

Efeito da temperatura e concentração na sobrevivência de nematóides entomopatogênicos em condições de armazenamento, visando seu uso no controle microbiano de pragas

V. ANDALÓ, A. MOINO JR, J. P. MOLINA ACEVEDO, R. S. CAVALCANTI, F. A. CARVALHO

Fatores como temperatura e concentração de juvenis infectivos, podem influenciar no armazenamento de nematóides entomopatogênicos, afetando a sobrevivência e a infectividade. Neste bioensaio o objetivo foi avaliar a influência da temperatura e concentração na sobrevivência desses nematóides, a fim de melhorar o armazenamento obtendo juvenis infectivos mais virulentos. Foram avaliadas variáveis como viabilidade e infectividade (sobre larvas de *Galleria mellonella*) de *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave*, *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM 4, nas concentrações de 100, 1.000, 5.000 e 10.000 II/mL em seis temperaturas (8, 12, 16, 20, 24 e 28°C). As avaliações foram feitas aos 15, 30, 60, 120, 150 e 180 dias de armazenamento. Observou-se que todas espécies apresentaram viabilidade e infectividade semelhantes nas concentrações testadas, com variação nas diferentes temperaturas. Assim, tanto *Heterorhabditis* sp. CCA como *Heterorhabditis* sp. JPM4 tiveram viabilidade reduzidas nas temperaturas de 8, 12, 24 e 28°C. *S. carpocapsae* e *S. riobrave* apresentaram redução de viabilidade a partir de 60 dias a 24 e 28°C. *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4 tiveram redução de infectividade a partir de 15 dias para 8°C e a partir dos 60 dias a 24 e 28°C. *S. carpocapsae* e *S. riobrave* tiveram redução de infectividade a partir de 60 dias a 24 e 28°C. As diferenças encontradas entre nematóides evidenciam a importância do estudo de fatores favoráveis para a manutenção de suas características em diferentes condições de armazenamento a fim de prolongar o tempo de sobrevivência e infectividade.

V. ANDALÓ, A. MOINO JR, R. S. CAVALCANTI, F. A. CARVALHO. Universidade Federal de Lavras. Departamento de Entomologia, C.P.37, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: vanessa.andalo@prpg.ufla.br

J. P. MOLINA ACEVEDO. Universidade Estadual do Norte Fluminense (UNEF), CCTA/Laboratório de Proteção de Plantas, CEP 28015-620, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. E-mail: juanpamolina@yahoo.com.br

Palavras chave: Nematóides entomopatogênicos, temperatura, concentração, armazenamento, controle microbiano, infectividade, sobrevivência.

INTRODUÇÃO

Os nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) têm sido estudados nos sistemas agrícolas para controle de insetos praga, com variações no grau de sucesso e com alta potencialidade para controle de pragas do solo e de hábitos

crípticos (MOLINA e LÓPEZ, 2003). Os nematóides no terceiro estágio, juvenil infectivo (JI), podem viver livremente, procurando o solo para buscar um hospedeiro suscetível. Durante esse estágio os nematóides não se alimentam nem se desenvolvem. Uma vez penetrando em um inseto hospedeiro, liberam sua bactéria simbiote, a qual em combinação

com toxinas produzidas pelos nematóides matam o hospedeiro dentro de 2 a 3 dias. As bactérias e tecidos degradados do hospedeiro fornecem fontes de nutrientes para o desenvolvimento dos nematóides. Estes geralmente passam duas gerações dentro do hospedeiro em um período de dez dias, dependendo da temperatura e da densidade inicial de inóculo (ADAMS e NGUYEN, 2002).

As estratégias usadas pelos nematóides entomopatogênicos para sobreviver em condições adversas (dessecação, anhidrobiose, congelamento, radiação ultravioleta, doenças e predação) são pouco conhecidas, podendo estar relacionadas com a permanência do nematóide no solo em estado quiescente, a migração, evitando as condições adversas e a permanência no cadáver dos insetos por períodos extensos (GLASER, 2002). De acordo com MOLINA e LÓPEZ (2003), uma baixa umidade favorece processos anidrobiose, o que incide negativamente na infectividade dos nematóides entomopatogênicos. Assim mesmo, é necessário estudar os parâmetros que influenciam um curto ou longo período de persistência dos nematóides, aspecto importante para sua liberação no campo em programas de controle biológico, para garantir a sobrevivência dos juvenis infectivos no meio ambiente (BROWN e GAUGLER, 1997).

A sobrevivência desses nematóides tem sido muito discutida, já que em condições de laboratório ocorre alta mortalidade, em pouco tempo de armazenamento. A temperatura é um importante fator que influencia tanto na sobrevivência de nematóides, como na mobilidade e infectividade. Temperatura extrema é um dos fatores que limitam a sobrevivência desses organismos (GLASER, 2002), porém pouco é conhecido sobre a ecologia de sobrevivência dos nematóides entomopatogênicos.

A baixa temperatura pode facilitar a sobrevivência pelo abaixamento no número de nematóides produzidos por cadáver, diminuindo as taxas metabólicas das bactérias e a demanda por oxigênio, sugerindo que a sobrevivência pode estar associada em parte

à densidade (concentração) (BROWN e GAUGLER, 1997).

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da temperatura e concentração na sobrevivência de nematóides entomopatogênicos, a fim de melhorar as condições de armazenamento desses organismos, mantendo os juvenis infectivos com alta virulência e viabilidade, para serem usados como agentes de controle biológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção e multiplicação dos nematóides

A produção dos nematóides foi realizada no Laboratório de Patologia de Insetos do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. Os nematóides foram mantidos em frascos Erlenmeyer na geladeira com temperatura de 8 a 10°C, em suspensão aquosa com 500 juvenis infectivos/mL (JI/mL).

Para a multiplicação foram usadas lagartas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), criadas no Laboratório de Patologia de Insetos de acordo com DUTKY *et al.* (1964), utilizando-se dieta artificial modificada por PARRA (1998).

Cinco destas lagartas foram selecionadas, com tamanho aproximado, e posteriormente colocadas em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro com uma folha de papel filtro no fundo, sendo neste inoculado 1 mL da suspensão com os nematóides, com concentração de 20 ± 5 JI por lagarta. As placas foram mantidas em câmara BOD por 2 a 3 dias, até a morte das lagartas. As lagartas mortas foram retiradas e colocadas em placas de Petri de 9 cm com papel filtro seco por 4 dias (MOLINA e LÓPEZ, 2001).

Após esta fase foi montada a armadilha de WHITE (1927), onde foram colocadas cinco lagartas mortas por nematóides e cerca de 3 mL de água no fundo da placa. As armadilhas foram colocadas em BOD por um período de 3 a 7 dias. A suspensão recolhida passou por um processo de filtragem e decantação, a fim de retirar nematóides adultos e

corpos gordurosos do inseto. Para a filtração foi usado um funil, uma proveta e uma peneira de 150 mesh, abertura de furo de 0,106 mm. Na proveta foram adicionados 750 mL de água destilada mais espalhante adesivo Tween 80 a 0,1% e a suspensão de nematóides foi filtrada, deixando decantar por 1 dia. Depois de realizado o processo de purificação dos nematóides, realizou-se a quantificação da suspensão em placas de poliestireno para testes serológicos. As diluições para armazenamento foram feitas até cerca de 500 JI/mL, os quais foram armazenados em geladeira para, posteriormente, serem utilizados nos bioensaios.

Bioensaios para avaliação da temperatura e concentração no armazenamento de nematóides

Os nematóides utilizados foram *Steinernema carpocapsae* (WEISER, 1955), *S. riobrave* Cabanillas, Poinar e Raulston, 1994, *Heterorhabditis* sp. CCA (isolado nativo da região de Araras-SP, Brasil) e *Heterorhabditis* sp. JPM4 (isolado nativo da região de Lavras-MG, Brasil), provenientes do banco de microrganismos entomopatogênicos do Laboratório de Patologia dos Insetos (Depto. de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG).

Suspensões desses nematóides foram preparadas nas concentrações de 100, 1.000, 5.000 e 10.000 JI/mL. Depois de preparadas, as suspensões foram individualizadas em copos plásticos de 110 mL com tampa, de acordo com os tratamentos e as repetições, colocando 50 mL de suspensão em cada repetição. As tampas foram perfuradas, deixando um orifício de aproximadamente 2 cm de diâmetro para possibilitar aeração.

Estas suspensões foram submetidas a diferentes temperaturas (8, 12, 16, 20, 24 e 28°C), em câmara climatizada do tipo BOD com escotofase de 24 horas, e 10 repetições para cada tratamento. As avaliações foram feitas aos 15, 30, 60, 120, 150 e 180 dias, sendo avaliados os parâmetros viabilidade e infectividade. Para o teste de viabilidade foi contado o número de nematóides vivos e mortos. Para isso, uma alíquota de 0,1 mL da

suspensão, de cada repetição, foi colocada em placa de poliestireno para testes serológicos e a contagem realizada com auxílio de um estereoscópio. No teste de patogenicidade de uma larva de *G. mellonella* foi colocada em uma placa de Petri de 5 cm com papel filtro ao fundo. Uma alíquota de 0,2 mL de cada suspensão foi retirada e aplicada na lagarta. Estas placas foram colocadas em BOD, com temperatura controlada de 24 ± 1°C, e após 3 dias avaliada a porcentagem de mortalidade das lagartas.

Determinação da viabilidade e infectividade de nematóides entomopatogênicos em armazenamento

Considerando a proporção de nematóides vivos obtidos por meio da razão entre o número de nematóides vivos e número total de nematóides, ajustaram-se os modelos para os quatro nematóides. Para isso, foram utilizados os seguintes parâmetros: π_{ijk} indicando a proporção de nematóides mortos submetidos à concentração (C_i) ($i=100, 1000, 5000$ e 10000); Temperatura (Te_j) ($j=8, 12, 16, 24$ e 28); Tempo (X_k) ($k=15, 30, 120, 150$); y_{ijk} correspondente ao número de nematóides mortos na concentração (i), Temperatura (j) e Tempo (k) e m definido como total de nematóides (Vivos + Mortos).

O preditor linear μ_{ijk} foi obtido através da função definida como:

(1)

$$\text{Logit } \pi_{ijk} = \ln \left(\frac{\pi_{ijk}}{1 - \pi_{ijk}} \right) = \varepsilon \left(\frac{y_{ijk}}{m} \right) = \mu_{ijk}, \text{ em que} \quad (2)$$

$$\mu_{ijk} = \beta_0 + C_i + Te_j + C_i X + Te_j X + C_i X^2 + Te_j X^2$$

A proporção de nematóides mortos foi estimada por qualquer combinação linear:

(3)

$$p = \frac{e^{\mu_{ijkl}}}{1 + e^{\mu_{ijkl}}}$$

Para o parâmetro infectividade, em virtude da variável de interesse ser caracterizada por apenas dois valores, lagarta viva ou

Tabela 1. Análise da qualidade do ajuste dos modelos por meio da deviance.

Nematóide	GL	Deviance	(Deviance/GL)
<i>Heterorhabditis</i> sp. CCA	1173	1069,4078	0,9117
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM 4	1173	1129,0379	0,9625
<i>S. riobrave</i>	1173	874,4536	0,7455
<i>S. carpocapsae</i>	1173	875,1627	0,7461

morta, procedeu-se através do cálculo de percentagem de mortalidade das larvas, à análise estatística por um modelo de regressão logística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade de nematóides entomopatógenicos em armazenamento

Pode-se inferir que os modelos propostos são adequados para prever a proporção de nematóides vivos. Esse fato é confirmado pelo valor da deviance estar próximo ao grau de liberdade. Essa proximidade é interpretada pela razão (Deviance/GL) (Tabela 1).

Os dados obtidos na avaliação de viabilidade dos nematóides após 180 dias em armazenamento, não se adequaram ao modelo proposto, desta forma, foi feita análise descritiva dos resultados.

Os nematóides *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4 não apresentaram redução de viabilidade enquanto armazenados por até 15 dias nas diferentes temperaturas testadas. Após 30 dias *Heterorhabditis* sp. JPM4 teve redução acentuada de viabilidade na temperatura de 8°C, porém, a partir de 60 dias essa redução ocorreu também para as temperaturas de 12, 24 e 28°C. Decorridos 120 dias, não foram encontrados nematóides viáveis nas temperaturas de 8 e 28°C, sendo também observado decréscimo na viabilidade para as temperaturas de 12 e 24°C, nas avaliações subsequentes de 150 e 180 dias. Desta forma, as temperaturas de 16 e 20°C foram consideradas mais adequadas para armazenamento desses nematóides em suspensão aquosa. As diferentes concentrações testadas (100, 1.000, 5.000 e 10.000 JI/mL) proporcionam resultados semelhan-

Tabela 2. Tratamentos utilizados nos experimentos.

Tratamento	Temperatura (°C)	Concentração (JI/mL)
H/J/R/F 1	8	100
H/J/R/F 2	8	1.000
H/J/R/F 3	8	5.000
H/J/R/F 4	8	10.000
H/J/R/F 5	12	100
H/J/R/F 6	12	1.000
H/J/R/F 7	12	5.000
H/J/R/F 8	12	10.000
H/J/R/F 9	16	100
H/J/R/F 10	16	1.000
H/J/R/F 11	16	5.000
H/J/R/F 12	16	10.000
H/J/R/F 13	20	100
H/J/R/F 14	20	1.000
H/J/R/F 15	20	5.000
H/J/R/F 16	20	10.000
H/J/R/F 17	24	100
H/J/R/F 18	24	1.000
H/J/R/F 19	24	5.000
H/J/R/F 20	24	10.000
H/J/R/F 21	28	100
H/J/R/F 22	28	1.000
H/J/R/F 23	28	5.000
H/J/R/F 24	28	10.000

tes, não diferindo entre si em relação à viabilidade dos nematóides *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4 (Tabela 2; Figuras 1 e 2).

Para os nematóides *S. riobrave* e *S. carpocapsae* observou-se a manutenção da viabilidade até 60 dias de armazenamento, sendo que após esse período houve um decréscimo principalmente para temperaturas de 24 e

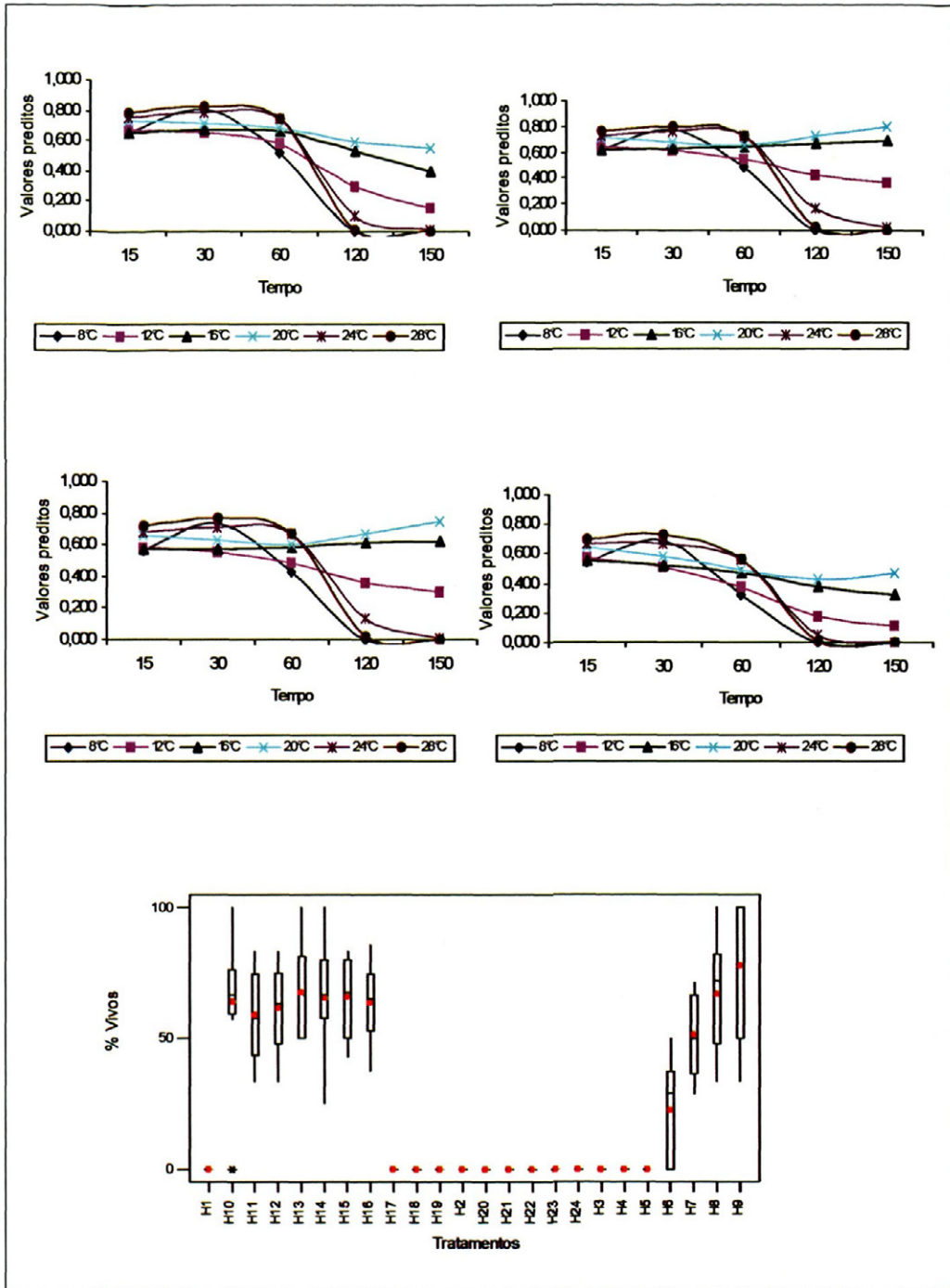


Figura 1. Viabilidade de *Heterorhabditis* sp. CCA. A. 100 JI/mL; B. 1.000JI/mL; C. 5.000 JI/mL; D. 10.000 JI/mL; E. 180 dias.

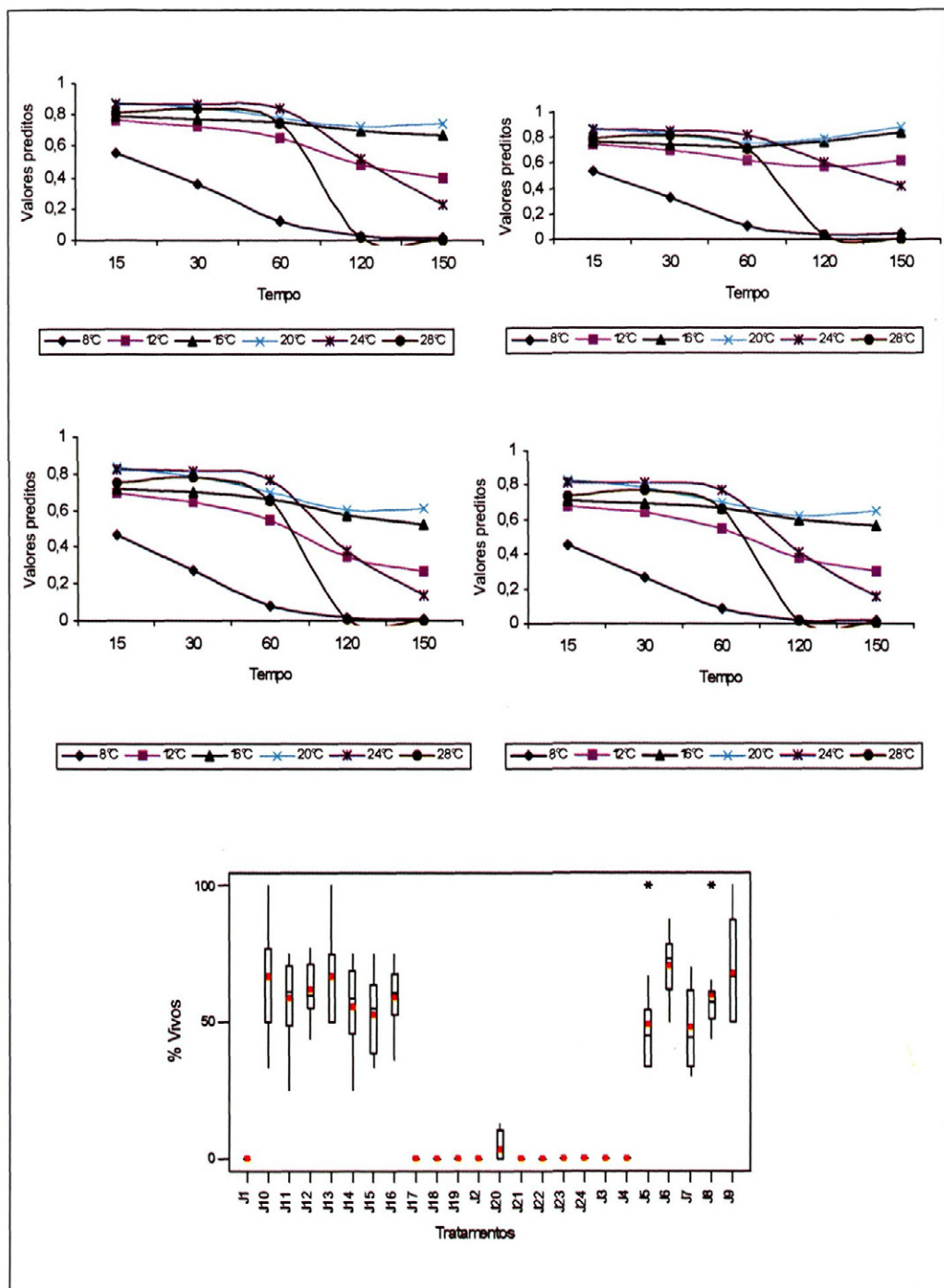


Figura 2. Viabilidade de *Heterorhabditis bacteriophora* JPM 4. A. 100 JI/mL; B. 1.000JI/mL; C. 5.000 JI/mL; D. 10.000 JI/mL; E. 180 dias.

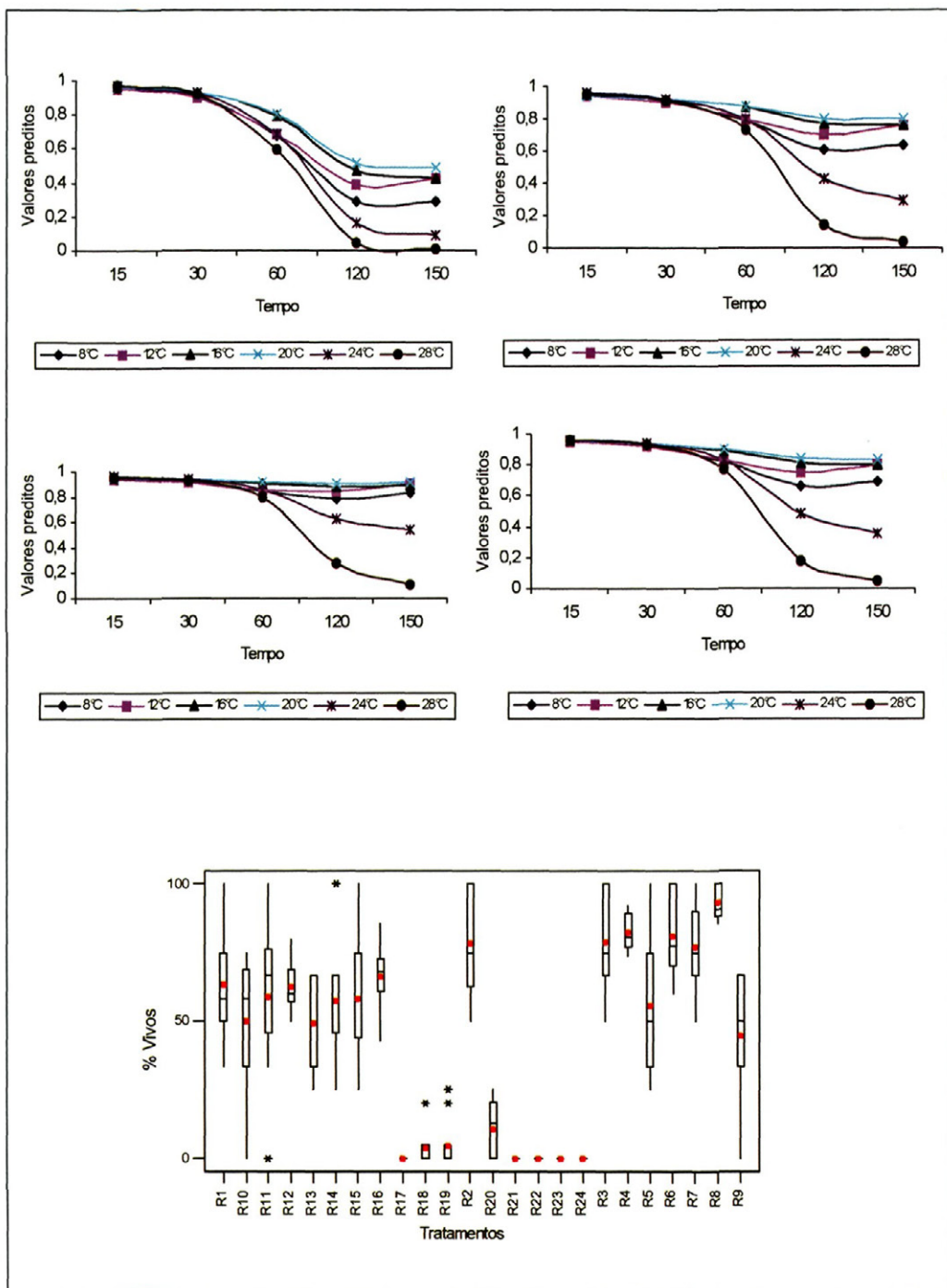


Figura 3. Viabilidade de *Steinernema riobrave*. A. 100 JI/mL; B. 1.000 JI/mL; C. 5.000 JI/mL; D. 10.000 JI/mL; E. 180 dias.

28°C. Essa redução foi se acentuando a cada avaliação para essas temperaturas, até que com 150 dias não foram encontrados nematóides viáveis na temperatura de 28°C e após 180 dias esse resultado também foi observado para a temperatura de 24°C. Assim, as temperaturas de 8, 12, 16 e 20°C foram consideradas preferenciais para armazenamento de *S. riobrave* e *S. carpocapsae* em suspensão aquosa. Em relação às concentrações avaliadas não foram observadas diferenças para esses nematóides quanto à perda de viabilidade (Tabela 2; Figuras 3 e 4).

Infectividade de nematóides entomopatogênicos sobre larvas de *Galleria mellonella* após armazenamento

Conforme os resultados na Tabela 3, nível de significância em 5%, há evidência de que concentração, temperatura e tempo apresentam efeitos diferenciados entre si.

Os nematóides *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4 apresentaram resultados semelhantes em relação à infecti-

vidade sobre larvas de *G. mellonella*, para todas as temperaturas testadas nos diferentes intervalos de avaliação. Assim, houve redução de infectividade a partir dos 30 dias nas temperaturas de 8 e 12°C. Após 120 dias armazenados essa redução também ocorreu para as temperaturas de 24 e 28°C. Aos 150 dias, apenas os nematóides em 16 e 20°C foram infectivos, sendo que após 180 dias ainda foram capazes de causar 50% de mortalidade em *G. mellonella*. Desta forma, as temperaturas de 16 e 20°C foram consideradas as melhores para armazenamento desses nematóides em relação ao parâmetro infectividade (Figura 5 A e B).

Já os nematóides *S. riobrave* e *S. carpocapsae* tiveram maior adaptação às temperaturas testadas do que os nematóides do gênero *Heterorhabditis*, apresentando uma ampla faixa de temperatura onde se mantiveram infectivos. Houve uma redução gradativa de infectividade principalmente para as temperaturas de 24 e 28°C até o período de 60 dias de armazenamento. Porém, a partir de

Tabela 3. Análise dos efeitos principais relativos à variável infectividade.

<i>Heterorhabditis</i> sp. CCA			
Efeito	GL	Valor Qui-Quadrado	p-valor
Concentração	3	46,5883	0,0001
Temperatura	5	112,6173	0,0001
Tempo	4	100,4931	0,0001
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM 4			
Efeito	GL	Valor Qui-Quadrado	p-valor
Concentração	3	48,7416	0,0001
Temperatura	5	86,9037	0,0001
Tempo	4	132,9535	0,0001
<i>Steinernema riobrave</i>			
Efeito	GL	Valor Qui-Quadrado	p-valor
Concentração	3	107,5767	0,0001
Temperatura	5	77,4587	0,0001
Tempo	4	67,8282	0,0001
<i>Steinernema carpocapsae</i>			
Efeito	GL	Valor Qui-Quadrado	p-valor
Concentração	3	62,1009	0,0001
Temperatura	5	51,5663	0,0001
Tempo	4	47,3107	0,0001

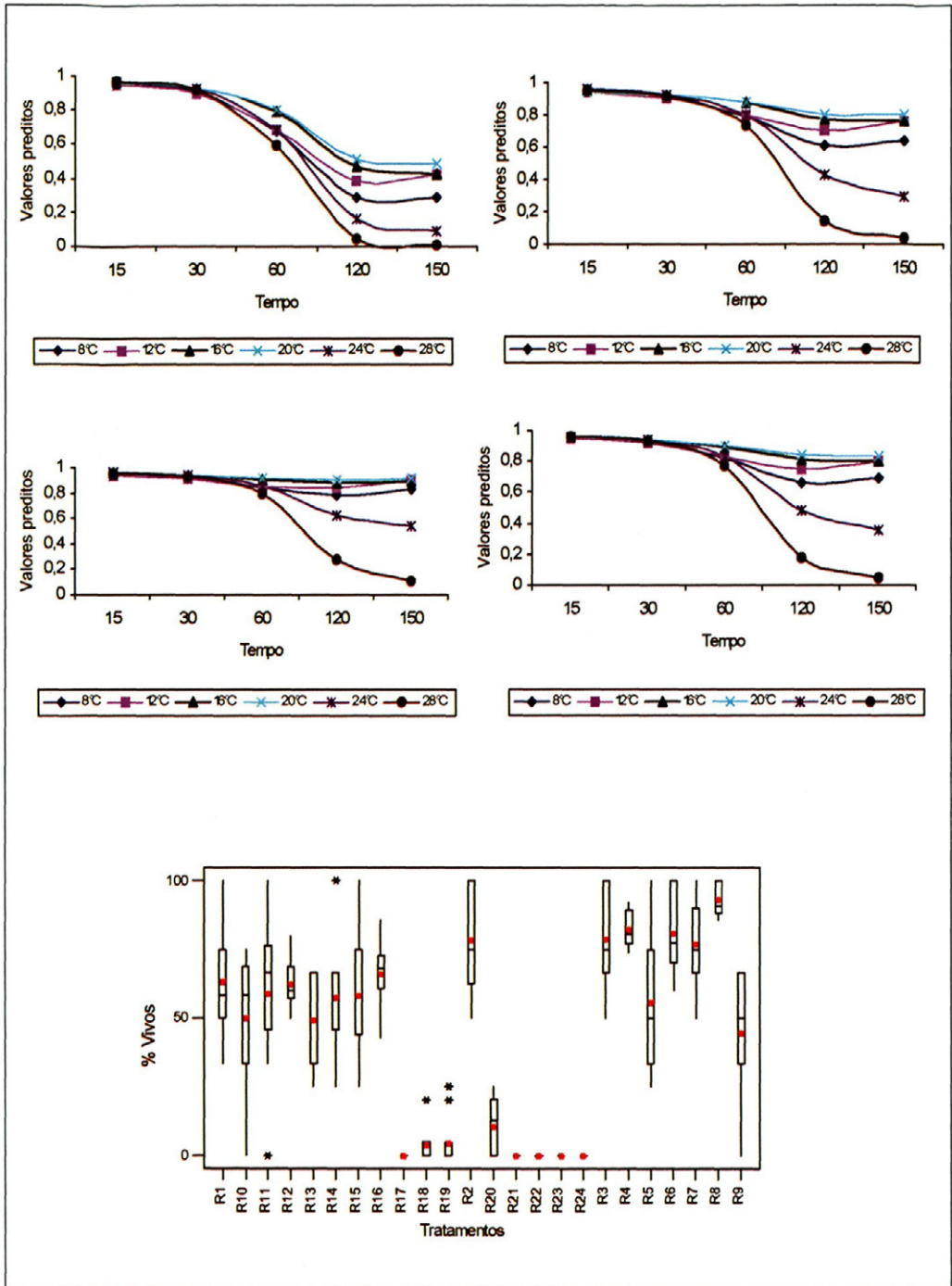


Figura 4. Viabilidade de *Steinernema carpocapsae*. A. 100 JI/mL; B. 1.000JI/mL; C. 5.000 JI/mL; D. 10.000 JI/mL; E. 180 dias.

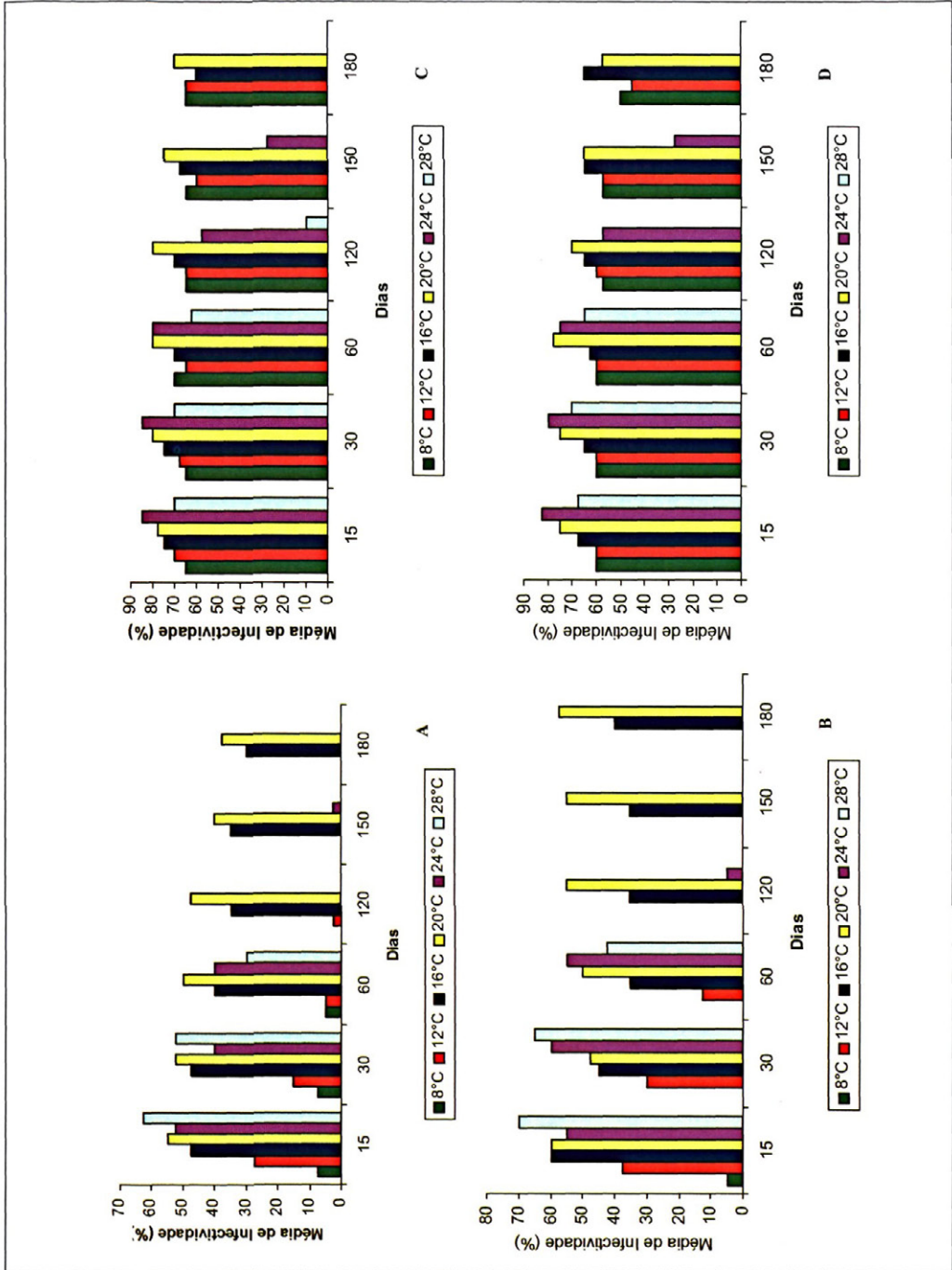


Figura 5. Infectividade de nematóides entomopatogênicos, armazenados em diferentes temperaturas, sobre larvas de *Galleria mellonella*, ao longo do tempo. A. *Heterorhabditis* sp. CCA; B. *H. bacteriophora* JPM4; C. *S. riobrave*; D. *D. carpocapsae*.

120 dias houve uma redução drástica de infectividade a 28°C e a partir de 150 dias também para 24°C. Após 180 dias não foram encontrados nematóides capazes de causar infectividade em *G. mellonella*. A temperatura de 16°C e 20°C foram consideradas melhores para armazenamento de *S. carpocapsae* e *S. riobrave* em relação à infectividade, pois apesar de nas outras temperaturas ainda existirem nematóides infectivos, houve maior redução dessa infectividade (Figura 5 C e D).

Em relação às diferentes concentrações testadas, para os quatro nematóides, observou-se maior infectividade dos juvenis infectivos armazenados nas maiores concentrações, como 5.000 e 10.000 JI/mL, em todas as temperaturas.

De acordo com WESTERMAN (1999) existem diferenças entre as condições ideais para cada nematóide, como por exemplo, *Heterorhabditis* sp. que em baixas temperaturas apresentam diminuição de mobilidade, infectividade e surgimento de um processo de agregação entre eles. Este comportamento também foi observado no presente estudo, onde *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4 tiveram redução de viabilidade e infectividade em temperaturas de 8 e 12°C. BROWN e GAUGLER (1997) também observaram que baixas temperaturas impedem a emergência completa de *H. bacteriophora* causando por fim a morte dos juvenis infectivos, que, em geral, apresentam persistência curta, de 2 a 3 semanas, encontrando-se em raras ocasiões nematóides que persistem por estações ou anos (LEWIS e SHAPIRO-ILAN, 2002).

Essas características também foram citadas por KAYA e STOCK (1997), onde nematóides entomopatogênicos podem ser armazenados por um pequeno tempo em frascos de cultura com água destilada, sem presença de aeração. No entanto, de forma geral, os steinernematídeos podem ser armazenados de 4 a 15°C por cerca de 6 a 9 meses, enquanto os heterorhabditídeos por 3 a 4 meses nesse mesmo intervalo de temperatura.

Temperatura extrema é um dos fatores que limitam a sobrevivência desses organismos, influenciando tanto na sobrevivência, como na mobilidade e infectividade (GLASER, 2002). Além disso, juvenis infectivos de heterorhabditídeos são afetados em baixa temperatura, diminuindo a proporção de nematóides infectivos e a habilidade para procurar hospedeiros. Na temperatura de 9°C *Heterorhabditis* sp. foi menos infectivo a *Otiorhynchus sulcatus* e a *G. mellonella* do que a 20°C (WESTERMAN, 1999). Os resultados observados nesse estudo, onde tanto altas como baixas temperaturas foram consideradas prejudiciais para os nematóides testados, principalmente para aqueles do gênero *Heterorhabditis*, estando de acordo com os dados apresentados anteriormente.

De acordo com LEWIS e SHAPIRO-ILAN (2002) existem grandes diferenças de longevidade de dessecação entre os nematóides, pois *H. bacteriophora* já foi encontrado sobrevivendo em temperaturas de até 40°C, e infectando e reproduzindo em hospedeiros em 30°C. Já os nematóides *S. carpocapsae*, *S. glaseri* e *S. riobrave*, podem tolerar temperaturas de congelamento de -4°C. No entanto, estas diferenças parecem estar relacionadas com sua adaptação térmica. Além disso, GREWAL (2000), cita que a pequena longevidade de *S. feltiae* em 25°C pode ser devido à baixa sobrevivência em temperaturas altas, pois é uma espécie de região temperada, em contraste, *S. riobrave* é uma espécie tropical, com seu ótimo para armazenamento de 15°C. Com isso, pode-se dizer que existe uma grande variação mesmo dentro da mesma espécie, sendo preciso adequar as condições ideais para cada isolado de nematóide.

Em 5°C *S. carpocapsae* sobrevive por maior tempo que os demais nematóides em água, já que adota forma de 'J', ficando quiescente e conservando energia, enquanto *S. riobrave* e *S. feltiae* permanecem ativos. Desta forma, a longevidade dos steinernematídeos a baixas temperaturas pode ser mais dependente da sua tolerância ao frio do que a quantidade de reservas energéticas (GREWAL, 2000).

Segundo JAGDALE e GREWAL (2003) a diferença na adaptação termal está associada à acumulação de trealose, reserva de carboidratos, durante a aclimatação ao frio (5°C) ou ao calor (35°C), auxiliando na manutenção da virulência durante um estresse termal, sendo assim, a quantidade acumulada de trealose é diferente para cada espécie de nematóide em diferentes temperaturas.

A agregação ocorre principalmente quando os nematóides estão em baixas temperaturas, onde é notada uma diminuição de infectividade. Quando os nematóides estão agregados o número de infectivos para penetrar e matar os insetos é menor, já que vários irão penetrar no mesmo inseto e poucos serão infectados e mortos, escapando muitos insetos vivos (WESTERMAN, 1999). Assim,

pode-se considerar que a agregação está mais associada à diminuição de temperatura, formando agregados em forma de rosetas em espécies do gênero *Heterorhabditis*, do que à concentração, já que estas formas não são observadas em nematóides do gênero *Steinernema*.

Entender os parâmetros que influenciam um curto ou longo período de persistência dos nematóides é um aspecto importante tanto para garantir a sobrevivência dos juvenis infectivos em armazenamento, como também para liberação desses organismos no campo em sistemas de controle biológico. Conhecer as condições ideais para manutenção e multiplicação desses nematóides pode potencializar seu uso em programas de manejo integrado de pragas.

RESUMEN

ANDALÓ V., A. MOINO JR, J. P. MOLINA ACEVEDO, R. S. CAVALCANTI, F. A. CARVALHO. 2005. Efecto de la temperatura y concentración en la supervivencia de nematodos entomopatógenos en condiciones de almacenamiento, determinando su uso potencial como agentes de control biológico. *Bol. San, Veg. Plagas*, 31: 253-265.

Factores como la temperatura y concentración de juveniles infectivos, pueden influenciar el almacenamiento de nematodos entomopatógenos, afectando la supervivencia y la infectividad. Este bioensayo tuvo por objetivo evaluar la influencia de la temperatura y concentración de juveniles infectivos en su supervivencia, a fin de mejorar el almacenamiento, obteniendodo juveniles infectivos mas virulentos. Fueron evaluados variables como viabilidad e infectividad de juveniles infectivos (sobre larvas de *Galleria mellonella*) de especies de nematodos entomopatógenos como *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave*, *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM 4, en concentraciones de 100, 1.000, 5.000 e 10.000 JI/mL en seis temperaturas (8, 12, 16, 20, 24 e 28°C). Las evaluaciones fueron hechas a los 15, 30, 60, 120, 150 y 180 dias de almacenamiento. Se observó que todas las especies presentaron viabilidad e infectividad similar en las concentraciones provadas, con variación en las diferentes temperaturas. Así, tanto *Heterorhabditis* sp. CCA como *Heterorhabditis* sp. JPM4 presentaron viabilidad reducida en las temperaturas de 8, 12, 24 e 28°C. *S. carpocapsae* y *S. riobrave* presentaron reducción en su viabilidad a partir de 60 dias de almacenamiento a 24 e 28°C. *Heterorhabditis* sp. CCA e *Heterorhabditis* sp. JPM4 presentaron reducción en su infectividad a partir de 15 dias para 8°C y a partir de 60 dias a 24 e 28°C. *S. carpocapsae* y *S. riobrave* presentaron reducción en su infectividad a partir de 60 dias a 24 e 28°C. Las diferencias encontradas entre nematodos evidenciaron la importancia del estudio de factores que favorecan la manutencion de las características de nematodos entomopatógenos en diferentes condiciones de almacenamiento, a fin de prolongar el tiempo de supervivencia e infectividad.

Palabras clave: Nematodos entomopatógenos, temperatura, concentración, almacenamiento, control biológico, infectividad, supervivencia.

ABSTRACT

ANDALÓ V., A. MOINO JR, J. P. MOLINA ACEVEDO, R. S. CAVALCANTI, F. A. CARVALHO. 2005. Effect of temperature and concentration in the survival of entomopathogenic nematodes under storage conditions, glimpsing their use in biological control of pests. *Bol. San, Veg. Plagas*, 31: 253-265.

The temperature and concentration of infective juveniles, can influence the storage of entomopathogenic nematodes, affecting the survival and infectivity. In this bioassay, the objective was to evaluate the influence of temperature and concentration on entomopathogenic nematodes survival conditions, to improve the storing, obtaining more virulent IJ. The viability and infectivity (on larvae of *Galleria mellonella*) of *Steinernema carpocapsae*, *S. riobrave*, *Heterorhabditis* sp. CCA and *Heterorhabditis* sp. JPM 4, in concentrations of 100, 1.000, 5.000 and 10.000 IJ/mL at six temperatures (8, 12, 16, 20, 24 and 28°C) was also evaluated. The observations were made at 15, 30, 60, 120, 150 and 180 days of storage. It was observed that all species presented similar viability and infectivity within different concentrations, but varied in different temperatures. Thus, so much *Heterorhabditis* sp. CCA like *Heterorhabditis* sp. JPM4 at reduced viability at temperatures of 8, 12, 24 and 28°C. *S. carpocapsae* and *S. riobrave* presented reduced viability starting first at 60 days at 24 and 28°C. *Heterorhabditis* sp. CCA and *Heterorhabditis* sp. JPM4 showed reduced infectivity starting at 15 days at 8°C and 60 days at 24 and 28°C. *S. carpocapsae* and *S. riobrave* had reduction infectivity starting after 60 days at 24 and 28°C. The differences in viability among entomopathogenic nematodes support the importance of this study of favorable factors for the maintenance of the characteristics in different storage conditions, in order to prolong the time of entomopathogenic nematodes survival and infectivity.

Key words: Entomopathogenic nematodes, temperature, concentration, storage, biological control, infectivity, survival.

REFERENCIAS

- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. 2002. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. (Edit.). *Entomopathogenic Nematology*. New Jersey: Rutgers University, 1-28.
- BROWN, I. M.; GAUGLER, R. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. *Nematologica*, 43: 363-375.
- DUTKY, S. R.; THOMPSON, J. V.; CANTWE, G. E. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. *Journal of Insect Pathology*, 6: 417-422.
- GLASER, I. Survival biology. 2002. In: GAUGLER, R. (Edit.). *Entomopathogenic Nematology*. CABI, 169-188.
- GREWAL, P.S. 2000. Anhydrobiotic potencial and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology*, 30: 995-1000.
- JAGDALE, G.B.; GREWAL, P.S. 2003. Acclimation of entomopathogenic nematodes to novel temperatures: trehalose accumulation and the acquisition of thermotolerance. *International Journal for Parasitology*, 33: 145-152.
- KAYA, H. K.; STOCK, P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L. (Edit.). *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, 281-324.
- LEWIS, E. E.; SHAPIRO-ILAN, D. 2002. Host cadavers protect entomopathogenic nematodes during freezing. *Journal Invertebrate Pathology*, 81: 25-32.
- MOLINA J. P.; LÓPEZ N. J. C. 2003. Supervivencia y parasitismo de nematodos entomopatógenos para el control de *Hypothenemus hampei*, (Coleoptera: Scolytidae) en frutos de café. *Bol.San. Veg. Plagas*, 29: 523-533.
- MOLINA J. P.; LÓPEZ N. J. C. 2001. Producción in vivo de tres entomonematodos con dos sistemas de infección en dos hospedantes. *Revista Colombiana de Entomología*, 27 (1-2): 73-78.
- PARRA, J. R. P. 1998. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. (Edit.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, cap. 35, 1015-1037.
- WESTERMAN, P. R. 1999. Aggregation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., among host insects at 9 and 20°C and effects on efficacy. *Journal Invertebrate Pathology*, 73: 206-213.
- WHITE, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Scienc*, 66: 302-303.

(Recepción: 22 octubre 2004)

(Aceptación: 17 marzo 2005)