

INSTITUTO BIOLÓGICO
PÓS-GRADUAÇÃO

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA O
CONTROLE DE *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978 (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE)**

FERNANDO HENRIQUE CARVALHO GIOMETTI

Dissertação apresentada ao
Instituto Biológico, da Agência
Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios, para obtenção do
título de Mestre em Sanidade,
Segurança Alimentar e Ambiental
no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade
Vegetal, Segurança Alimentar e o
Ambiente
Orientador(a): Dr. Luís Garrigós
Leite

São Paulo
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO
Pós-Graduação
Av. Cons. Rodrigues Alves 1252
CEP 04014-002 - São Paulo - SP
pg@biologico.sp.gov.br



FOLHA DE APROVAÇÃO

Autor: Fernando Henrique Carvalho Giometti

Título: Avaliação de nematóides entomopatogênicos para o controle de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae)

Orientador(a): Prof. Dr. Luís Garrigós Leite

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente

Aprovada em: 17 de Abril de 2009

Banca Examinadora

Assinatura:

Prof. (a) Dr.(a): Luís Garrigós Leite

Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

Prof. (a) Dr.(a): Antonio Batista Filho

Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

Dr.(a): Inajá Marchizeli Wenzel

Instituição: Toyobo do Brasil Ltda.

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

Núcleo de Informação e Documentação - Biblioteca

Instituto Biológico

Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo

Giometti, Fernando Henrique Carvalho

Avaliação de nematóides entomopatogênicos para o controle de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) / Fernando Henrique Carvalho Giometti. – São Paulo, 2009.

Dissertação (Mestrado) Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente.

Linha de pesquisa: Controle Microbiano de Pragas.

Orientador: Luís Garrigós Leite

Versão do título para o inglês: Evaluation of entomopathogenic nematodes to control of *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae).

1. Bicudo da cana-de-açúcar 2. *Sphenophorus levis* 3. Nematóides entomopatogênicos, Persistência 4. Controle microbiano 5. Pragas da cana-de-açúcar I. Leite, Luís Garrigós II. Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação III. Título

DEDICO

Aos meus pais, **Luiz Paulo Giometti** e **Ivonete Carvalho Giometti**, pelo amor e apoio irrestrito que ajudaram a me fortalecer durante minha caminhada.

Aos meus avôs **Joaquim Cunha Carvalho** (*in memoriam*) e **Helena Hipolito Carvalho**, cujas atitudes me demonstraram a conduta e a dignidade para me espelhar.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A todos os meus familiares que independente da distância sempre me incentivaram;

Ao **Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios**, pela oportunidade de realização deste curso;

Ao **Prof. Dr. Luís Garrigós Leite**, pela confiança, amizade, ensinamentos e pela orientação imprescindível para a realização deste trabalho;

Aos professores do programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio, pelos ensinamentos transmitidos;

À **Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola – FUNDAG**, pela concessão da bolsa de estudos;

À **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, pelo suporte financeiro desta pesquisa.

À **Usina Costa Pinto – COSAN S/A** e à **Usina Maluf – DEDINI Açúcar e Álcool**, pelo auxílio na realização dos experimentos em campo;

Aos pesquisadores do Laboratório de Controle biológico: **Dr. Antonio Batista Filho, Dr. José Eduardo Marcondes de Almeida, Dr. Valmir Costa e Dr. Laerte Machado**, pelos ensinamentos e exemplos de seriedade e profissionalismo que auxiliaram na minha formação;

À amiga **Dra. Inajá Marchizeli Wenzel**, pelo incentivo, ensinamentos e amizade ao longo desses anos;

À **Fermentec Ltda.**, pela confiança, oportunidade e apoio neste último ano;

Ao amigo **Fernando Tavares**, por toda ajuda na realização da pesquisa;

Ao amigo **Luciano Zappellini**, pela amizade e apoio nesses vários anos de convívio;

Aos amigos que passaram ao longo desses anos pelo Laboratório de Controle Biológico **Aline, Xandão, Alexandre Sano, Beto, Dani, Guru, Thaís e Buda**.

Aos amigos **Carlão, Guilherme, Marjorie** pelas cansativas, porém divertidas, idas à São Paulo para realização de disciplinas;

Aos amigos de Pós-graduação, em especial **Juliana, Dani, Flan, Leandro, Maria Fernanda e Clarice**, pela convivência e momentos de descontração nos churrascos;

Mesmo que passe o tempo e as distancias sejam insuperáveis, jamais deixarei de lembrar daqueles que me ensinaram, incentivaram e acreditaram na realização deste trabalho. **Muito Obrigado!**

"O pessimista vê dificuldade em cada oportunidade. O otimista vê a oportunidade em cada dificuldade."

Winston Churchill

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. <i>Sphenophorus levis</i> VAURIE, 1978 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....	3
2.1.1. <i>Biologia</i>	3
2.1.2. <i>Distribuição Geográfica e Flutuação Populacional</i>	4
2.1.3. <i>Danos</i>	5
2.1.4. <i>Monitoramento</i>	5
2.2. Métodos de Controle	5
2.2.1. <i>Controle Cultural</i>	6
2.2.2. <i>Controle Químico</i>	6
2.2.3. <i>Feromônio Sexual</i>	7
2.2.4. <i>Controle Biológico</i>	7
2.3. Nematóides Entomopatogênicos	8
2.3.1. <i>Biologia</i>	8
2.3.2. <i>Sobrevivência e Persistência</i>	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1. Obtenção de <i>Sphenophorus levis</i>	10
3.2. Multiplicação dos Nematóides Entomopatogênicos	10
3.3. Avaliação de novos isolados de nematóides entomopatogênicos contra adultos de <i>S. levis</i>	11
3.3.1. <i>Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de adultos de <i>Sphenophorus levis</i>, em condições de laboratório</i>	11
3.3.2. <i>Avaliação de três dosagens dos melhores isolados contra <i>S. levis</i>, em condições de laboratório</i>	13
3.4. Eficiência do nematóide <i>Steinernema</i> sp. em comparação com o fungo <i>Beauveria bassiana</i>, isolados IBCB 66 e IBCB 616, contra <i>Sphenophorus levis</i>	13
3.5. Persistência do nematóide <i>Steinernema</i> sp. IBCB n6 em área de cana-de-açúcar com e sem cobertura de palha e benefícios no controle de <i>Sphenophorus levis</i>	16

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1. Avaliação de novos isolados de nematóides entomopatogênicos contra adultos de <i>Sphenophorus levis</i>	19
4.1.1. Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de <i>S. levis</i> , em condições de laboratório.....	19
4.1.2. Avaliação de três dosagens dos melhores isolados contra <i>S. levis</i> , em condições de laboratório.....	21
4.2. Eficiência do nematóide entomopatogênico <i>Steinernema</i> sp. IBCBn 06 em comparação com o fungo <i>Beauveria bassiana</i>, isolados IBCB 66 e IBCB 616 , no controle do <i>Sphenophorus levis</i>.....	23
4.3. Persistência do nematóide <i>Steinernema</i> sp. IBCBn 06 em área de cana-de-açúcar com e sem cobertura de palha	26
5. CONCLUSÕES	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Fluxograma do ciclo biológico do bicudo da cana-de-açúcar <i>Sphenophorus levis</i>	4
FIGURA 2. Isca atrativa para captura de adultos do bicudo da cana-de-açúcar <i>Sphenophorus levis</i>	10
FIGURA 3. Multiplicação de nematóides entomopatogênicos <i>in vivo</i> (A) e <i>in vitro</i> (B).....	11
FIGURA 4. Potes plásticos contendo solo arenoso e colmo de cana-de-açúcar (A) utilizados para realização do ensaio em laboratório (B), mantidos em sala climatizada (C)	12
FIGURA 5. Armadilha de “White” constituída de placa de petri com uma lâmina de água e disco de papel filtro umedecido	12
FIGURA 6. Delineamento experimental utilizado para o ensaio de campo realizado na Usina Costa Pinto	14
FIGURA 7. Envelope de tela contendo 5 adultos de <i>Sphenophorus levis</i> e cerca de 200 g de solo (A), enterrados previamente a aplicação (B)	15
FIGURA 8. Delineamento experimental utilizado para o ensaio de campo realizado na Usina Maluf. Quadrículos em verde representam área descoberta de palha e quadrículos em marrom, áreas com palha	16
FIGURA 9. Armadilha de White adaptada	18
FIGURA 10. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> expostos a diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos nas dosagens de 3, 12 e 60 JI/cm ² , em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas) Barras = Erro Padrão	23
FIGURA 11. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> (corrigida pela fórmula de Abbott) em áreas de cana de açúcar tratadas com o nematóide <i>Steinernema</i> sp. IBCB n6 e com o fungo <i>Beauveria bassiana</i> , isolados IBCB 66 e IBCB 616. Piracicaba, SP 2008	24
FIGURA 12. Porcentagem de plantas danificadas por <i>Sphenophorus levis</i> e produção em toneladas/ha. Nema = <i>Steinernema</i> sp. IBCB n6; Test = testemunha; CB 66 = <i>Beauveria bassiana</i> IBCB 66; CB 616 = <i>B. bassiana</i> IBCB 616. Barras = erro padrão. Usina Costa Pinto, Piracicaba, SP, safra 2008. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (F _{Dano} = 1,658, P _{Dano} = 0,175) (F _{Prod.} = 0,524 , P _{Prod.} = 0,756)	25
FIGURA 13. Porcentagem de larvas de <i>Galleria mellonella</i> mortas por <i>Steinernema</i> sp. IBCB n6 nos tratamentos que receberam a aplicação desse nematóide, com (—) e sem cobertura vegetal (—), e nas respectivas testemunhas, com palha (---) e sem a cobertura vegetal (---). Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008	28

FIGURA 14. Porcentagens de larvas de *Galleria mellonella* mortas por *Steinernema* sp. IBCB n6 (—) e pelo *Heterorhabditis* sp. nativo somado ao *Steinernema* sp. IBCB n6 (—), obtidas da média dos tratamentos com e sem palha, mas que receberam a aplicação do *Steinernema* sp. IBCB n6 (A), e daqueles que não receberam a aplicação (testemunhas) (B). Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 200828

FIGURA 15. Dados climatológicos obtidos da Estação Experimental Santa Eliza do IAC, localizada a 40 km de distância do experimento na Usina Maluf29

FIGURA 16. Porcentagem de plantas danificadas por *Sphenophorus levis* e produção em toneladas/ha. Test = testemunha sem cobertura vegetal; Nema = *Steinernema* sp. IBCB n6 sem cobertura vegetal; Test-Palha = testemunha + cobertura vegetal; Nema-Palha = *Steinernema* sp. IBCB n6 + cobertura vegetal. Barras = erro padrão. Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($F_{\text{Dano}} = 1,323$, $P_{\text{Dano}} = 0,164$) ($F_{\text{Prod.}} = 0,502$, $P_{\text{Prod.}} = 0,730$).....33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Isolados de nematóides entomopatogênicos com suas respectivas procedências, depositados na Coleção de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, Instituto Biológico	11
TABELA 2. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas) – BLOCO 1	19
TABELA 3. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas) – BLOCO 2	19
TABELA 4. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas) – BLOCO 3	20
TABELA 5. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas) – BLOCO 4	20
TABELA 6. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> causada por diferentes isolados e diferentes dosagens de nematóides entomopatogênicos, em laboratório ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas)	22
TABELA 7. Mortalidade total de adultos de <i>Sphenophorus levis</i> em áreas de cana de açúcar tratadas com o nematóide <i>Steinernema</i> sp. IBCB n6 e com o fungo <i>Beauveria bassiana</i> , isolados IBCB-66 e IBCB 616, Piracicaba (SP), 2008	24
TABELA 8. Porcentagens de larvas de <i>Galleria mellonella</i> mortas por <i>Steinernema</i> sp. IBCB n6 nos tratamentos que receberam a aplicação desse nematóide, com (Nema-palha) e sem cobertura vegetal (Nema-solo), e nas respectivas testemunhas, com palha (Test-palha) e sem cobertura vegetal (Test-solo). Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008	27

GIOMETTI, F. H. C. AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA O CONTROLE DE *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). 2008. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

RESUMO

O bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) é uma importante praga de solo dos canaviais no estado de São Paulo, ocasionando prejuízos de até 30 ton/ha/ano. Sua rápida disseminação para outras regiões canavieiras onde sua incidência ainda não havia sido registrada são resultados da ineficácia dos métodos atuais de controle e da expansão da área plantada, devido à alta demanda de álcool. Com o objetivo de ampliar a eficiência de controle do *S. levis* e reduzir os impactos ambientais, foi avaliado em laboratório e em campo a ação de nematóides entomopatogênicos no controle dessa praga. Visando trabalhar com nematóides reconhecidamente eficientes, previamente foi realizada uma seleção em laboratório, avaliando-se 17 isolados de diferentes espécies de *Heterorhabditis* e *Steinernema*. Dentre os nematóides avaliados, quatro isolados se destacaram ocasionando mortalidade confirmada entre 20 e 45% na concentração de 12 juvenis infectivos (JI)/cm², sendo três pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*. Para os ensaios de campo, o isolado IBCB n6 de *Steinernema* sp. foi comparado com dois isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* quanto à eficiência no controle do inseto e a influência da palhada na persistência dos nematóides no agroambiente da cana-de-açúcar. O nematóide proporcionou 63% de mortalidade corrigida de adultos do inseto, tendo esse tratamento diferido significativamente dos demais quanto à mortalidade real. A população do nematóide foi reduzida lentamente com o passar dos meses, não havendo diferença significativa até 72 dias. Isso sugere que o nematóide pode persistir por pelo menos dois meses em nível populacional que pode contribuir para o controle do bicudo da cana-de-açúcar. O nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 pode se estabelecer e persistir em área comercial de cana-de-açúcar por pelo menos dez meses, sobrevivendo inclusive no período desfavorável do ano, de menor precipitação pluviométrica. Assim, os resultados obtidos nos ensaios de laboratório e campo demonstram o grande potencial deste nematóide para o manejo integrado do bicudo da cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis*, nematóides entomopatogênicos, persistência, controle microbiano, pragas da cana-de-açúcar.

GIOMETTI, F. H. C. EVALUATION OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES TO CONTROL OF *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). 2008. Dissertation (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

ABSTRACT

The sugarcane's boll weevil *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) is an important pest of sugarcane crop areas in the State of São Paulo, causing losses up to 30 tons/ha/year. Due high demand for alcohol, this pest is been spread to other plantation areas where their incidence was not reported before and this expansion is result as an inefficient methods of control. Objectiving to increase the efficiency of control of *S. levis* and reduce their environmental impacts, was evaluated in laboratory and field activity the performance of this nematodes as entomopathogenic controlling. Aiming to work with efficient nematodes, a previously selection was performed, resulting in 17 isolates of different species of *Heterorhabditis* and *Steinernema*. Among the nematodes evaluated, four isolated were confirmed as stressing, causing mortality in 20 and 45% in concentration of 12 infective juveniles (JI)/cm², which three of them belonging to the genus *Heterorhabditis*. On the assay, the isolated IBCB n6 of *Steinernema* sp. was compared with two isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, comparing the efficiency in controlling the insect and the influence of the straw on the persistence of these nematodes on the Agro-environment of sugarcane. The nematode was able to cause mortality in 63% on the insect adults, and the treatment differed significantly from the others related to mortality. The nematode's population reduced slowly through the months, with no significant difference up to 72 days. This suggests that the nematodes may persist at least two months on the field, contributing to boll weevil controlling. The nematode *Steinernema* sp. IBCB n6 can establish and persist on sugarcane commercial areas at least 10 months, surviving even on unfavorable periods of the year on dry season. Thus the results obtained in laboratory and field tests showed the great potential of this nematode as an integrated management tool for sugarcane.

KEYWORDS: Sugarcane's boll weevil, *Sphenophorus levis*, entomopathogenic nematodes, persistence, microbiological control, sugarcane's pests.

1. INTRODUÇÃO

O prognóstico da produção nacional de cana-de-açúcar para a safra 2008/09 indica que o volume total a ser processado pelo setor sucroalcooleiro atingirá um montante de 558,72 milhões de toneladas, superando a safra anterior em 11,4%. Desse total, 43,1% serão destinados à fabricação de açúcar e 56,9% à produção de álcool, confirmando a tendência de termos uma safra mais alcooleira, incentivada pelo aumento da intensidade do consumo doméstico do etanol e das perspectivas do comércio externo deste produto (CONAB, 2008).

De acordo com o estudo "Projeções do Agronegócio no Brasil e no Mundo", realizado pela Assessoria de Gestão Estratégica do Ministério da Agricultura, para os próximos 12 anos espera-se uma expansão de 42,2% na área de cana-de-açúcar sobre o total plantado no país, ultrapassando os 10 milhões de hectares na safra 2017/18. Com isso, a produção de etanol saltaria 120%, passando de 18,9 bilhões para 41,7 bilhões de litros (AGE, 2007).

À medida que as áreas de plantio de cana-de-açúcar vêm se expandindo, ocorre um aumento proporcional de problemas relacionados a insetos pragas, com destaque para o bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) que vem sendo considerado fator limitante para essa cultura (ALMEIDA, 2005).

O foco inicial de *S. levis* como praga da cana-de-açúcar deu-se em Santa Bárbara do Oeste (SP) no ano de 1978. Precetti e Arigoni (1990) relataram essa praga como responsável por causar a morte de 50 a 60% dos perfilhos ainda na fase de cana-planta, com cinco a sete meses de crescimento, na região de Piracicaba (SP), ocasionando perdas de até 30 ton/ha/ano. Nos últimos anos esse inseto foi encontrado em outros 41 municípios, isso devido principalmente ao descuido no transporte de mudas infestadas de uma região à outra, visto que o inseto possui baixa taxa de dispersão, sendo da ordem de 6,60 a 11,10 metros por mês (DEGASPARI *et al.*, 1987).

Até o momento, o método mais recomendado para o controle da praga é o cultural, que consiste na destruição antecipada das soqueiras nas áreas infestadas e destinadas à reforma. Esta prática apresenta resultado satisfatório somente no 1º corte, pois muitas larvas e adultos do inseto conseguem sobreviver alimentando-se da matéria orgânica deixada no campo, mesmo após a destruição das soqueiras (PRECETTI; ARIGONI, 1990).

Outro método utilizado no manejo de *S. levis* são as iscas tóxicas, que são recomendadas em número de 500 iscas/ha e, portanto, apresentam desvantagens como necessitarem dispêndio elevado de mão-de-obra, além da necessidade de reaplicações constantes (POLANCZYK *et al.*, 2004).

Segundo Pérez (2008), alguns inseticidas eficientes no controle da praga estão sendo proibidos pelo ministério público devido a problemas ecológicos, toxicológicos, econômicos e de resistência às populações de campo.

Como alternativa ao uso de inseticidas químicos, os nematóides entomopatogênicos vem sendo avaliados para o controle deste inseto. Em casa de vegetação, Tavares (2006) avaliou a ação do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 contra larvas de *S. levis*, obtendo mortalidade corrigida (Abbott) de 67% na dosagem de 2,4 nematóides/cm². Para adultos do inseto em teste de laboratório, obteve mortalidade de 50% quando o nematóide foi avaliado na dose de 60 JI/inseto.

O desenvolvimento de métodos de controle biológico que possam ser usados no manejo integrado de *S. levis* são de extrema importância para a economia do setor, visto que o custo do controle tende a ser mais baixo do que o controle químico, além do ganho ambiental, sabendo que os bioinseticidas a base de nematóide não são tóxico para a flora e a fauna, bem como para o homem.

Visando ampliar a eficiência do controle de *Sphenophorus levis* e reduzir os impactos ambientais dessas operações, o presente trabalho teve por objetivos:

- 1) Avaliar diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos contra adultos de *Sphenophorus levis* visando a seleção dos mais virulentos;
- 2) Avaliar o nematóide entomopatogênico *Steinernema* sp. IBCB-n6 em comparação com o fungo *Beauveria bassiana*, isolados IBCB 66 e IBCB 616, quanto à eficiência no controle de *Sphenophorus levis*;
- 3) Avaliar a persistência do nematóide *Steinernema* sp. IBCB-n6 em área de cana-de-açúcar com e sem cobertura de palha.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Sphenophorus levis* VAURIE, 1978 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

O gênero *Sphenophorus* compreende um conjunto de espécies que danificam diversas culturas de importância econômica, principalmente as gramíneas. Só nos EUA ocorrem mais de 64 espécies desse gênero (WOODRUFF, 1966).

Inicialmente, o bicudo da cana-de-açúcar era considerado como praga secundária da cultura. A importância do *Sphenophorus levis* como praga da cana-de-açúcar no Brasil somente foi conhecida a partir de 1977, sendo que em 1989 o inseto foi detectado em 14 municípios na região de Piracicaba, interior do estado de São Paulo (PRECETTI & ARRIGONI, 1990).

Devido à dificuldade de seu controle e aos severos ataques em algumas regiões do estado de São Paulo, com diminuição significativa de produtividade agrícola, esse inseto vem recebendo cada vez mais atenção dos produtores de cana-de-açúcar, sendo considerado como praga principal em algumas localidades (DEGASPARI *et al.*, 1987).

2.1.1. *Biologia*

Os adultos do bicudo da cana-de-açúcar apresentam coloração castanho-escuro com manchas pretas no dorso e listras longitudinais nos élitros, sendo geralmente encontrados abaixo do nível do solo. O macho mede em média 9,7 mm de comprimento e possui longevidade, em condições de laboratório, de até 247 dias. Normalmente maior que o macho, a fêmea mede 11,90 mm com longevidade de até 249 dias (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

A fêmea desse inseto realiza a postura na base das brotações utilizando o rostro para abrir um orifício, ovipositando no decorrer de sua existência em torno de 60 a 70 ovos. Os ovos apresentam forma elíptica de 0,27 mm de comprimento médio e 0,10 mm de largura (DEGASPARI *et al.*, 1987).

Segundo Precetti & Arrigoni (1990), a eclosão ocorre após 7 a 12 dias e as larvas do inseto, de coloração branca leitosa e cabeça castanha avermelhada com mandíbulas bem desenvolvidas, alimentam-se do rizoma da planta. Completam o desenvolvimento larval em aproximadamente 35 dias, quando ampliam a galeria em que se encontram para preparar a câmara pupal, cessam sua alimentação e locomoção e passam à fase de pupa (FIGURA 1).

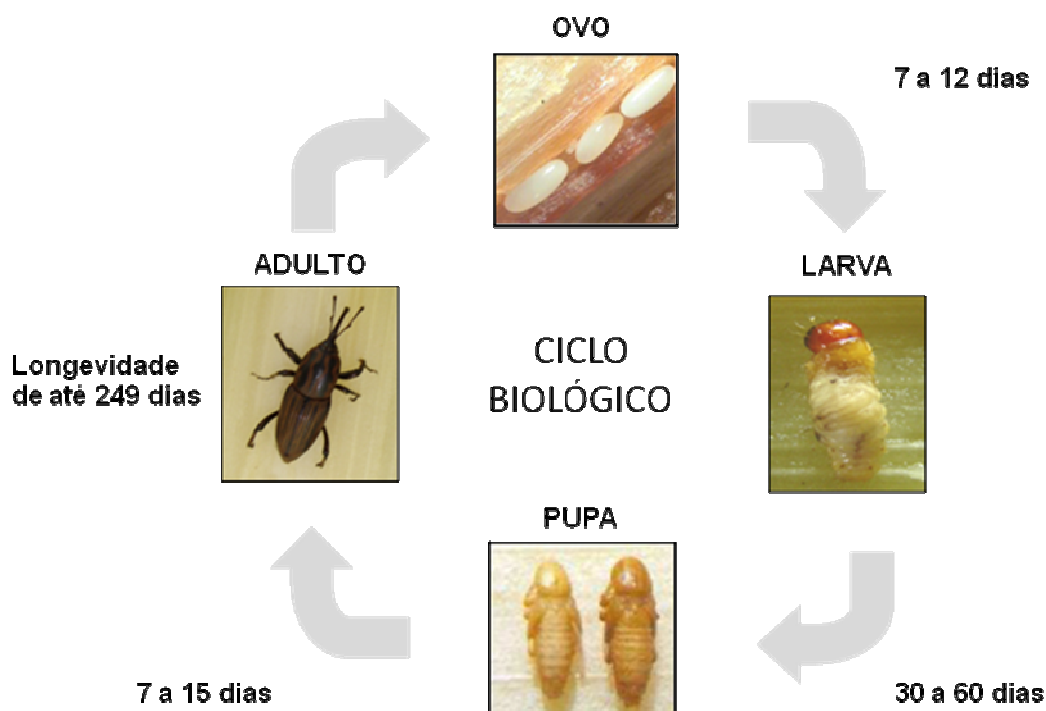


FIGURA 1. Fluxograma do ciclo biológico do bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis*.

2.1.2. Distribuição Geográfica e Flutuação Populacional

O gênero *Sphenophorus* ocorre em diversos países de vários continentes. Acredita-se que o gênero é originário da América do Norte, onde já foram relatadas 75 espécies. Na América do Sul ocorrem 18 espécies, seis na Europa, no norte da África e na Ásia, e 26 em outras regiões da África e na região do Pacífico (VAURIE, 1978).

Segundo o mesmo autor, na América do Sul a espécie *S. levis* é encontrada na Argentina, Uruguai e no Brasil, além do Paraguai, onde sua presença foi relatada por Zarbin *et al.* (2003). No Brasil, a espécie está distribuída nos estados de Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e São Paulo.

No estado de São Paulo, maior produtor de cana-de-açúcar, o *S. levis* encontra-se distribuído em mais de 40 municípios, incluindo as regiões Central (Araraquara, São Carlos, Jaú etc.), Sul (Assis e Ourinhos), Nordeste (Pradópolis) e Leste (Leme, Pirassununga, Araras, São João da Boa Vista, Santa Cruz das Palmeiras etc.), estando assim, em todas as regiões de cultivos de cana-de-açúcar do estado (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Ocorrem dois picos populacionais para os adultos, sendo um menor no mês de outubro e novembro, e o principal em fevereiro e março. A mesma dinâmica também é observada para as larvas, com um pico populacional em dezembro e outro, de maior intensidade, em junho-julho. Esses dados sugerem a ocorrência de duas gerações anuais da praga, em épocas bem definidas (DEGASPARI *et al.*, 1987; PRECETTI & ARRIGONI, 1990).

Assim, nos períodos de maio a novembro, especialmente nos três primeiros meses, ocorrem os maiores danos nas plantas de cana-de-açúcar, visto que a fase larval é a que causa maior prejuízo à cultura (ALMEIDA, 2005).

2.1.3. Danos

O dano direto à planta é verificado abaixo do nível do solo e na base das brotações, por galerias circulares e longitudinais realizadas pelas larvas do inseto, resultando em morte dos tecidos, secamento progressivo das folhas e, conseqüentemente, morte das touceiras e falhas das rebrotas. O dano indireto é observado pelo aumento da proliferação de plantas invasoras que competem com a cultura (DINARDO-MIRANDA *et al.*, 2006).

O dano direto do ataque do bicudo da cana-de-açúcar somado aos danos indiretos, resultam invariavelmente a uma redução da tonelagem de cana produzida por hectare (PRECETTI & TERÁN, 1983).

2.1.4. Monitoramento

O ataque das larvas ocasiona o secamento progressivo das folhas, sintoma que pode ser confundido com estresse hídrico ou fitotoxicidade pelo uso de herbicidas, sendo importante verificar a presença do inseto arrancando o perfilho e detectando a presença das larvas no interior do colmo (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

O monitoramento do adulto de *S. levis* é realizado por meio de armadilhas formadas com iscas atrativas produzidas com toletes de cana de 30 cm, seccionadas ao meio e imersos em inseticida químico por 24 horas. Após este período, os toletes são colocados nas bases das touceiras e revestidos com palha da cana na razão de 100 toletes para cada hectare. Passados 20 dias, a avaliação da incidência de adulto é feita com base na quantidade de insetos mortos (ALMEIDA, 2005).

De acordo com Pérez (2008), as iscas tóxicas constituem uma metodologia tecnicamente viável para avaliar as populações de adultos do bicudo da cana-de-açúcar e estabelecer relações entre ocorrência dos insetos e produção nos canaviais.

2.2. Métodos de Controle

Para o controle desse inseto tem sido recomendado um conjunto de medidas que consistem na destruição mecânica da soqueira na época apropriada; o uso de iscas tóxicas; a manutenção da área destruída livre de vegetação hospedeira por um período prolongado; e o plantio com aplicação de fipronil 800 WG (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Entretanto, apesar de todas essas medidas, ainda tem ocorrido um incremento nas populações da praga, sendo freqüente, nos últimos anos, registros de novas áreas infestadas. Isso demonstra a dificuldade de controle desse inseto, ressaltando a importância de pesquisas na busca de alternativas mais eficazes (LEITE *et al.*, 2006a).

2.2.1. Controle Cultural

O método de controle mais utilizado no manejo de *S. levis* é a destruição mecânica das soqueiras no período de picos de larvas, procurando-se expor ao máximo essas formas do inseto aos seus predadores e ao secamento dos rizomas (PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Esta prática apresenta resultado satisfatório somente no primeiro corte, pois muitas larvas do inseto conseguem sobreviver alimentando-se da matéria orgânica deixada no campo após a destruição das soqueiras, não afetando também as formas adultas do inseto.

A sanidade de viveiros de mudas também deve ser considerada, procurando-se evitar a introdução da praga em locais onde ainda não há registro do inseto, ou a reinfestação no campo. Mudas infestadas são as principais propagadoras do inseto, por isso é muito importante verificar sempre o local de origem das mudas, observando-se a presença ou não da praga (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

2.2.2. Controle Químico

Ensaio realizados em cultivos de cana-de-açúcar demonstraram que só os inseticidas clorados aldrin e heptacloro deram resultados satisfatórios no controle dessa praga (PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Atualmente, o inseticida fipronil (Regent 800WG) é o produto utilizado na tentativa de reduzir a incidência da praga no campo. Assim como na destruição das soqueiras, esta técnica é utilizada no plantio, procurando-se evitar o ataque da praga na cana planta (ALMEIDA, 2005).

A baixa eficácia do uso de inseticidas pode ser explicada devido ao comportamento e hábito das larvas e adultos dos insetos, dificultando o contato desses produtos no alvo (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

Isca tóxica também podem ser utilizadas para o controle de adultos no campo visando desviar a ovoposição das fêmeas recém emergidas (TERÁN *et al.*, 1986). Nenhum resultado satisfatório de controle foi obtido até o momento usando-se esta metodologia.

2.2.3. Feromônio Sexual

Recentemente foi sintetizado o feromônio sexual do macho sendo este uma ferramenta auxiliar no controle de adultos. O feromônio pode ser misturado aos inseticidas tornando as iscas mais atrativas no campo e conseqüentemente aumentando a eficiência no controle (ZARBIN *et al.*, 2003).

2.2.4. Controle Biológico

2.2.4.1. Fungos Entomopatogênicos

O fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. pertence à classe Hyphomycetes, família Moniliaceae, e é comumente encontrado no solo. É uma das espécies mais estudadas no controle de artrópodes em função da ampla distribuição geográfica e da grande variedade de hospedeiros (ALVES, 1998).

Diversos curculionídeos de importância agrícola apresentam suscetibilidade a este fungo entomopatogênico, como observado em *Cosmopolites sordidus*, *Rhynchophorus palmarum*, *Anthonomus grandis* e *Sphenophorus levis* (GUTIERREZ, 1986; BATISTA FILHO *et al.*, 2002).

Estudos realizados por Badilla e Alves (1991) avaliaram em condições de laboratório a mortalidade, tempo letal e a produção de conídios por adulto quando estes foram expostos a diferentes isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. O isolado 447 proporcionou maiores percentuais de eficiência em todos os parâmetros avaliados. Em condições de campo, utilizando toletes de cana contaminados com o fungo na dosagem de $4,9 \times 10^{11}$ conídios por unidade, proporcionou 92,3 % de mortalidade da praga.

2.2.4.2. Nematóides Entomopatogênicos

Nos Estados Unidos e Japão, os bicudos das gramíneas (*Sphenophorus* spp.) têm sido eficientemente controlados pelo uso dos nematóides *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema carpocapsae*. Este último, na dose de $2,5 \times 10^9$ juvenis infectivos/ha, proporcionou níveis de controle variáveis de 70,4 a 91,2% para *Sphenophorus purvulus* em estudos realizados nos Estados Unidos, e de 77,3 a 96,2% para *Sphenophorus venatus* em testes no Japão. Já *H. bacteriophora*, na mesma dose, foi um pouco menos eficiente para *S. purvulus*, proporcionando níveis de controle variáveis de 67,0 a 84,1%. Todos os estágios imaturos desses insetos são suscetíveis aos dois nematóides, assim como os adultos de *S. venatus* em relação a *S. carpocapsae* (SHAPIRO-ILAN *et al.*, 2002; SMITH, 1994).

O primeiro estudo realizado no Brasil, avaliando nematóides contra adultos de *S. levis*, mostrou o potencial desses agentes para uso como uma alternativa no controle desse inseto (GOULART *et al.*, 2004). Tavares (2006) avaliou a ação do nematóide *Steinernema* sp IBCB n6 contra larvas de *S. levis* em estufa, obtendo mortalidade corrigida (fórmula de Abbott) de 67% na dosagem de 2,4 nematóides/cm². Para adultos do inseto, obteve-se mortalidade de 70% quando misturado a mesma dosagem do nematóide com ¼ da dose recomendada do inseticida Thiamethoxam. Cabe ressaltar que a dosagem de 2,4 JI/cm² equivale a 1×10^8 JI/ha (considerando-se a aplicação somente na faixa de 30 cm de cada lado da linha de plantio), constituindo-se, portanto, uma dosagem bastante baixa comparada às dosagens de outros nematóides entomopatogênicos usados no controle de insetos do gênero *Sphenophorus* (SMITH, 1994).

2.3. Nematóides Entomopatogênicos

Os nematóides de insetos atacam centenas de espécies da maioria das Ordens da Classe Insecta e afetam o comportamento do hospedeiro de diferentes maneiras.

2.3.1. *Biologia*

Nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* são organismos de solo, sendo encontrados em diversas regiões do mundo (HOMINICK, 2002). No solo, esses nematóides são encontrados atacando insetos ou fora do hospedeiro, na forma de juvenil infectivo de terceiro estágio. Nessa forma o nematóide não se alimenta e permanece na busca por novos hospedeiros para causar infecção, podendo resistir por um bom tempo às ações do intemperismo (GLAZER, 2002).

O juvenil de terceiro estágio (infectivos) dos nematóides *Steinernema* e *Heterorhabditis* não se alimenta e carrega suas bactérias mutualísticas específicas nos seus intestinos. Os juvenis infectivos (JI) entram em seus insetos hospedeiros através das aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e penetram na hemocèle. Os juvenis infectivos de *Heterorhabditis* podem penetrar também diretamente pelo tegumento. Dentro da hemocèle, os juvenis liberam células da bactéria que se propagam e matam o hospedeiro em 48 horas. Os nematóides se alimentam da bactéria e tecido hospedeiro, se reproduzem em 2 a 3 gerações e emergem dos cadáveres como juvenis infectivos à procura de novos hospedeiros (FERRAZ, 1998).

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

2.3.2. Sobrevivência e Persistência

Nematóides entomopatogênicos são extremamente dependentes da quantidade de lipídios armazenada no seu organismo e da umidade e temperatura para sobreviverem no solo (PATEL & WRIGHT, 1997; GLAZER, 2002). Essa capacidade de sobrevivência em diferentes temperaturas tem sido avaliada em diversos estudos, procurando selecionar isolados que permitam estarem adaptados as adversidades de cada região.

Cada espécie e até mesmo isolados da mesma espécie reagem diferentemente às variações de temperatura e umidade. Desse modo, a avaliação de nematóides se faz necessária com o objetivo de descobrir novos isolados que sejam mais eficientes para uso nos programas de controle biológico de pragas. Estudos de formulação e técnicas de aplicação tentam amenizar os efeitos do clima. Essas formulações permitem maior persistência dos nematóides no ambiente, garantindo melhores resultados no controle de pragas. Também o cuidado na aplicação pode ser um fator essencial para garantir o sucesso desses agentes a níveis de controle de uma determinada praga (GEORGIS, 1990).

Cabe ressaltar, que muitos fatores podem interferir na reciclagem e manutenção desses agentes no campo. McCoy *et al.* (2000) demonstraram que até mesmo as formigas podem interferir nesta reciclagem, capturando insetos infectados pelos nematóides e interrompendo sua reprodução nos cadáveres. Por outro lado, a possibilidade dos nematóides infectarem mais de um estágio de desenvolvimento de uma mesma espécie pode provocar um aumento na quantidade de inóculo no campo, acarretando muitas vezes um controle maior do que o esperado (LOYA & HOWER JR., 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental do Instituto Biológico, Campinas (SP). Todos os isolados avaliados são pertencentes à Coleção de Nematóides Entomopatogênicos depositado no Banco de Entomopatógenos "Oldemar Cardim Abreu" do Instituto Biológico.

3.1. Obtenção de *Sphenophorus levis*

Os adultos de *S. levis* foram obtidos a partir de coletas em cultivo de cana-de-açúcar na Usina Maluf, Santo Antônio de Posse (SP). Para a capturados insetos foram utilizadas armadilhas atrativas elaboradas com toletes de cana de 30 cm, cortados transversalmente e colocados com a face interna sobre o solo ao lado da linha da cultura (FIGURA 2). Os insetos coletados foram mantidos em recipientes plásticos (30 cm de largura, 60 cm de comprimento e 30 cm de altura) com a tampa furada e vedada com pano de "filó", sendo alimentados com pedaços de cana-de-açúcar.



FIGURA 2. Isca atrativa para captura de adultos do bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis*.

3.2. Multiplicação dos Nematóides Entomopatogênicos

Para os ensaios realizados em laboratório, os nematóides foram obtidos a partir de produção *in vivo*, usando-se larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), mais conhecidas como "traça dos favos", do 3º ao 5º instar. Esses insetos foram mantidos em dieta artificial à base de soja e cera de abelha, à temperatura de 32º C, umidade relativa ambiente e fotoperíodo de 12 horas. Para os experimentos em campo, os nematóides utilizados foram produzidos *in vitro*, segundo metodologia de Bedding (1984) adaptada (FIGURA 3).

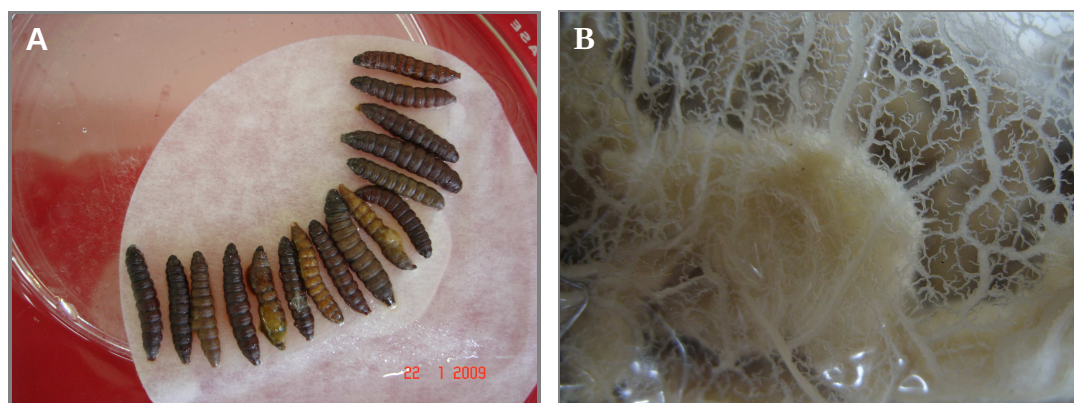


FIGURA 3. Multiplicação de nematóides entomopatogênicos *in vivo* (A) e *in vitro* (B).

3.3. Avaliação de novos isolados de nematóides entomopatogênicos contra adultos de *S. levis*

3.3.1. Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de adultos de *Sphenophorus levis*, em condições de laboratório

Foram avaliados 17 isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* provenientes de diversos hospedeiros e diferentes regiões geográficas, escolhidos quanto à origem relacionada à praga ou disponibilidade de material biológico na Coleção de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, Instituto Biológico (TABELA 1).

TABELA 1. Isolados de nematóides entomopatogênicos com suas respectivas procedências, depositados na Coleção de Entomopatógenos “Oldemar Cardim Abreu”, Instituto Biológico.

Isolado	Nematóide	Origem	Procedência
IBCB n1	<i>Steinernema glaseri</i>	ovo de <i>Migdolus</i>	Araras - SP
IBCB n2	<i>Steinernema carpocapsae</i>	Solo	Flórida - EUA
IBCB n5	<i>Heterorhabditis indica</i>	Solo - Citrus	Itapetininga - SP
IBCB n6	<i>Steinernema</i> sp.	Solo - Mata	Porto Murinho - MG
IBCB n8	<i>Steinernema</i> sp.	Solo - Citros	Itapetininga -SP
IBCB n9	<i>Steinernema</i> sp.	Solo - Mata	Porto Murinho - MG
IBCB n10	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Solo - Manga	Santa Fé do Sul - SP
IBCB n13	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Solo - Seringal	Pindorama - SP
IBCB n15	<i>Steinernema</i> sp.	Solo - Mata	Teodoro Sampaio - SP
IBCB n24	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Larva <i>Sphenophrus levis</i>	Piracicaba - SP
IBCB n25	<i>Steinernema</i> sp.	Solo - Mata	Mogi-Guaçu - SP
IBCB n26	<i>Steinernema</i> sp.	Solo - Mata	Mogi-Guaçu - SP
IBCB n31	<i>Steinernema</i> sp.	<i>Scaptocoris castanea</i>	Naviraí - MS
IBCB n33	<i>Heterorhabditis</i> sp.	<i>Scaptocoris castanea</i>	Naviraí - MS
IBCB n36	<i>Steinernema</i> sp.	<i>Scaptocoris castanea</i>	Naviraí - MS
IBCB n40	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Solo	Tabapuã - SP
IBCB n44	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Solo - Cana	Santa Adélia - SP

Foram consideradas sete repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por cinco insetos agrupados em um pote plástico (15 cm de diâmetro) contendo um pedaço de colmo de cana-de-açúcar coberto com 500 g de solo (10% de umidade), totalizando 35 insetos por tratamento. Os isolados foram aplicados em suspensão aquosa, com o auxílio de uma pipeta, na dosagem de 12 JI/cm². Os potes foram mantidos em sala fitotrom com temperatura de 25°C. As avaliações foram realizadas doze dias após a aplicação, contando o número de insetos vivos e mortos (FIGURA 4).



FIGURA 4. Potes plásticos contendo solo arenoso e colmo de cana-de-açúcar (A) utilizados para realização do ensaio em laboratório (B), mantidos em sala climatizada (C).

Os insetos mortos foram transferidos para armadilhas de “White” para confirmar a infecção pelos nematóides, utilizando-se como parâmetro a emergência de juvenis infectivos (FIGURA 5).



FIGURA 5. Armadilha de “White” constituída de placa de petri com uma lâmina de água e disco de papel filtro umedecido.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando o software SPSS 10.0.

3.3.2. Avaliação de três dosagens dos melhores isolados contra *S. levis*, em condições de laboratório

A partir dos resultados obtidos, os isolados com melhor desempenho foram avaliados em três dosagens cada um: 3 JI/cm², a dosagem de 12 JI/cm² utilizada anteriormente e 60 JI/cm². O ensaio foi elaborado utilizando-se a mesma metodologia do experimento anterior.

3.4. Eficiência do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 em comparação com o fungo *Beauveria bassiana*, isolados IBCB 66 e IBCB 616, contra *Sphenophorus levis*

O experimento foi instalado no dia 21 de janeiro de 2008, em lavoura de cana-de-açúcar colhida com queima, variedade IAC91-1099, espaçamento de 1,5 m, pertencente à Usina Costa Pinto do Grupo COSAN, quando a cultura encontrava-se no 3º corte, estando com 80 cm de altura média. O nematóide utilizado foi o *Steinernema* sp., isolado IBCBn 06, escolhido para os ensaios de campo devido a boa virulência contra esse inseto e a produção *in vitro* já existente no Laboratório de Controle Biológico. Foram avaliados dois isolados do fungo *Beauveria bassiana*: IBCB 66 com hospedeiro original *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), e IBCB 616 fornecido pela Usina Iracema (Iracemápolis-SP) e utilizado no controle do bicudo da cana-de-açúcar. Os isolados de *B. bassiana* foram produzidos pelo processo tradicional usando arroz pré-cozido. Amostras do nematóide e dos isolados do fungo foram analisadas previamente à aplicação, tendo apresentado mais de 90% de viabilidade dos juvenis infectivos (nematóide) e dos conídios (fungo).

Foram considerados quatro tratamentos, quais sejam:

- 1) *Steinernema* sp. IBCB-n6
- 2) Testemunha
- 3) *B. bassiana* IBCB 66
- 4) *B. bassiana* IBCB 616

Para cada tratamento foram consideradas cinco repetições, sendo cada repetição representada por uma parcela contendo quatro linhas de cana com 10 m de comprimento. O experimento foi distribuído em blocos ao acaso, com espaçamento de 5 m entre parcelas e três linhas entre blocos (FIGURA 6).

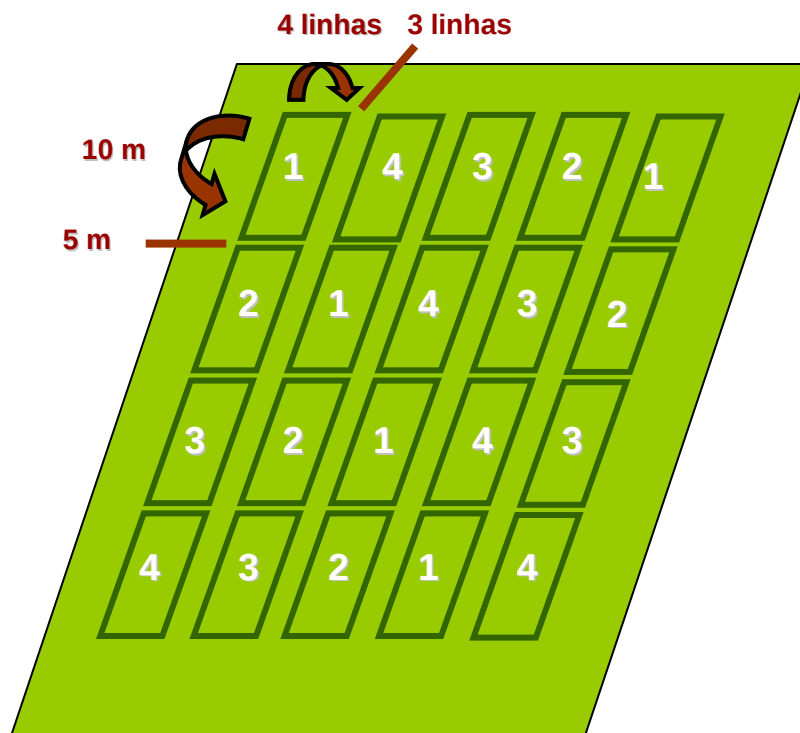


FIGURA 6. Delineamento experimental utilizado para o ensaio de campo realizado na Usina Costa Pinto.

O nematóide foi aplicado na dose de 2×10^8 juvenis infectivos (JI)/ha com o auxílio de um pulverizador costal, usando bico tipo jato e vazão de 3 L/parcela (500 L/ha), sendo o jato dirigido para dentro da faixa de 15 cm de cada lado das linhas da cultura (4,5 m).

Os fungos foram aplicados na dose de 10 Kg de arroz + fungo/ha, dosagem recomendada para controle da cigarrinha da cana-de-açúcar *Mahanarva* spp., tendo sido distribuídos manualmente ao lado das linhas de cana.

Visando avaliar a eficiência dos agentes de controle contra adultos do *Sphenophorus levis*, no dia anterior à aplicação dos patógenos, adultos do inseto foram enterrados nas parcelas procurando simular o comportamento natural do inseto (PRECETTI; ARRIGONI 1990) e expô-los ao solo a ser tratado. Para tanto, foram usados 30 insetos por repetição (parcela), sendo cada cinco insetos agrupados dentro de um envelope (10 X 15 cm) preparado com tela de plástico (malha 9 fios/cm), juntamente com cerca de 200 g de solo da parcela (FIGURA 7).

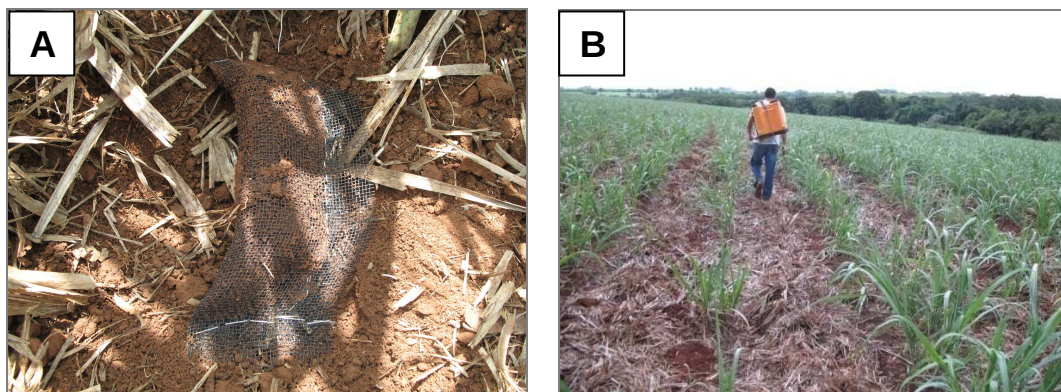


FIGURA 7. Envelope de tela contendo 5 adultos de *Sphenophorus levis* e cerca de 200 g de solo (A), enterrados previamente a aplicação (B).

Os envelopes foram grampeados nas laterais para evitar a fuga dos insetos, e enterrados a 5 cm de profundidade, na faixa de 20 cm ao lado de cada uma das duas linhas centrais da parcela, sendo, portanto 3 envelopes para cada linha, distanciados de 2 m um do outro. Quinze dias após o enterrio dos insetos (14 dias após a aplicação), foi avaliada a mortalidade dos adultos. Para isso os envelopes foram desenterrados e transportados ao laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, em Campinas (SP), em seguida abertos para a avaliação. Também foi avaliada a mortalidade por fungo, caracterizada pela mumificação do cadáver.

Na colheita da cana (13/10/08), foi avaliada também a produção de cana (ton./ha) e a porcentagem de rizomas atacados pelo bicudo em cada parcela. A cana de cada parcela foi colhida sem o uso do fogo e seu peso determinado com auxílio de um dinamômetro acoplado a trator. Posteriormente ao corte, foi aberta, em cada uma das duas linhas centrais da parcela, uma trincheira (0,5 m largura × 0,5 m de comprimento × 0,3 m de profundidade), arrancando-se touceiras ali existentes para examinar os eventuais danos nos rizomas. Para determinar o percentual de dano, foram contadas as canas existentes nas três amostras e aquelas que apresentavam sintomas do ataque do inseto, sendo posteriormente calculada a porcentagem de canas danificadas pela praga na parcela.

Os dados de produção e dano foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando o software SPSS 10.0.

3.5. Persistência do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 em área de cana-de-açúcar com e sem cobertura de palha e benefícios no controle de *Sphenophorus levis*

O experimento foi instalado no dia 25 de dezembro de 2007 em lavoura de cana-de-açúcar colhida sem queima (cana crua), variedade SP 803280, espaçamento de 1,5 m, pertencente à Usina Maluf, quando a cultura encontrava-se no 3º corte, estando com 80 cm de altura média. O nematóide utilizado foi o *Steinernema* sp., isolado IBCB-n6, com mais de 90% de viabilidade dos juvenis infectivos.

Foram considerados 4 tratamentos, quais sejam:

- 1) Nematóide aplicado em área coberta com palha
- 2) Testemunha em área coberta com palha
- 3) Nematóide aplicado em área descoberta de palha
- 4) Testemunha em área descoberta de palha

Para cada tratamento foram consideradas cinco repetições, sendo cada repetição representada por uma parcela contendo cinco linhas de cana com 10 m de comprimento. O experimento foi distribuído em blocos ao acaso, com espaçamento de 5 m entre parcelas e três linhas entre blocos (FIGURA 8).

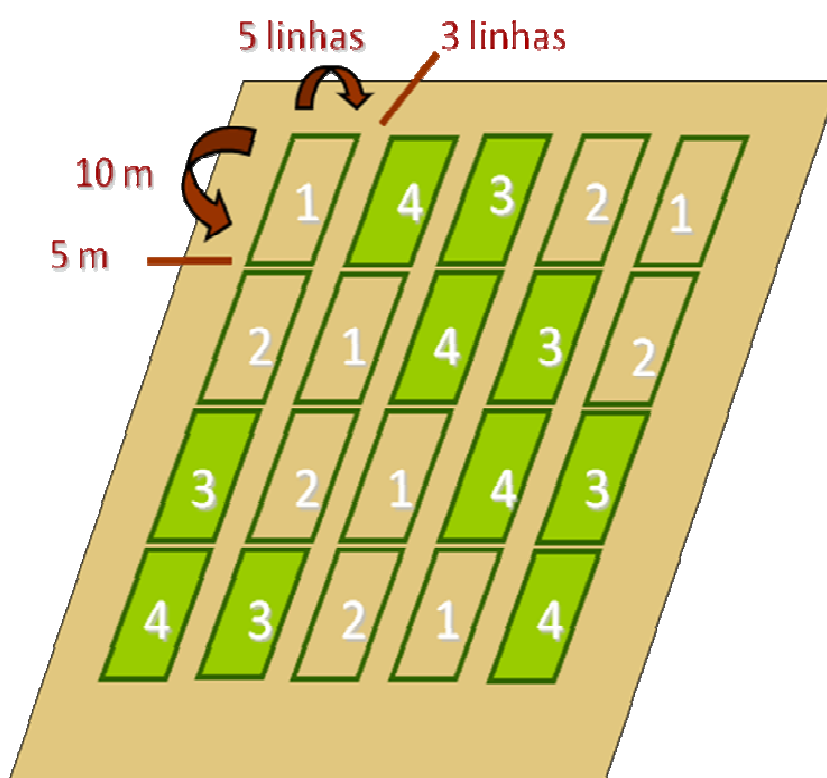


FIGURA 8. Delineamento experimental utilizado para o ensaio de campo realizado na Usina Maluf. Quadrículos em verde representam área descoberta de palha e quadrículos em marrom, áreas com palha.

O experimento foi instalado em uma área já coberta com palha, sendo que para os tratamentos com nematóide e testemunha descobertas de palha, a palhada foi previamente retirada com o auxílio de um gadanho.

O nematóide foi aplicado na dose de 2×10^8 JI/ha com o auxílio de um pulverizador costal, usando bico tipo jato (bico com apenas um furo) e vazão de 3 L/parcela (400 L/ha), dirigindo-se o jato para dentro da faixa de 15 cm de cada lado das linhas da cultura. Para o tratamento com nematóide em área coberta com palha, a palhada foi previamente retirada dentro da faixa de 20 cm de cada lado das linhas para permitir a aplicação do nematóide diretamente no solo. Após a aplicação, a palha foi espalhada novamente sobre a faixa tratada.

A persistência do nematóide no solo foi avaliada utilizando-se larvas da traça dos favos, *Galleria mellonella*, como iscas atrativas aos organismos. Para isso, de cada parcela foram retiradas, aleatoriamente, 3 amostras de solo, sendo cada amostra obtida lateralmente de cada uma das 3 linhas centrais da parcela, dentro da faixa de 20 cm ao lado da linha. De cada ponto amostrado, foi coletado 1 Kg de solo, sendo esta amostra acondicionada em um pote plástico (15 cm de diâmetro x 10 cm de profundidade) e em seguida transportada para o Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico, Campinas, SP. No laboratório, cinco larvas de *G. mellonella* obtidas de criação artificial, foram enterradas dentro do cada pote. Antes de enterrar, as larvas foram agrupadas dentro de um envelope feito de tela de metal (malha 30 fios/cm), com 10 x 6 cm, juntamente com 35 g de solo, visando facilitar a localização dos insetos na avaliação da mortalidade. Os envelopes foram grampeados nas laterais para evitar a fuga dos insetos, e enterrados a 5 cm de profundidade. Dentro de cada pote foi adicionado cerca de 100 mL de água, dependendo da umidade do solo, visando garantir condições adequadas para a atuação dos entomopatógenos.

Os potes foram acondicionados em sala com temperatura ajustada para 25°C e fotoperíodo de 12 horas, onde foram mantidos por 5 dias. Após esse período, os envelopes foram retirados e abertos visando à avaliação da mortalidade dos insetos pelos nematóides do gênero *Heterorhabditis* e *Steinernema*, por fungos entomopatogênicos e por outras causas.

Foram consideradas mortes por nematóides os insetos com corpo flácido, contendo vermes emergindo do cadáver. Foram diferenciadas as mortes por *Heterorhabditis* os cadáveres de coloração avermelhada. Foram consideradas mortes por fungos os cadáveres mumificados. As larvas mortas com o corpo flácido foram transferidas para armadilhas de White adaptadas visando confirmar a morte por nematóides entomopatogênicos e isolar esses agentes (FIGURA 9). Caso pertencesse ao gênero *Steinernema*, o nematóide isolado foi, então, submetido à técnica do “cross-breeding” (Kaya & Stock, 2002) visando confirmar se pertencia à mesma espécie do nematóide aplicado (*Steinernema* sp. IBCB n6).



FIGURA 9. Armadilha de White adaptada.

As avaliações das presenças de nematóides e fungos no solo foram realizadas com 14 (11/12/07) e 7 (18/12/07) dias antes da aplicação, e seguidamente, com 3 (28/12/07), 15 (9/1/08), 32 (26/1/08), 76 (10/3/08), 105 (8/4/08), 160 (2/6/08), 225 (6/8/08) e 278 (28/9/08), sendo essa última avaliação realizada na colheita da cana.

Na colheita da cana (28/9/08), foi avaliada também a produção de cana e a porcentagem de rizomas atacados pelo bicudo em cada parcela, utilizando a mesma metodologia descrita no *item 3.4.*

Os dados de produção e dano foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando o software SPSS 10.0.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação de novos isolados de nematóides entomopatogênicos contra adultos de *Sphenophorus levis*

4.1.1. Seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *S. levis*, em condições de laboratório

Todos os isolados avaliados foram patogênicos ao bicudo da cana-de-açúcar proporcionando mortalidade confirmada entre 2,8 e 45,0%, evidenciando diferenças quanto à virulência dos isolados (TABELAS 2 a 5).

TABELA 2. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas) – BLOCO 1.

ESPÉCIE	ISOLADO	MORTALIDADE	ERRO PADRÃO
-----	Testemunha	0 a	0
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n6	45,0 b	16,6
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n8	30,0 ab	12,2
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n9	15,0 ab	6,1
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n15	30,0 ab	9,3

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

TABELA 3. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas) – BLOCO 2.

ESPÉCIE	ISOLADO	MORTALIDADE	ERRO PADRÃO
-----	Testemunha	5,7 a	3,7
<i>H. indica</i>	IBCB n5	14,3 ab	5,7
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n13	20,0 ab	6,2
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n31	11,4 ab	5,9
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n33	17,1 ab	6,8
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	40,0 b	11,6

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

TABELA 4. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas) – BLOCO 3.

ESPÉCIE	ISOLADO	MORTALIDADE	ERRO PADRÃO
-----	Testemunha	0 a	0
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	20,0 b	4,0
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n25	11,4 ab	4,0
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n40	2,9 a	2,9

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

TABELA 5. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* causada por diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas) – BLOCO 4.

ESPÉCIE	ISOLADO	MORTALIDADE	ERRO PADRÃO
-----	Testemunha	2,9 a	2,9
<i>S. glaseri</i>	IBCB n1	17,1 ab	9,2
<i>S. carpocapsae</i>	IBCB n2	17,1 ab	2,9
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	31,4 b	7,4
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n26	14,3 ab	5,7
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n36	17,1 ab	5,2

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

Dentre os isolados avaliados, destacaram-se o *Steinernema* sp. IBCB n6 e os *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 e IBCB n44, que ocasionaram valores médios de mortalidade confirmada de 45, 31 e 40%, respectivamente. Por outro lado, o *Heterorhabditis* sp. IBCB n40 demonstrou ser pouco patogênico, visto que o percentual de mortalidade foi de apenas 2,9 %.

Com exceção ao IBCB n40, não houve diferença estatística entre os isolados testados, sendo selecionados para a segunda parte do experimento aqueles que diferiram de sua respectiva testemunha, sendo eles: IBCB n6 (F=2,659; P=0,063), IBCB n44 (F=2,561; P=0,033), IBCB n10 (F=7,500; P=0,001) e IBCB n24 (F=2,316; P=0,064).

Esses resultados demonstram a suscetibilidade dos adultos do curculionídeo aos nematóides entomopatogênicos. Em teste contra adultos do curculionídeo *Sitona hispidulus*, o nematóide *H. bacteriophora* proporcionou até 48% de mortalidade do inseto na dosagem de 100 JI/inseto (LOYA & HOWER JR., 2003).

Segundo Smith (1994), todos os estágios imaturos desses insetos também são susceptíveis aos nematóides entomopatogênicos. Tavares (2006) obteve até 85% de mortalidade corrigida de larvas de *S. levis* quando expostas à *H. indica*, na dosagem de 60 JI/cm², em condições de semi-campo.

De acordo com Machado *et al.* (2005), para larvas do coleóptero *Migdolus fryanus* (Coleoptera: Vesperidae) os nematóides *S. glaseri* e *H. indica* proporcionaram 47,86% e 76,57% de mortalidade média, respectivamente. Segundo o mesmo autor, foi observado nematóides *H. indica* infectando ovos deste inseto e proporcionando percentuais de inviabilidades de 53,33% e 60% nas concentrações de 60 e 600 JI/ ovo, respectivamente, porém não havendo reprodução dos nematóides nesta fase de desenvolvimento do inseto.

Apesar de avaliado um maior número de isolados pertencentes ao gênero *Steinernema* (10) se comparado com os *Heterorhabditis* (7), apenas um isolado de *Steinernema* foi selecionado. Essa menor patogenicidade do gênero *Steinernema* pode ser explicada com base no princípio de que a penetração dos steinernamatídeos se dá através dos orifícios naturais do inseto (espiráculos, boca e ânus) e que os JI deste nematóide são maiores que os heterorhabditídeos (GEDEN *et al.*, 1985).

Situação similar foi observada por Sepúlveda-Cano *et al.* (2008) em teste de patogenicidade de *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema carpocapsae* contra *Cosmopolites sordidus* e acrescentam o fato de somente os heterorhabditídeos possuírem a capacidade de penetrar não só pelas aberturas naturais, mas também pela cutícula do hospedeiro.

Esses resultados coincidem com os encontrados por alguns autores que registraram maior eficiência de heterorhabditídeos sobre coleopteros como *Otiorhynchus sulcatus*, *Sphenophorus pulvurus*, *Cylas formicarius* e outros insetos como *Manaharva fimbriolata* e *Frankiniella* sp. (BEDDING; MILLER, 1981; DORSCHNER *et al.*, 1989; CHYZIK *et al.* 1996; ROSALES; SUÁREZ 1998; LEITE *et al.* 2005).

4.1.2. Avaliação de três dosagens dos melhores isolados contra *S. levis*, em condições de laboratório

Todos os isolados testados nas três dosagens consideradas foram patogênicos ao adulto do bicudo da cana-de-açúcar, ocasionando mortalidade confirmada entre 8,6 e 74,3% (TABELA 6).

TABELA 6. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* causada por diferentes isolados e diferentes dosagens de nematóides entomopatogênicos, em laboratório ($T=25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

DOSAGEM	ESPÉCIE	ISOLADO	MORTALIDADE	ERRO PADRÃO
-----	-----	Testemunha	5,7 a	3,7
3 JI/cm ²	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n6	11,4 ab	8,6
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	8,6 ab	4,0
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	31,4 abc	9,6
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	37,1 abcd	10,2
12 JI/cm ²	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n6	8,6 ab	5,9
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	42,9 abcd	9,2
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	42,9 abcd	6,8
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	45,7 bcd	10,4
60 JI/cm ²	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n6	40,0 abcd	10,7
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	60,0 cd	6,2
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	74,3 d	11,3
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	65,7 cd	5,7

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

De maneira geral, observou-se uma resposta positiva na mortalidade dos insetos em função do aumento da dosagem, não havendo diferença estatística entre os diferentes isolados nas mesmas dosagens (FIGURA 10). Para o *Steinernema* sp. IBCB n6, não houve diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos avaliados, tendo este proporcionado níveis de mortalidade média dos insetos de 11,4, 8,6 e 40,0% para as dosagens de 3, 12 e 60 JI/cm², respectivamente. Já o isolado IBCB n10 de *Heterorhabditis* sp. proporcionou 8,6, 42,9 e 60,0% de mortalidade média nas três dosagens avaliadas, tendo o tratamento com 60 JI/cm² diferido estatisticamente da testemunha e do tratamento com a menor dose ($F=7,540$; $P<0,001$). O isolado IBCB n24, na maior dosagem, ocasionou 74, 3% de mortalidade, tendo este tratamento sido o que proporcionou maior mortalidade dentre todos os tratamentos avaliados e diferenciado significativamente da testemunha e da menor dosagem. Por outro lado, o isolado IBCB n44 foi o mais eficaz quando aplicado na dosagem de 3 JI/cm² proporcionando 37,1% de mortalidade do inseto, não diferindo estatisticamente das dosagens superiores.

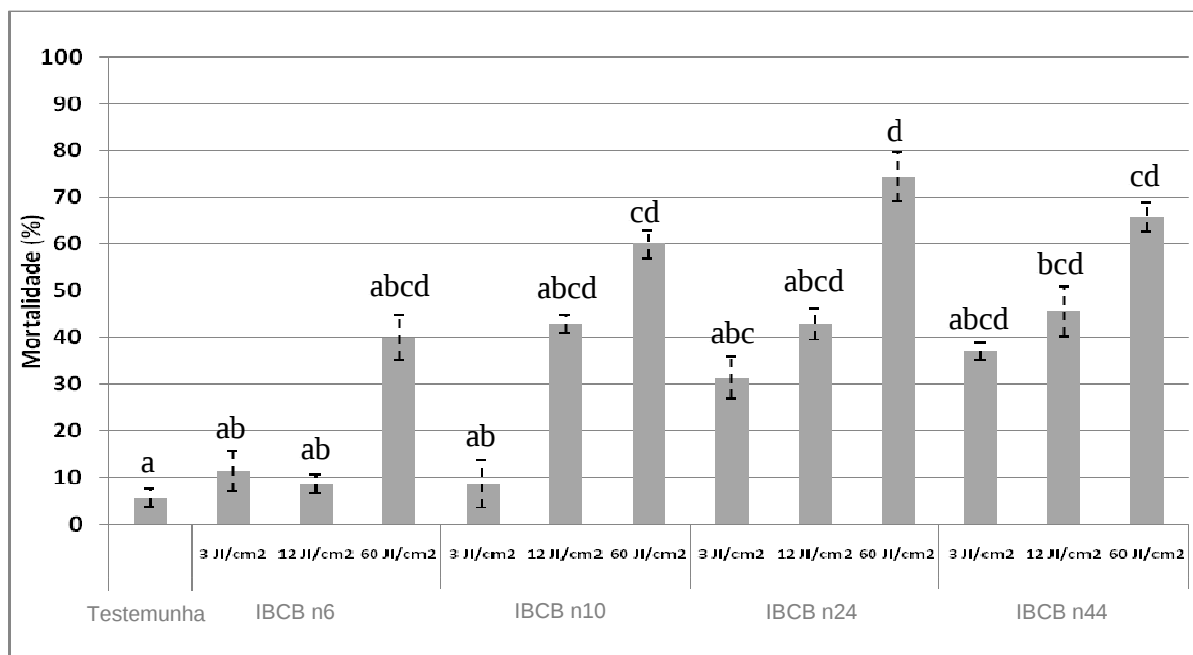


FIGURA 10. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* expostos a diferentes isolados de nematoides entomopatogênicos nas dosagens de 3, 12 e 60 JI/cm², em laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas) Barras = Erro Padrão.

Para o *Steinernema* sp., não houve um aumento de mortalidade de insetos com o aumento da dosagem de aplicação de 3 para 12 JI/cm², ocasionando 11,4% ± 8,6 e 8,6% ± 5,9, respectivamente. Resultado semelhante foi obtido por Tavares (2006) que não obteve aumento significativo de mortalidade de larvas de *S. levis* com a elevação da dosagem de aplicação do nematóide *Steinernema* sp. O autor justifica a pequena resposta na mortalidade do inseto ao fato do nematóide ser mais atraído para insetos previamente infectados pela mesma espécie. O pouco conhecimento da interação entre JIs e o hospedeiro dificulta a interpretação da dinâmica de infecção causada pelos nematoides entomopatogênicos (LEWIS *et al.*, 2002).

Esses resultados corroboram com Sepúlveda-Cano *et al.* (2008) que não obtiveram a relação esperada entre aumento de dosagem e taxas de mortalidade de *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryphthoridae) utilizando *H. Bacteriophora*, obtendo maior mortalidade moratalidade na dosagem de 100 JI/inseto do que na dosagem de 1000 JI/inseto.

4.2. Eficiência do nematóide entomopatogênico *Steinernema* sp. IBCBn 06 em comparação com o fungo *Beauveria bassiana*, isolados IBCB 66 e IBCB 616 , no controle do *Sphenophorus levis*

Foi obtido 63% de mortalidade de adultos do inseto no tratamento com nematóide quando o dados foram corrigidos pela fórmula de Abbott (FIGURA 11), tendo esse tratamento (IBCB n6) diferido significativamente dos demais quanto aos dados reais (F=2,75; GL=3; P=0,076) (TABELA 7).

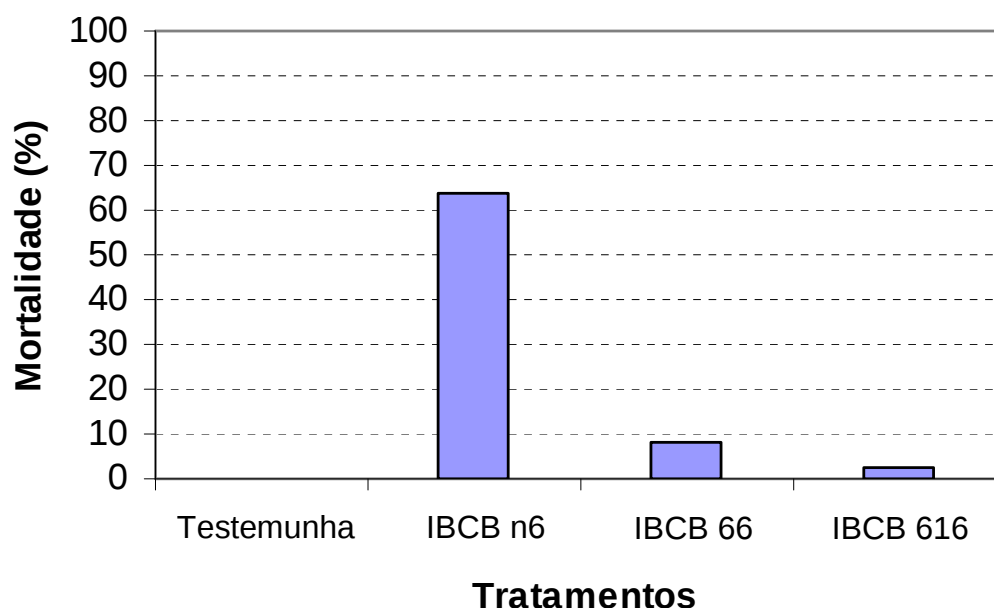


FIGURA 11. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* (corrigida pela fórmula de Abbott) em áreas de cana de açúcar tratadas com o nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 e com o fungo *Beauveria bassiana*, isolados IBCB 66 e IBCB 616. Piracicaba, SP 2008.

TABELA 7. Mortalidade total de adultos de *Sphenophorus levis* em áreas de cana de açúcar tratadas com o nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 e com o fungo *Beauveria bassiana*, isolados IBCB-66 e IBCB 616, Piracicaba (SP), 2008.

Tratamentos	Mortalidade $\pm$ erro padrão (%)*
Testemunha	47,3 $\pm$ 13,8 a
<i>Steinernema</i> sp. IBCB n6	80,9 $\pm$ 3,9 b
<i>B. bassiana</i> IBCB 66	51,5 $\pm$ 10,7 a
<i>B. bassiana</i> IBCB 616	48,7 $\pm$ 6,5 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).
Análise com dados transformados pela fórmula $\arcseno \sqrt{x/100}$.

Esse efeito comprovado do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 contra adultos do *S. levis*, explica os resultados satisfatórios obtidos em três testes de campo na dosagem de 1×10^8 JI/ha contra o bicudo da cana-de-açúcar, com ganhos na produção de até 17 toneladas (Leite *et al.*, 2006b).

As porcentagens de danos provocadas pelo inseto apresentaram-se muito próximas nos diferentes tratamentos, variando de 4,8% a 7,6%. Isso provavelmente explica a obtenção de rendimentos de cana também muito próximos nos diferentes tratamentos, variando de 117.333,2 Kg a 119.733,2 Kg (FIGURA 12).

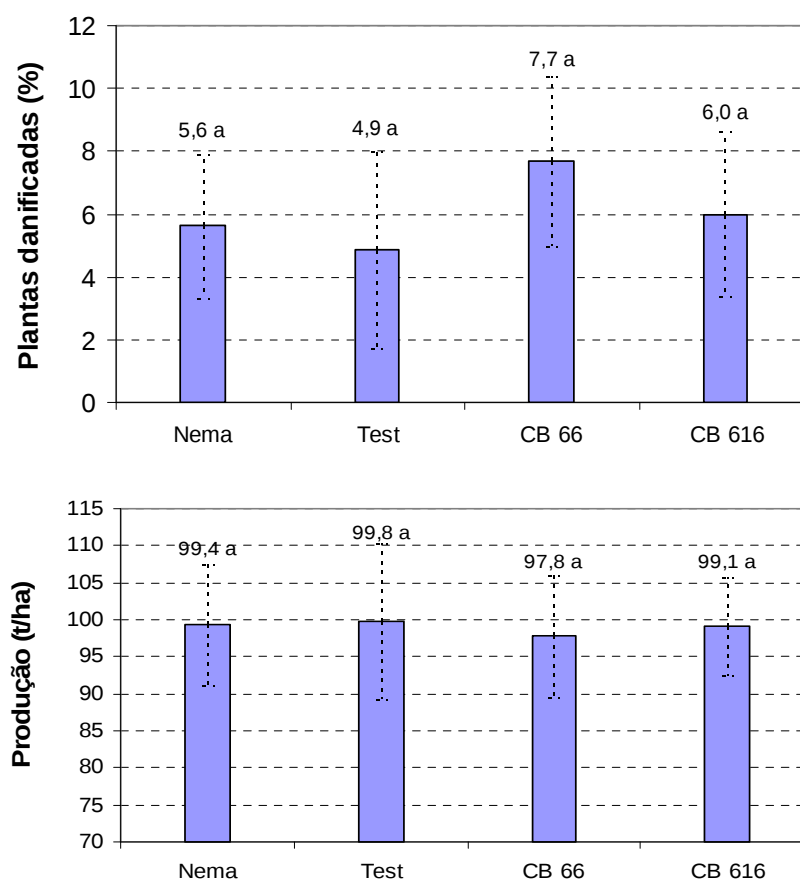


FIGURA 12. Porcentagem de plantas danificadas por *Sphenophorus levis* e produção em toneladas/ha. Nema = *Steinernema* sp. IBCB n6; Test = testemunha; CB 66 = *Beauveria bassiana* IBCB 66; CB 616 = *B. bassiana* IBCB 616. Barras = erro padrão. Usina Costa Pinto, Piracicaba, SP, safra 2008. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($F_{\text{Dano}} = 1,658$, $P_{\text{Dano}} = 0,175$) ($F_{\text{Prod.}} = 0,524$, $P_{\text{Prod.}} = 0,756$).

Essas porcentagens de dano podem ser consideradas baixas comparadas com outras verificadas em outros experimentos, tendo sido verificado até 25% de danos em teste de campo realizado por Tavares (2006), o qual resultou em perdas de 17 t comparado com o dano na testemunha. Esses baixos níveis de dano obtidos em nosso experimento pode ser devido, dentre outros fatores, às elevadas incidência de nematóides entomopatogênicos, especialmente do *Heterorhabditis* sp. nativo que pode estar contribuindo para o controle do bicudo.

Esse *Heterorhabditis* sp. nativo foi submetido a análise molecular juntamente com o *Heterorhabditis* sp. IBCB n24, tendo os testes identificados esses agentes como pertencentes à espécie *H. amazonensis*. O nematóide *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 foi selecionado nos bioensaios de laboratório como o mais virulento para adultos do *S. levis* o que pode ressaltar a importância do *Heterorhabditis* sp. nativo como agente controlador desse inseto no campo.

4.3. Persistência do nematóide *Steinernema* sp. IBCBn 06 em área de cana-de-açúcar com e sem cobertura de palha

Nas duas avaliações prévias, não foi constatada a presença de nematóides do gênero *Steinernema* na área experimental, sugerindo a inexistência desse gênero na região (Tabela 8 e Figura 13). Entretanto, foi constatada a presença de nematóides do gênero *Heterorhabditis*, porém em baixa densidade, acarretando menos de 16% de mortalidade de larvas de *G. mellonella* (Figura 14).

Após a sua aplicação, o nematóide *Steinernema* sp. se estabeleceu nas parcelas tratadas, acarretando 49,3% de mortalidade das larvas de *G. mellonella* 3 dias após a aplicação (DAA). Em seguida, houve uma redução gradativa na população desse nematóide nas parcelas tratadas, sendo reduzida aos 76 dias da aplicação para níveis que resultaram em 21,3% de mortalidade de *G. mellonella* no tratamento Nematóide-palha, e 28% no tratamento Nematóide-solo, sem haver entretanto diferença significativa desses níveis com aqueles obtidos 3 dias após aplicação.

Nos tratamentos testemunhas, o nematóide *Steinernema* sp. passou a ser encontrado somente a partir dos 76 dias da aplicação, ocorrendo em alta densidade na testemunha-palha com mortalidade de *G. mellonella* alcançando nível de 34%, sem diferir significativamente com relação a mortalidade nos tratamentos com nematóide, e significativamente superior à mortalidade obtida na testemunha-solo.

Após 76 dias da aplicação, houve uma queda na população do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 em quase todos os tratamentos, sendo reduzida para baixos níveis no período entre 2/6/08 (160 DAA) a 6/8/08 (225 DAA) quando a mortalidade de *G. mellonella* permaneceu abaixo de 2,7%.

Após 225 dias da aplicação, a população do nematóide voltou a crescer, resultando em até 9,3% de mortalidade de *G. mellonella* no tratamento testemunha-palha aos 278 dias da aplicação.

TABELA 8. Porcentagens de larvas de *Galleria mellonella* mortas por *Steinernema* sp. IBCB n6 nos tratamentos que receberam a aplicação desse nematóide, com (Nema-palha) e sem cobertura vegetal (Nema-solo), e nas respectivas testemunhas, com palha (Test-palha) e sem cobertura vegetal (Test-solo). Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008.

Tratamentos										
	11/12/07	18/12/07	28/12/07	09/01/08	26/01/08	10/03/08	08/04/08	02/06/08	06/08/08	28/09/08
	- 14	- 7	3	15	32	76	105	160	225	278
Test-palha	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	34,0 defg	6,7 abc	0,0 a	0,0 a	9,3 bcde
Nema-palha	0,0 a	0,0 a	49,3 h	45,3 gh	40,0 gh	21,3 fgh	14,7 cdef	1,3 ab	2,7 ab	9,3 abcd
Test-solo	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	4,7 abc	5,3 abc	1,3 ab	0,0 ab	4,0 abc
Nema-solo	0,0 a	0,0 a	49,3 h	40,0 gh	36,0 fgh	28,0 efgh	8,0 abcd	2,7 ab	1,3 ab	8,0 abcd

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($F_{\text{Dano}} = 1,323$, $P_{\text{Dano}} = 0,164$) ($F_{\text{Prod.}} = 0,502$, $P_{\text{Prod.}} = 0,730$).

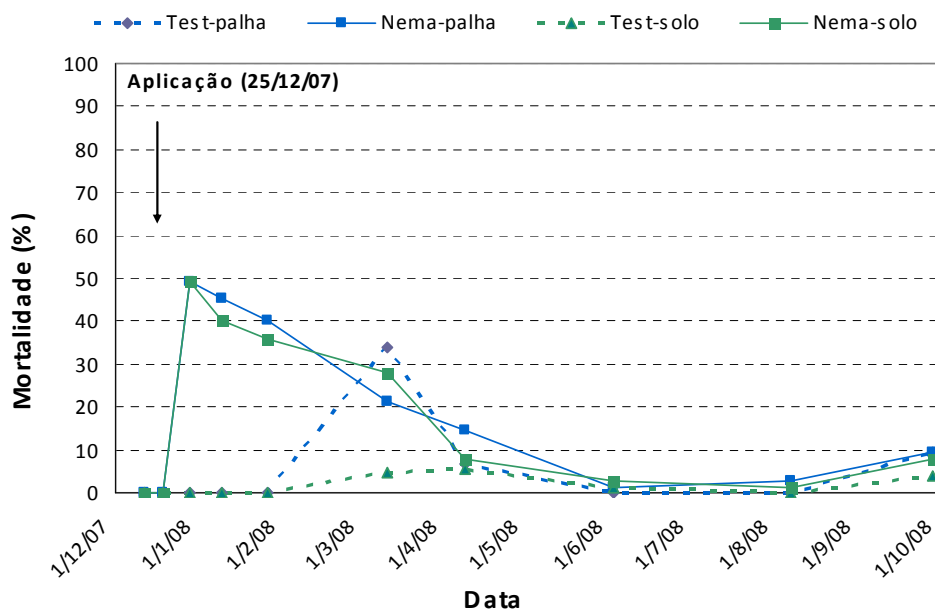


FIGURA 13. Porcentagem de larvas de *Galleria mellonella* mortas por *Steinernema* sp. IBCB n6 nos tratamentos que receberam a aplicação desse nematóide, com (—) e sem cobertura vegetal (—), e nas respectivas testemunhas, com palha (---) e sem a cobertura vegetal (---). Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008.

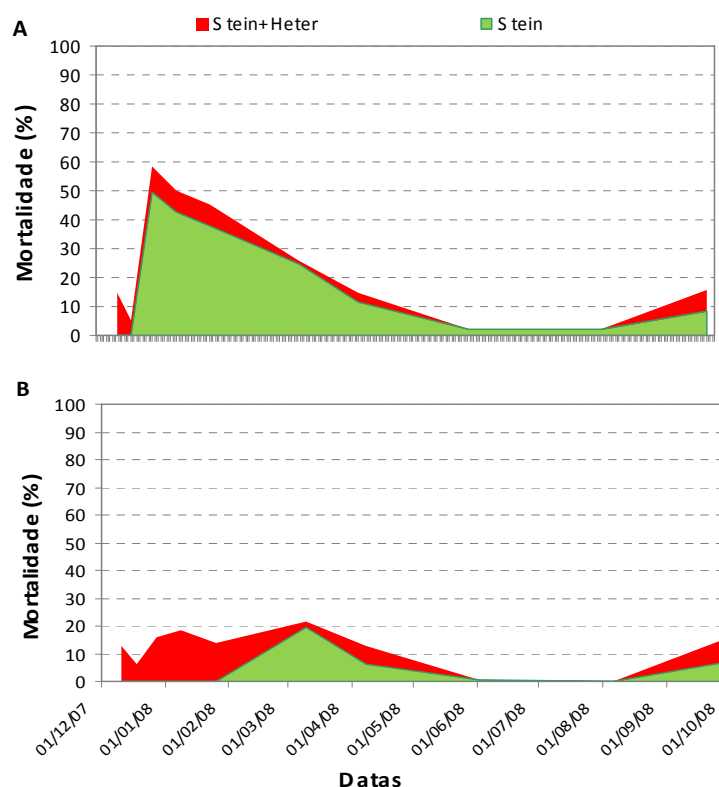


FIGURA 14. Porcentagens de larvas de *Galleria mellonella* mortas por *Steinernema* sp. IBCB n6 (—) e pelo *Heterorhabditis* sp. nativo somado ao *Steinernema* sp. IBCB n6 (—), obtidas da média dos tratamentos com e sem palha, mas que receberam a aplicação do *Steinernema* sp. IBCB n6 (A), e daqueles que não receberam a aplicação (testemunhas) (B). Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008.

O estudo demonstra sucesso no estabelecimento do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 em um campo de cana-de-açúcar onde o nematóide apresentava-se ausente, com mortalidade de larvas de *G. mellonella* de quase 50% três dias após aplicação da dose de 2×10^8 JI/ha. Diversos fatores podem ter contribuído para o estabelecimento do nematóide, incluindo a altura das plantas (80 cm) que proporcionou maior sombreamento do solo e menor exposição a radiação solar, a alta frequência de chuva que permitiu a manutenção da umidade no solo (Figura 15), além do solo que pode ser considerado ligeiramente arenoso (Argila = 23,8%, Silte = 22,8%, Areia total = 53,4%), favorável para a atuação de nematóides entomopatogênicos. Avaliando a persistência de *H. bacteriophora* em diferentes culturas, Susurluk e Ehlers (2008) verificaram uma correlação positiva entre o estabelecimento de *H. bacteriophora* em 4 diferentes culturas e a frequência de chuva na semana seguinte às aplicações do nematóide.

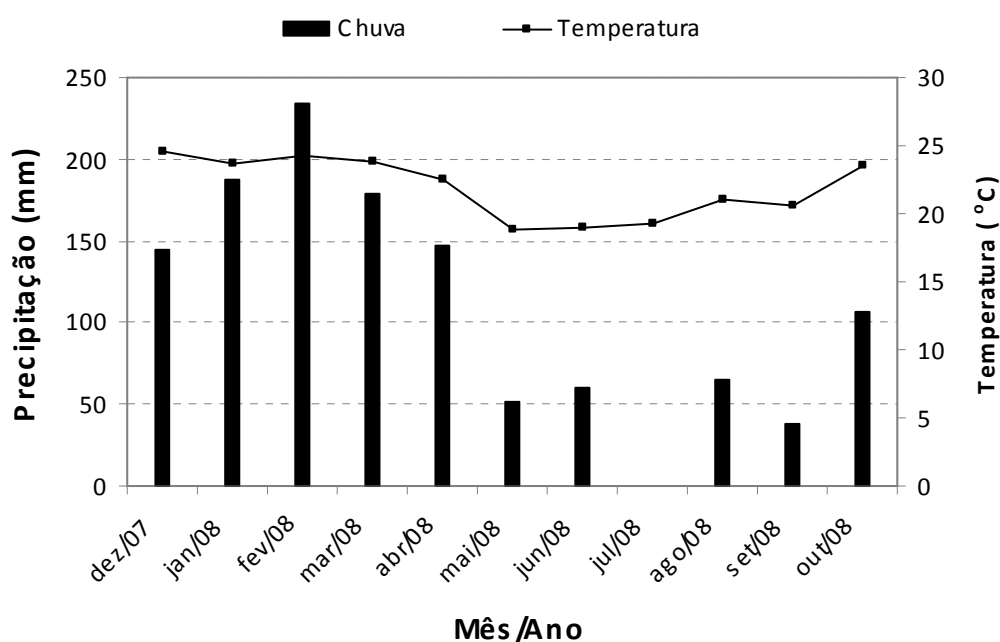


FIGURA 15. Dados climatológicos obtidos da Estação Experimental Santa Eliza do IAC, localizada a 40 km de distância do experimento na Usina Maluf.

Após o estabelecimento, houve uma queda lenta e gradativa na população do nematóide, não havendo efeito significativo da cobertura vegetal na preservação do nematóide. O efeito da cobertura vegetal na atuação de nematóides aplicados sobre a cobertura, em condições de campo, e na preservação a longo prazo do agente, tem sido pouco estudado e os resultados têm mostrado efeitos favoráveis ou neutros, sendo essas variações nos resultados provavelmente devidas a condições específicas de cada experimento.

O controle do gorgulho da videira, *Otiorhynchus sulcatus* foi avaliado em dois testes de campo pela aplicação do nematóide *H. marelatus* sobre a palhada e sobre o solo, retirando temporariamente a palhada, tendo o nematóide reduzido a população do inseto e o número de plantas atacadas, independentemente da remoção da cobertura vegetal (BEDDING & MILLER, 1981).

Avaliando o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de açúcar pela aplicação de *H. indica*, em diferentes dosagens, sobre a palhada cobrindo o solo, e sobre o solo, retirando temporariamente a cobertura vegetal, Leite *et al.* (2005) verificaram que a palhada não afeta a eficiência do nematóide, obtendo níveis de controle da população de ninfas no 12º dia após a aplicação, de 56 a 67% para o nematóide aplicado sobre a palhada, e 66 a 73% para o agente aplicado sobre o solo. Os autores ressaltam, entretanto, que o nematóide aplicado sobre a palhada foi favorecido por uma chuva ocorrida logo após a aplicação, a qual arrastou o agente e contribuiu para a sua deposição sobre o solo onde se encontravam os insetos. Ainda nesse mesmo estudo, foi avaliada a eficiência do nematóide por até 82 dias no campo, tendo-se verificado após esse período melhor resultado de controle de ninfas para o nematóide aplicado sobre a palhada (48 – 69%) do que sobre o solo (31 – 59%). Segundo os autores, a palhada pode ter retido parte da população do nematóide e oferecido condições favoráveis para o agente atuar sobre as ninfas localizadas na superfície do solo.

Susurluk & Ehlers (2008), avaliando o efeito da aplicação de *H. bacteriophora* sobre a parte aérea de 4 diferentes culturas anuais, verificaram diminuição na deposição do nematóide sobre o solo conforme aumentou-se a cobertura vegetal das diferentes culturas. As culturas de pastagem e batata foram aquelas que apresentaram menor interferência na deposição dos juvenis infectivos, com 77 e 78% dos nematóides alcançando o solo, respectivamente. As culturas de colza e lupino permitiram deposição no solo de apenas 5% e 6%, respectivamente, porém o nematóide se estabeleceu em todas as áreas tratadas, independentemente do número de nematóides depositados. Segundo os autores, juvenis infectivos provavelmente sobreviveram na cobertura vegetal e alcançaram o solo após algum tempo da aplicação. A porcentagem de amostras de solo com a presença do nematóide caiu consideravelmente após a reforma das culturas.

Testes de campo realizados por Brust (1991) demonstraram que o sistema de plantio direto e a presença de plantas daninhas permitiram um aumento significativo na infecção de larvas de *G. mellonella* por *H. heliothidis*. Shapiro-Ilan *et al.* (2002) também verificaram maior persistência do nematóide *Steinernema carpocapsae* em solos com cobertura vegetal, ressaltando a importância de sistemas de plantio direto na manutenção de populações de nematóides entomopatogênicos. Segundo Kaya &

Gaugler (1993), sistemas de plantio direto favorecem a persistência de nematóides entomopatogênicos por permitir um aumento no número de insetos hospedeiros e por proporcionar condições favoráveis para a reciclagem dos nematóides nesses hospedeiros.

Por outro lado, Sweeney *et al.* (1998) verificaram pequeno efeito de diversos tipos de coberturas vegetais, como turfa, casca de árvore e feno, na persistência em solo de *Steinernema* spp. e na eficiência desses nematóides para o controle de *Strobilomyia neanthracina* Michelsen.

Avaliando as ocorrências endêmicas de *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* em solos cultivados com milho sob sistema de plantio-direto e plantio convencional em região da Carolina do Norte, Millar & Barbercheck (2002) não constataram correlação significativa entre as populações dos nematóides e o teor de matéria orgânica, pH e textura do solo. Em estudos de campo nos quais as características de solos têm sido relacionadas com a incidência de nematóides, a textura do solo parece não ser o principal fator limitante para a ocorrência da maioria desses organismos. No entanto, são ainda poucos trabalhos de campo na literatura que avaliam o efeito da textura e menos ainda que avaliam a estrutura. Entre os nematóides entomopatogênicos, os Steinernematídeos parecem ser menos afetados pelo tipo de solo do que os Heterorhabdtídeos (HOMINICK, 2002).

Em nosso experimento, apesar da redução na densidade do *Steinernema* sp. IBCB n6, ainda assim ele permaneceu como o nematóide entomopatogênico predominante na área com base na mortalidade de *G. mellonella*, destacando-se em relação ao nematóide *Heterorhabditis* nativo ao longo de todas as avaliações, exceto na avaliação prévia, quando o *Steinernema* sp. ainda encontrava-se ausente.

A população do nematóide foi reduzida lentamente ao longo das avaliações, sendo que, até o 76º dia após a aplicação, não diferenciou significativamente da população inicial (aos 3 dias da aplicação) com base na mortalidade de *G. mellonella*. Isso sugere que o nematóide pode persistir por pelo menos dois meses em nível populacional que pode contribuir para o controle do bicudo da cana-de-açúcar.

Aos 76 dias da aplicação, verificou-se a presença do nematóide também nos tratamentos testemunhas, principalmente na testemunha com palha, cujas parcelas distanciavam em 4,5 e 5 m de distância das parcelas vizinhas que tinham sido tratadas com o agente. Isso indica que o nematóide disseminou-se em toda a área experimental, alcançando distâncias de pelo menos 5 m em 76 dias, o que equivale a pelo menos 1 m a cada 15 dias. Segundo Weischer & Brown (2001), certas espécies chegam a mover-se ativamente por 3 a 6 metros, em aproximadamente dois meses, o que estaria muito próximo dos valores obtidos no presente estudo.

Não foram avaliadas as formas de disseminação do nematóide no presente estudo, porém, supõe-se ter contribuído para isso o auto deslocamento do agente, a locomoção de insetos infectados/contaminados e, principalmente, as fortes chuvas e as conseqüentes enxurradas formadas no terreno ligeiramente inclinado, as quais arrastaram o nematóide para as parcelas testemunha.

Ainda aos 76 dias da aplicação, a maior população de *Steinernema* sp. IBCB n6 na testemunha-palha compara a testemunha-solo, com diferença significativa, deve-se provavelmente a maior adequabilidade das parcelas com palha para reter a água da enxurrada contendo o nematóide, podendo a cobertura vegetal contribuir ainda para a preservação da umidade por mais tempo no solo.

A baixa população do nematóide no período entre 2/6/09 (160 DAA) a 6/8/09 (225 DAA) deve-se a baixa precipitação pluviométrica que ocorre nos meses de junho e julho conforme mostra a Figura 15, tendo a população apresentado um ligeiro aumento em seguida possibilitado pelas primeiras chuvas que marcam o início do período chuvoso. Avaliando a incidência de nematóides entomopatogênicos em solo na Espanha, Garcia del Pino & Palomo (1996) concluíram que a umidade do solo e o regime de temperatura foram mais importantes que outros fatores na determinação da prevalência de nematóides entomopatogênicos.

Esse estudo demonstra que o nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 pode se estabelecer e persistir em área comercial de cana-de-açúcar, sobrevivendo inclusive no período desfavorável do ano, de menor precipitação pluviométrica, visto que o nematóide foi detectado causando maior mortalidade de *G. mellonella* na última avaliação, após o termino do período crítico. De acordo com Weischer & Brown (2001), nematóides entomopatogênicos em geral podem sobreviver no solo por até cerca de 3 anos, migrando ativamente à procura de insetos hospedeiros.

Na avaliação final realizada na colheita da cana-de-açúcar, não foi constatado diferença significativa entre os tratamentos no que se refere aos danos provocados pelo bicudo da cana e a produção de cana (Figura 16). Entretanto, fica evidente a correlação existente entre os níveis de danos provocados pelo inseto e a produção de cana, tendo os tratamentos com o nematóide proporcionado os menores índices de dano e maiores produções quando comparados com as respectivas testemunhas em cada uma das condições com palha e sem palha.

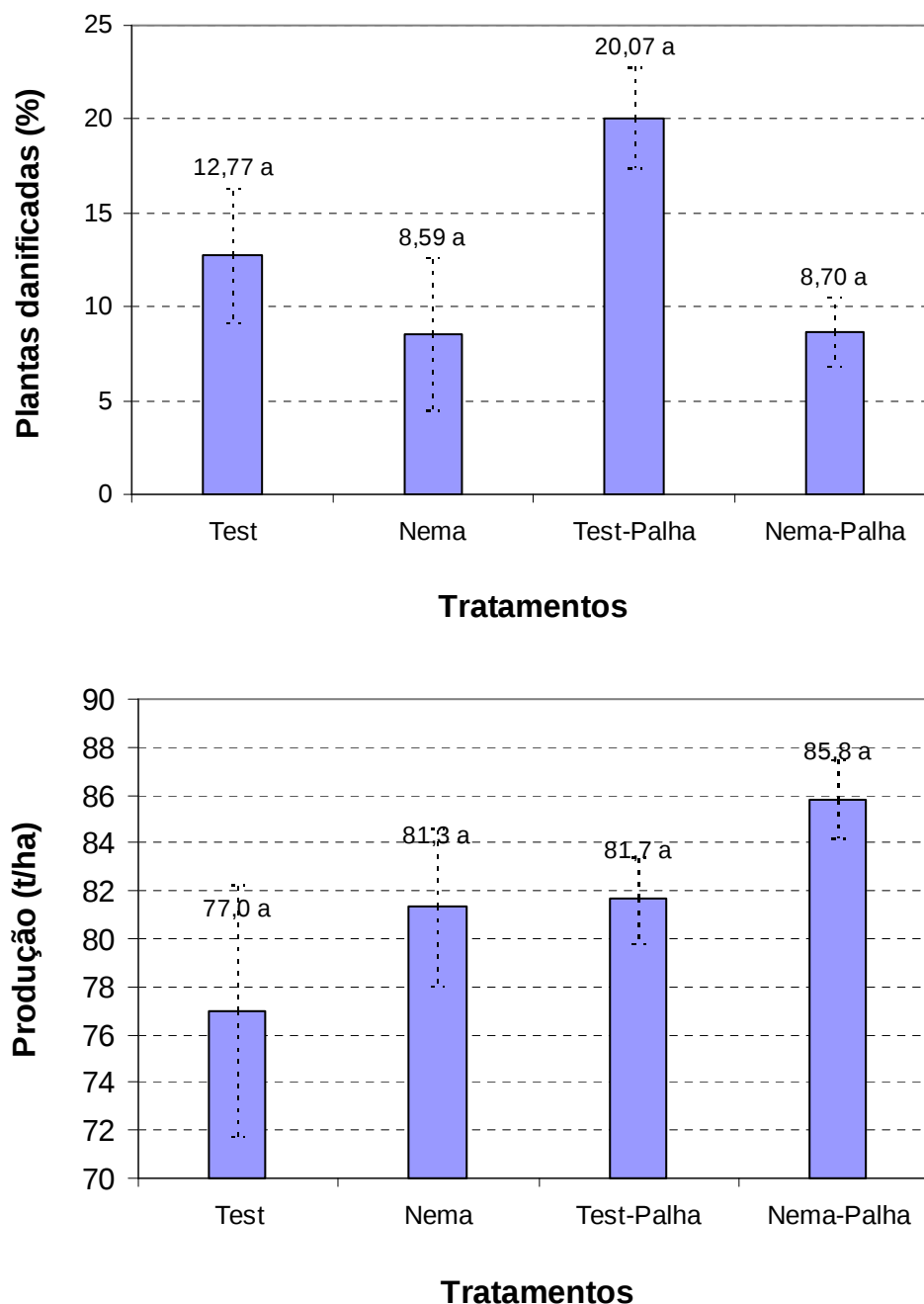


FIGURA 16. Porcentagem de plantas danificadas por *Sphenophorus levis* e produção em toneladas/ha. Test = testemunha sem cobertura vegetal; Nema = *Steinernema* sp. IBCB n6 sem cobertura vegetal; Test-Palha = testemunha + cobertura vegetal; Nema-Palha = *Steinernema* sp. IBCB n6 + cobertura vegetal. Barras = erro padrão. Usina Maluf, Santo Antonio de Posse, SP, safra 2008. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($F_{\text{Dano}} = 1,323$, $P_{\text{Dano}} = 0,164$) ($F_{\text{Prod.}} = 0,502$, $P_{\text{Prod.}} = 0,730$).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto aos danos nos rizomas e produção de cana, entretanto, houve uma correlação entre os dois parâmetros avaliados, tendo o nematóide resultado nos menores índices de dano e, conseqüentemente, nos maiores rendimentos da cultura. Assim, o nematóide pode ter

contribuído para a proteção de 8% e 4% das touceiras nos tratamentos com e sem palha, respectivamente, e para um ganho na produção de cana de 4,1 e 4,3 toneladas acima das respectivas testemunhas.

Os maiores rendimentos de cana obtidos nos tratamentos com palha se devem, dentre outros fatores, ao efeito supressivo promovido pela cobertura vegetal na incidência de plantas daninhas, resultando em menor população de plantas competidoras nesses tratamentos comparados com aqueles sem palha, conforme foi também visualizado no experimento.

Em teste de campo realizado por Tavares (2006) contra *S. levis*, *Steinernema* sp. IBCB n6 proporcionou um ganho na produção de cana de 16 t/ha acima da testemunha (102 t/ha), apresentando-se como mais eficaz para o controle do bicudo comparado ao *H. indica* IBCB n5 com ganho de 10 t/ha. Segundo o autor, o maior ganho obtido com o *Steinernema* n. sp. pode ter sido resultante de maior proteção às plantas contra o ataque do bicudo promovido por esse nematóide já que o mesmo resultou em 21% de plantas atacadas e o *H. indica* em 25%. Além disso, o nematóide *Steinernema* sp. proporcionou, em testes de laboratório e casa de vegetação, 69,2% de mortalidade das larvas desse inseto e 23% dos adultos na concentração de 2,4 JI/cm², e o *H. indica*, 42,3% e 4%, respectivamente (TAVARES, 2006).

Nas condições do presente estudo, o ganho médio na produção proporcionado pelo *Steinernema* sp. IBCB n6 para os dois tratamentos com o nematóide foi de 4 t. sendo próximo aos ganhos proporcionados por inseticidas químicos em teste de campo realizado por Dinardo-Miranda *et al.* (2006) contra o bicudo da cana, os quais variaram de 2,5 a 11,8 t/ha.

O nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 foi selecionado por Tavares (2006) para o controle do bicudo da cana, tendo proporcionado, em teste de laboratório, mortalidade de adultos do inseto variando de 23% a 50% nas doses de 2,4 a 60 JI/inseto, respectivamente. Nesta dissertação foi selecionado o nematóide *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 como o mais virulento em teste de laboratório, tendo esse nematóide proporcionado 74,3% de mortalidade de adultos do inseto na dose de 60 JI/inseto, enquanto que o *Steinernema* sp. IBCB n6 proporcionou 40% de mortalidade. Portanto, testes futuros em campo devem ser realizados para avaliar a eficiência desse novo isolado de *Heterorhabditis* selecionado no laboratório.

5. CONCLUSÕES

- Todos os isolados avaliados foram patogênicos à adultos do bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis*;
- Os nematóides *Steinernema* sp. IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10, *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 e *Heterorhabditis* sp. IBCB n44 são os mais virulentos contra adultos de *S. levis*;
- O nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 promove maior mortalidade de adultos de *S. levis* comparado aos isolados de *Beauveria bassiana*, IBCB 66 e IBCB 616, nas condições do ensaio;
- O nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 sobrevive em campo de cana-de-açúcar por pelo menos 10 meses;
- A cobertura do solo com palha não afeta a sobrevivência do nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 em campo de cana-de-açúcar;
- Nematóides entomopatogênicos são uma alternativa promissora para o controle de *S. levis*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGE (Assessoria de Gestão Estratégica).

http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/PROJECOS_AGRONEGOCIO/PROJECOS%20AGRONEGOCIO%20MUNDIAL%20E%20BRASIL%202006-07%20A%202017-18.PDF. Acesso em 20 de dez. de 2007.

ALMEIDA, L. C. Bicudo da cana-de-açúcar. **Boletim Técnico C. T. C.**, Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, p. 1-3, 2005.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: Alves, S.B., (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ. p.289-381. 1998.

BADILLA, F. F.; ALVES, S. B. Controle do bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* (Vaurie, 1978) (Coleoptera: Curculionidae) com *Beauveria* spp em condições de laboratório e campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 20, n. 2, p. 250-263, ago. 1991.

BATISTA FILHO, A.; TAKADA, H.M.; CARVALHO, A. G. Brocas da bananeira. In: **Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**, v.8, p. 1-8, 2002.

BEEDING, R. A. Large scale production, storage and transport of the insect nematodes *Neoplactana* spp. and *Heterorhabditis* spp. **Annual Applied Biological**, v. 104, p. 117-120, 1984.

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

BRUST, G.E. Augmentation of an endemic entomogenous nematode by agroecosystem manipulation for control of a soil pest. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.36, p.175-184, 1991.

CHYZIK, R.; GLAZER, I.; KLEIN, M. Virulence and efficacy of different entomopathogenic nematode species against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). **Phytoparasitica**, v. 24, p. 103-110, 1996.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento).

<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/cana.pdf>. Acesso em 01 de set. de 2008.

DEGASPARI, N.; BOTELHO, P. S. M.; ALMEIDA, L. C.; CASTILHO, H. J. Biologia de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col.: Curculionidae), em dieta artificial e no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 6, p. 553-558, 1987.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematóides e pragas de solo em cana-de-açúcar. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, Potafos, n.110, p.25-32. 2005. (Encarte Técnico).

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; CABRAL, S. B.; VALÉRIO, W.; GONÇALVES, R. D.; BELTRAME, J. A. Eficiência de inseticidas aplicados em soqueiras de cana-de-açúcar no controle de *Sphenophorus levis*. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 24, n. 5, p. 34-37, maio/jun. 2006.

DORSCHNER, K. W.; AGUDELO-SILVA, F.; BAIRD, C. R. Use of heterorhabditid and steinernematid nematodes to control black vine weevils in hop. **Florida Entomologist** v. 72: p. 544-556, 1989.

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

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

GARCIA DEL PINO, F.; PALOMO, A. Natural occurrence of entomopatogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae: and Heterorhabditidae) in spanish soils. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 68, p. 84-90, 1996.

GEDEN, C.J.; AXTELL, R.C.; BROOKS, W.M. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *S. glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **Journal of Entomological Science**, v.20, p.331-339, 1985.

GEORGIS, R. Formulation and application technology. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Eds.). **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**. Florida: Boca Raton, p. 173-191, 1990.

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

GOULART, R. M.; BUSSOLA, R. A.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; MACHADO, L. A.; GINARTE, C. M. A.; BATISTA FILHO, A. Efeito da associação do nematóide *Steinernema* sp. (Nematoda: Steinernematidae) com thiamethoxam na mortalidade de *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado, **Programa e Resumos...** Gramado: 2004. p. 305.

GUTIERREZ, G. S. **Bioecologia de *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) e seu controle com *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.** 107 p. Dissertação de Mestrado. Piracicaba : ESALQ, 1986.

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

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

KAYA, H.K.; STOCK, P. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L.A. ed. **Manual of techniques in insect pathology**, Academic Press, San Diego, p. 282-324, 1997.

LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; GOULART, R. M.; TAVARES F. M.; BATISTA FILHO, A. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical Entomology**, v. 34 (5), p. 785-790, 2005.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; TAVARES, F. M.; GINARTE, C. M. A.; BOTELHO, P. S. M.; ALMEIDA, L. C.. Alternativa de controle. **Revista Cultivar**, p. 30 - 33, 01 mar. 2006a.

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; GINARTE, C.M.A.; CARREGARI, L.C.; BATISTA FILHO, A. Nematóides entomopatogênicos no controle de pragas. In: Pinto, A.S.; Nava, D. E.; Rossi, M.M.; Malerbo-Souza, D.T. (Org.) **Controle Biológico de Pragas na Prática**. CP 2, Piracicaba, p. 45-53, 2006b.

LEWIS, E. E.; BARBAROSA, B.; GAUGLER, R. Mating and sexual communication of *Steinernema carpocapsae* (Nemata: Steinernematidae). **Journal of Nematology**, v. 34, n. 4, p. 328-331, 2002.

LOYA, L. J.; HOWER JR, A. A. Infectivity and reproductive potencial of the Oswego strain of *Heterorhabditis bacteriophora* associated with life stages of the clover root curculio, *Sitona hispidulus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 83, p. 63-72, 2003.

MACHADO, L. A.; HABIB, M; LEITE, L. G.; CALEGARI, L. C; GOULART, R.M; TAVARES, F. M. Patogenicidade de nematóides 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, abr./jun., 2005.

MCCOY, C. W; SHAPIRO-ILAN, D. I.; DUNCAN, L.W.; NGUYE, K. Entomopathogenic nematodes and other natural enemies as mortality factors for larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Biological Control**, Orlando, v. 19, p. 182-190, 2000.

MILLAR, L.C.; BARBERCHECK, M.E. Effects of tillage practices on entomopathogenic nematodes in a corn agroecosystem. **Biol Control**. v. 25, p. 1-11, 2002.

PATEL, M. N.; WRIGHT, D. J. Fatty acid composition of neutral lipid energy eserves from infective juveniles of entomopathogenic nematodes. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 118B, p. 341-348, 1997.

PÉREZ, K. G. **Eficiencia de iscas tóxicas no controle de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. 2008. 69 f. Dissertação mestrado em Entomologia – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, 2008.

POLANCZYK, R. A.; ALMEIDA, L. C.; PADULLA, L.; ALVES, S. B. Praga de cana-de-açúcar x métodos alternativos de controle. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.33, p14-17, 2004

PRECETTI, A. A. C.; TERAN, F. O. Gorgulhos da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 e *Metamasius hemipterus* (L., 1765) (Col., Curculionidae). In: REUNIÃO TÉCNICA COPERSUCAR, 1983, Piracicaba, **Reunião Técnica Agronômica...** São Paulo: 1983. p. 32-37.

PRECETTI, A. A. C.; ARRIGONI, E. DE B. Aspectos bioecológicos e controle do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera, Curculionidae) em cana-de-açúcar. **Boletim Técnico COPERSUCAR**, Cooperativa de Produtores de Cana, Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo, São Paulo, p. 3-15, 1990.

ROSALES, L. C.; SUÁREZ, Z. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). **Boletín Entomología Venezolana** v.13 (2), p. 123- 140, 1998.

SEPULVEDA-CANO, P. A.; LOPEZ-NUÑEZ, J. C.; SOTO-GIRALDO, A. Effect of two entomopathogenic nematodes on *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryphthoridae). *Rev. Colomb. Entomol.*, v. 34, n. 1, p. 62-67, 2008.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; KOPPENHÖFER, A. M. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In: GAUGLER, R. (Ed). **Entomopathogenic Nematology**. Rutgers University: New Jersey, p. 333-355, 2002.

SMITH, K. A. Control of insect pests with entomopathogenic nematodes.1994. Disponível em: <<http://www.fftc.agnet.org/library/article/tb139a.html>>. Acesso em: 21 set. 2005, 10:31:13.

SUSURLUK, A.; EHLERS, R. U. Field persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophaga* in different crop. **Biocontrol**. v. 53, p.627-641, 2008.

SWEENEY, J.; GESNER, G.; BENETT, R.; VRAIN, T. Effect of mulches on persistence of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* spp.) and infection of *Strobilomyia*

neanthracina (Diptera: Anthomyiidae) in field trials. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, p.1320-1330, 1998.

TAVARES, F. M. **Avaliação de nematóides entomopatogênicos contra o bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978, e efeito da associação desses agentes com inseticidas químicos**. 2006. 61 f. Dissertação mestrado em Ciências Agronômicas – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

TERAN, F. O.; PRECETTI, A. A. C. M.; HENRIQUE, B. C. Desenvolvimento de armadilhas específicas para *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10., 1986, Rio de Janeiro, **Resumos...** Rio de Janeiro: 1986. p. 361.

VAURIE, P. Revision of the genus *Sphenophorus* in South America. **American Museum Novitates**. New York, n. 2659, p. 1-30, Aug. 1978.

WEISCHER, B.; BROWN, D. J.F., **Conhecendo os nematóides: nematologia geral**. Sofia – Moscow, Pensoft, 2001.

WOODRUFF, R. E. The hunting billbug, *Sphenophorus venatus vestitus* Chittenden, in Florida (Coleoptera, Curculionidae). **Entomology Circular**, Florida Department of Agriculture, Florida, n. 45, p. 1-2, 1966.

ZARBIN, P.; ARRIGONI, E. D. B.; RECKZIEGEL, A.; MOREIRA, J.; BARALDI, P. T.; VIEIRA, P. T. Identification of male-specific chiral compound from the sugarcane weevil *Sphenophorus levis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 29, n. 2, p. 377-386, Feb. 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)