracts for the control of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver) (Coleoptera - curculionidae). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 2, p. 35 – 44, 2009.

ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology**, New York: CABI Publishing, 2002. p. 311-332.

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: MAPA, 2014. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 14 de junho de 2014.

AKHURST, R. J. Neoplectana species: Specificity of association with bacteria of the genus *Xenorhabdus*. **International journal of systematic bacteriology**, v. 33, p. 38-45, 1980.

AKOL, A. M. et al. Relative safety of sprays of two neem insecticides to *Diadegma mollipla* (Holmgren), a parasitoid of the diamondback moth: effects on adult longevity and foraging behavior. **Crop Protection**, v. 21, p. 853-859, 2002.

ALÉCIO, M. R. et al. Avaliação do potencial inseticida *in vitro* do extrato aquoso de raízes de timbó (*Derris rariflora*) sobre *Sitophilus zeamais* Mots In: **I Jornada Amazonense de Plantas Medicinais**, Manaus. Anais da I Jornada amazonense de plantas medicinais, p. 42, 2005.

ALMEIDA, A. M. B. et al. Patogenicidade de *Heterorhabditis* sp. contra adultos de *Rhynchophorus palmarum*, em diferentes tempos de exposição. In: **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, p. 1-63, 2005.

ALMENARA D. P. et al. Nematoides Entomopatogênicos. In: Instituto nacional de ciência e tecnologia em entomologia molecular. **Tópicos avançados em entomologia molecular**. Sudeste: Winter, 2012. p 1-39.

ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**, Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1998. p. 1-1163.

ALVES, S. B.; MOINO JR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**, 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.

ANDALÓ, V.; MOINO, JR. A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C. Compatibilidade de nematoides entomopatogênicos com produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 149-158, 2004.

ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. Insecticide of plant origin. **American Chemical Society**, Washington, DC. v. 387, p. 1-214, 1990.

ASSISTAT Versão 7.7 beta. 2014 – Disponível em: <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 10 de junho de 2014.

BEARD, J. Tree may hold the key to curbing ‘Chagas’ parasite. **New Scientist**, v. 124, p. 1688-1731, 1989.

BEDFORD, G. O. Parasitismo of the palm weevil, *Rhynchophorus bilineatus* (Montrouzier) (Coleoptera: Curculionidae) by *Praecocilenchus raphidophorus* (Poinar) (Nematoda: Aphelenchoidea) in New Britain. **Journal of the Australian Entomological Society**. v. 13, p. 155-156, 1974.

BEGLEY, J. W. Efficacy against insects in habitats other the soil. In: GAUGLER, R. (Ed.) **Entomopathogenic Nematology**, CABI Publishing: Wallingford, 1990. p. 233–246.

BELL, A. F. L. E.; SIMMONDS, M. S. J. Natural products from plants for the control of insect pests. In: HODGSON, E.; KUHR, R. J. **Safer insecticide development and use**, New York and Basel, Marcel Dekker, 1990, p. 337-383.

BIO CONTROLE, 2014. Disponível em: <<http://www.biocontrole.com.br/?area=produtos&id=32>>. Acesso em: 15 de junho de 2014.

BODE, H. B. Entomopathogenic bacteria as source of secondary metabolites. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 13, p. 224-230, 2009.

BONDAR, G. **Insetos nocivos e moléstias do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) no Brasil.** Salvador: Tipografia Naval, 1940. 156p.

BREAM, A. S. et al. The disruptive effects of azadirachtin and jojoba on development and morphogenesis of the red palm weevil, *Rhynchophorus Ferrugineus* (Curculionidae: Coleoptera). **Proceedings Section International Conference**, Date Palms, Al-Ain, UAEU. p. 280-303, 2001.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 455-459, 2001.

CABANILLAS, H. E. Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 82, p. 188-197, 2003.

CABONI, P. et al. P. Persistence of azadirachtin residues on olives after field treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 50, n. 12, p. 3491-3494, 2002.

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

CAMPOS, A. D. Técnicas para Produção de Extrato Pirolenhoso para Uso Agrícola. Circular Técnica 65, Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 2007, p 1-8. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/746002/1/Circular65.pdf>>. Acesso em: 26 de junho de 2014.

CHICHE, T. A.; ENSIGN, J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, wich end of a nematode is out? **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 1890-1897, 2003.

CLARKE, D. J. *Photorhabdus*: a model for the analysis of pathogenicity and mutualism. **Cellular Microbiology**, v. 10, p. 2159-2167, 2008.

COSTA E CARVALHO, R. R. et al. Longevidade de *Thielaviopsis paradoxa*, agente causal da resinose do coqueiro em *Rhynchophorus palmarum*. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 7, n. 4, p. 1-6, 2011.

COSTA, J. P. da; BELO, M.; BARBOSA, J. C. Efeito de espécies de timbó (*Derris* spp.: Fabaceae) em populações de *Musca domestica* L. **Annais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 163-168, 1997.

COSTA, R. S. C. da. et al. Cultivo do Coqueiro em Rondônia. **Sistemas de Produção - EMBRAPA**, Rondônia, 2005, n. 6. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Coco/CultivodoCoqueiroRO/index.htm>>. Acesso em: 27 de junho de 2014.

- COWLES, R. S. Impact of azadirachtin on vine weevil (Coleoptera: Curculionidae) reproduction. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 6, p. 291–294, 2004.
- COX, C. Pyrethrins/Pyrethrum. **Journal of Pesticide Reform**, v. 22, p. 14-20, 2002.
- CUENCA, M. A. G. Importância econômica do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. **A Cultura do Coqueiro no Brasil**. Aracaju: EMBRAPA-CPATC, 1998, p. 1-300.
- DABORN, P. J. et al. A single *Photorhabdus* gene, makes caterpillars floppy (mcf), allows *Escherichia coli* to persist within and kill insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 16, p. 10742-10747, 2002.
- DE LEY, P. A quick tour of nematode diversity and the backbone of nematode phylogeny. **Worm Book: The C. elegans Research Community**, p. 1-8, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18050465>>. Acesso em: 14 de junho de 2014.
- DEMBILIO, O. et al. Field efficacy of imidacloprid and *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) in *Phoenix canariensis*. **Pest Management Science**. v. 66, p. 365-370, 2010.
- DOLINSKI, C. Nematoides como agentes do controle biológico de insetos. In: OLIVEIRA FILHOS, E. C.; MONNERAT, R. G. **Fundamentos para regulação de semioquímicos inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. Brasília: EMBRAPA, 2006. Cap. 4, p. 73-101.
- DOWDS, B. C. A.; PETERS, A. Virulence Mechanisms. In: GAUGLER, R. (Ed.) **Entomopathogenic nematology**. New York: CABI Publishing, 2002. p. 79-98.
- DOWNES, M. J.; GRIFFIN, C. T. Dispersal behaviour and transmission strategies of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* and *Steinernema* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, p. 347-356, 1996.
- DUARTE, A. G. et al. Captura de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) em armadilhas iscadas com o feromônio de agregação e compostos voláteis de frutos do abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 81-84, 2003.
- ELEFThERIANOS, I., A single locus from the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens* inhibits activated *Manduca sexta* phenoloxidase. **FEMS Microbiology Letters**, v. 293, n. 2, p. 170-176, 2009.
- E-NEMA. Products, 2014. Disponível em: <<http://www.e-nema.de/products/>> Acesso em: junho de 2014.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1998. p. 541-569.

FERREIRA, J. M. S., LIMA, M. F. Transmissão de *Beauveria bassiana* população de *Rhynchophorus palmarum* através do contato entre indivíduos contaminados e não contaminados. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 1996, Foz do Iguaçu. **Resumos**. Foz do Iguaçu: SEB, 1996. p.188.

FERREIRA, J. M. S.; ARAÚJO, R. P. C.; SARRO, F. B. Táticas de manejo das pragas. In: FERREIRA, J. M. S. (Ed.). **Coco, fitossanidade**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. p. 83-106.

FERREIRA, J. M. S.; LINS, P. M. P. Pragas do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; FONTES, H. R. (Ed.). **Produção integrada de coco: identificação de pragas, doenças e desordens nutricionais e fisiológicas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. p. 11-68.

FERREIRA, J. M. S.; MICHEREFF FILHO, M. Pragas e métodos de controle. In: FONTES, H. R.; FERREIRA, J. M. S.; SIQUEIRA, L. A. (Ed.). **Sistema de Produção para cultura do coqueiro**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. p. 1-65. Disponível em: <<http://www.cpatc.embrapa.br/download/SP1.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2014.

FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. N. R.; SIQUEIRA, L. A. **A Cultura do Coqueiro no Brasil**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1998. p. 1-292.

FERREIRA, J.M.S. Controle biológico do agente transmissor do nematoide causador do anel-vermelho-do-coqueiro. **Circular Técnica 31** – EMBRAPA, Aracaju, 2002. p. 1-4.

FOALE, M.; HARRIES, H. Farm and Forestry Production and Marketing Profile for Coconut (*Cocos nucifera*). In: ELEVITCH, C. R. (Ed.). **Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry**, Holualoa, Hawaii: Permanent Agriculture Resources (PAR), 2009. Disponível em: <<http://agroforestry.net/scps>>. Acesso em: 20 maio. 2014.

FONTES, H. R.; RIBEIRO, F. E.; FERNANDES, M. F. (Ed.). **Coco, produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. p. 1-106.

FORST, S.; CLARKE, D. J. Nematode-bacterium symbiosis. In: GAUGLER, R (Ed.) **Entomopathogenic Nematology**, CABI Publishing: Wallingford, 2002. p. 57–77.

FRIEDMAN, M. J. Commercial production and development. In: GAUGLER, R; KAYA, H.K (Ed.). **Entomopathogenic nematodes in biological control**, Florida: CRC, Boca Raton, 1990. p.153-172.

GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. v. 10, p. 1-920.

- GAUGLER, R.; CAMPBELL, J. Behaviour response to the entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* to oxamyl. **Annals of Applied Biology**, v. 119, p. 131-138, 1991.
- GAUGLER, R.; HAN, R. Production technology. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology**. New York: CABI Publishing, 2002. p. 289-310.
- GIRLING, R. D. et al. The lethal and sub-lethal consequences of entomopathogenic nematode infestation and exposure for adult pine weevils, *Hylobius abietis* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 104, p. 195-202, 2010.
- GLYNNE-JONES, A. Pyrethrum. **Pesticide Outlook**. p.195-198, 2001.
- GOPINADHAN, P. B.; MOHANDAS, N.; NAIR, K. P. V. Cytoplasmic polyhedrosis virus infecting red palm weevil of coconut. **Current Science**, v. 59, n. 11, p. 577-579, 1990.
- GORDON, R.; CHIPPETT, J.; TILLEY, J. Effects of two carbamates on infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* all strain and *Steinernema feltiae* Umea strain. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 3, p. 310-317, 1996.
- GRAYER, R. J.; KOKUBUN, T. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. **Phytochemistry**. v. 56, p. 253-263, 2000.
- GREENBERRY. 2014. Disponível em: < <http://www.greenberry.pt/palmeiras.php>> Acesso em: junho de 2014.
- GREWAL, P. S. Formulation and application technology. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**. Oxon: CABI Publishing, 2002. p. 265-288.
- GRIFFITH, R. The relationship between the red ring nematode and the palm weevil. **Journal of the Agricultural Society of Trinidad and Tobago**, v. 68, p. 342-356, 1968.
- HAGLEY, E. A. C. On the life history and habitats of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.). **Annals of the Entomological Society of America**, Annapolis, MD, v. 58, p. 22-28, 1965.
- HOMINICK, W. M. Biogeography. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**. New Jersey: Rutgers University, 2002. p. 115-143.
- HOWARD, F. W. The animal class Insecta and the plant family Palmae. In: Howard, F.W. et al. (Eds.). **Insects on palms**. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p. 1-32.
- IBGE. Produção agrícola municipal 2012. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: maio de 2014.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In: ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. **Insecticide of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 1989. v. 387, p. 69-77.

KAYA, H. K.; BEDDING, R. A.; AKHURST, R. J. An overview of insect-parasitic and entomopathogenic nematodes. In: BEDDING, R. A.; AKHURST, R. J.; KAYA, H. K. **Nematodes and the Biological Control of Insect Pests**. East Melbourne: CSIRO Publications, 1993. p. 1-10.

KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Entomopathogenic nematodes. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 181-206, 1993.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Essential of toxicology**. New York: McGraw Hill, 2003, p. 1-533.

KONDO, E.; ISHIBASHI, N. Nictating behavior and infectivity of entomogenous nematodes, *Steinernema* spp., to the larvae of the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), on the soil surface. **Applied Entomology and Zoology**. v. 21, p. 553-560, 1986.

KRISHNAYYA, P. V.; GREWAL, P. S. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. **Biocontrol Science and Technology**. v. 12, n. 2, p. 259-266, 2002.

KURIAN, C.; SATHIAMMA, B.; PILLAI, G. B. **World distribution of pests of coconut**. Technical Document 119, Rome: FAO, 1979. p. 1-53.

LANCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000. p. 1-519.

LAWRENCE, J. L.; HOY, C.W.; GREWAL, P. S. Spatial and temporal distribution of endemic entomopathogenic nematodes in a heterogeneous vegetable production landscape. **Biological Control**. v. 37, p. 247-255, 2006.

LAZNIK, Z.; TRDAN, S. The influence of insecticides on the viability of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) under laboratory conditions. **Pest Management Science**. v. 70, n. 5, p. 784-789, 2013.

LEWIS, E. E. Behavioural ecology. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**. New York: CABI Publishing, 2002. p. 205-223.

LEWIS, E. E. et al. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**. v. 38, p. 66-79, 2006.

LLÁCER, E.; ALTUBE, M. M. M.; JACAS, J. A. Evaluation of the efficacy of *Steinernema carpocapsae* in a chitosan formulation against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*, in *Phoenix canariensis*. **BioControl**, v. 54, p. 559-565, 2009.

- LUMMEN, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1364, p. 287-296, 1998.
- MACHADO, L. A. et al. Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos a ovos e larvas de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Coleoptera: Vesperidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo. v. 72, n. 2, p. 221-226, 2005.
- MAEKAWA, K. Curso sobre produção de carvão, extrato pirolenhoso e seu uso na agricultura (APAN – Associação dos produtores de Agricultura natural), 2002. Apostila.
- MAHMOUD, F. Combining the botanical insecticides nsk extract, neemazal 5%, neemix 4.5% and the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* cross n 33 to control the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders). **Plant Protection Science**, Praha, v. 43, n. 1, p. 19-25, 2007.
- MANACHINI, B.; SCHILLACI, D.; ARIZZA, V. Biological responses of *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) to *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106, p. 1582–1589, 2013.
- MARTINEZ, S. S. (Ed.). **O nim: *Azadirachta indica*** - natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, 2002. p. 1-142.
- MARTINS, C. R.; JESUS JUNIOR, L. A. Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional - Panorama 2010. **Documentos** - Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, 2011. n.164.
- MASTORE, M. et al. Modulation of immune responses of *Rhynchophorus ferrugineus* (Insecta: Coleoptera) induced by the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida). **Insect Science**, p 1-34, 2014.
- MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v. 1, n. 3, p. 27-32, 1990.
- MENDONÇA, M. C. Contribuição ao controle biológico de *Rhynchophorus palmarum* - atividade de voo, eficiência de autoinoculação e caracterização molecular de isolados de *Beauveria bassiana*. 2007. 97 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.
- MOLINA, J. P.; LÓPEZ, N. J. C. Producción in vivo de tres entomonemátodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 27 n, 1, p. 73-78, 2001.
- MORDUE A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: a update. **Journal of Insect Physiology**, v. 39, p. 903-924, 1993.

MOREIRA, M. D., et al. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENSON, M.; PAULA JÚNIOR, T.S.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005. p. 89-120.

MOURA, J. I. L.; VILELA, E. F. **Pragas do coqueiro e dendezeiro**. 2. ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 1998. p.126

MOURA, J. I. L.; VILELA, E. F. Natural biological control of *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) by *Paratheresia menezesi* (Diptera: Tachinidae), in oil palm plantations in Bahia, Brazil. In: **INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS**, 12. 1991.

MURUGAN, K.; VASUGI, C. Combined effect of *Azadirachta indica* and the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* against subterranean termite, *Reticulitermes flavipes*. **Journal of Entomological and Acarological Research**. v. 43, n. 2, p. 253-259, 2011.

MUSABYIMANA, T. et al. Effects of Neem Seed Derivatives on Behavioral and Physiological Responses of the *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**. v. 94, n. 2, p. 449-454, 2001.

NARDI, S. et al. Control of *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier, 1790) according to EU Decision 2007/365/EC in the Marche region (Central-Eastern Italy). **OEPP/EPPO**. Bulletin 41, p. 103-115, 2011.

NAVARRO, D. M. A. F. et al. Aspectos práticos relacionados ao uso do rincoforol, o feromônio de agregação da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro: análise de sua eficiência em campo. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 32-36, 2002.

NEGRISOLI JR, A. S. et al. Criação em laboratório da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) visando pesquisas para o controle das suas larvas. **Comunicado Técnico – EMBRAPA**, Aracaju, SE, dezembro, 2011. n.116.

NEGRISOLI JR, A. S.; BARBOSA, C. R. C.; A. MOINO JR. Avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae: Heterorhabditidae) utilizando o protocolo da IOBC/WPRS. **Nematologia Brasileira**. v. 32, n. 2, p. 111-116, 2008.

NEGRISOLI JR, A. S.; BARBOSA, C. R. C.; MOINO JR, A. Comparação entre metodologias de avaliação da compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba. v. 32, p. 65-75, 2008.

NEGRISOLI JR., A. S. **Avaliação de técnicas para estudos de compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida:**

**Heterorhabditidae, Steinernematidae**). 2005. 90 f. Dissertação (Mestre em Agronomia/Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

OEPP. Organization Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes. *Rhynchophorus palmarum*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. **OEPP/EPPO**, Bulletin OEPP/EPPO, v. 35, p. 468-471, 2005.

PANSIERA, V. C. et al. Avaliação do extrato pirolenhoso proveniente de três espécies arbóreas sobre *Spodoptera frugiperda* (SMITH) e *Tuta absoluta* (MEYRICK). In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8. 2003a, São Pedro, SP. **Resumos**. Piracicaba, SP: SEB, 2003a, p. 168.

PANSIERA, V. C. et al. Efeito do extrato pirolenhoso proveniente de três espécies arbóreas sobre *Spodoptera frugiperda* (SMITH) e *Tuta absoluta* (MEYRICK). In: SIMPOSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8. 2003b, São Pedro, SP. **Resumos**. Piracicaba, SP: SEB, 2003b, p. 168.

PARRA, D. et al. Presencia de *Thielaviopsis paradoxa* De Seynes Höhn en el tubo digestivo de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Entomotropica, Maracay**. v. 18, n. 1, p. 49-55, 2003.

PETERS, A.; D. POULLOT. Side effects of surfactants and pesticides on entomopathogenic nematodes assessed using advanced IOBC guidelines. **IOBC /WPRS Bulletin**, v. 27, n. 6, p. 67-72, 2004.

POINAR JR., G. O. Taxonomy and biology os Steinernematidae and Heterorhabditidae. In.: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. **Entomopathogenic nematodes in biological control**, Florida: CRC, Boca Raton, 1990, p. 23-61.

POPIEL, I; HOMINICK, W. M. Nematodes as biological control agents: part II. **Advances in Parasitology**, v. 31, p. 381-431, 1992.

RODRIGUEIRO, T. S. C. et al. Eficiência de *Heterorhabditis indica* IBCB-N05 (Rhabditida: Heterorhabditidae) no controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) sob comedouros de granja avícola. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 279-284, 2008.

ROHDE, C. et al. Compatibilidade de nematoides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos visando o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. v. 34, n. 3, p. 1033-1042, 2013.

SAITO, M. L.; LUCHINI, F. Substancias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficiente e seguro ao meio ambiente. **Documento** – EMBRAPA, Jaguriúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998, n. 12, 46 p.

SÁNCHEZ, P. A. et al. Biology and behaviour of *Rhynchophorus palmarum*. **Boletín de Entomología Venezolana**, Maracay, v. 8, p. 83-93, 1993.

SÁNCHEZ, P.A.; CERDA, H. El complejo *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) - *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) (Tylenchida: Aphelenchoididae), en palmeras. **Boletín de Entomología Venezolana**, Maracay, v. 8, p. 1-18, 1993.

SÁNCHEZ-SOTO, S.; NAKANO, O. Registro de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no Estado do Mato Grosso do Sul. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 4, p. 659-660, 2002.

SANTOS, N. L. et al. Eficiência de *Heterorhabditis* sp. AL39 (Rhabditida: Heterorhabditidae) no controle de larvas de *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae). In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012, Curitiba. **Anais**. Curitiba, outubro, 2012. p. 1. Disponível em: <[http://www.seb.org.br/cbe2012/trabalhos\\_selecionar.php](http://www.seb.org.br/cbe2012/trabalhos_selecionar.php)>. Acesso em: junho de 2014.

SAS Institute Inc. **Statistical Analysis System user's guide**, version 9.1, Ed. Cary: Institute, USA, 2003.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from neem tree. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 271-297, 1990.

SCHMUTTERER, H. Side effects of neem (*Azadirachata indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. **Journal of Applied Entomology**, v. 121, p. 121-128, 1997.

SCHROEDER, W. J.; BEAVERS, W. M. Laboratory Bioassays and field trials of entomogenous nematodes for control of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in citrus. **Environmental Entomology**. v. 16, p. 987-989, 1987.

SCRIBD. **Manual Óleo Neem**, 2014. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/70384278/Manual-Oleo-Neem>>. Acesso em: junho de 2014.

SHAPIRO-ILAN, D. I. et al. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological control**, v. 38, p. 124-133, 2006.

SHAPIRO-ILAN, D. I. et al. Effects of a novel entomopathogenic nematode-infect host formulation on cadaver integrity, nematode yield, and suppression of *Diaprepes abbreviatus* and *Aethina tumida*. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 103, p. 103-108, 2010.

SHOWLER, A. T.; GREENBERG, S. M.; ARNASON, J. T. Deterrent effects of four neem-based formulations on gravid female boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding and oviposition on cotton squares. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, p. 414-421, 2004.

SILVA, D. C. O. et al. Controle de insetos-praga do feijão-caupi na savana de Roraima. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 5, n. 3, p. 212-219, 2011.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A. ASSISTAT, **Assistência estatística**. Versão 7,7 beta 2014.

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

SIQUEIRA, L. A.; ARAGÃO, W. M.; TUPINAMBÁ, E. A. A introdução do coqueiro no Brasil: importância histórica e agrônômica. **Documento** - EMBRAPA, Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. n. 47, 24 p. Disponível em: <<http://www.cpatc.embrapa.br/download/Documentos47.doc>>. Acesso em: 20 maio 2014.

SOUZA, L. M. et al. Nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com imidaclopride visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* em viveiro florestal. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 36, n. 1, p. 32-41, 2012.

STARK, J. D. Entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae): toxicity of neem. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 89, n. 1, p. 68-73, 1996.

STUART, R. J.; GAUGLER, R.; GEORGIS, R. Genetic adaptation and founder effect in laboratory populations of the entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri*. **Canadian Journal of Zoology**. v. 74, p. 164-170, 1996.

TADA-OIKADA, S. et al. Mechanism for generation of hydrogen peroxide and change of mitochondrial membrane potential during rotenone-induced apoptosis. **Life Science**, v. 73, p. 3277-3288, 2003.

TSUZUKI, E.; MORIMITSU, T.; MATSUI, T. Effect of chemical compounds in rice plant. **Japan Journal Crop Science**, Nagoya, v. 66, n. 4, p. 15-16, 2000.

VALLET-GELY, I.; LEMAITRE, B.; BOCCARD, F. Bacterial strategies to overcome insect defenses. **Nature Reviews Microbiology**. v. 6, p. 302-313, 2008.

VENDRAMIM, J. D. Plantas inseticidas e plantas resistentes: interfaces e interações. In: XX Congresso Brasileiro de Entomologia, 2004, Gramados. **Resumo**. Anais do XX Congresso Brasileiro de Entomologia, 2004. v. 1. p. 141-141.

VERDEPIENO. 2014. Disponível em: <<http://www.verdepieno.com/steinernema-carpocapsae-146>> Acesso em: 12 de junho de 2014.

WANDERLEY, M.; LOPES, G. M. Importância sócio-econômica da produção de coco seco no Brasil. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. p. 37-60.

WARWICK, D. R. N.; TALAMINI, V. Doenças e métodos de controle ajustados à baixa capacidade de investimento dos pequenos produtores rurais. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES,

H. R.; PASSOS, E. E. M. et al. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no Nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. p. 157-190.

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

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. Steinernematid and heterorhabditid nematodes: A handbook of techniques. Arkansas: Agricultural Experiment Station Cooperative Bulletin, 1988. 30 p.

ZASADA, I. A.; FERRIS, H. Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 7, p. 1017-1024, 2004.