



Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos usados na cultura da cana-de-açúcar, e o efeito de misturas na mortalidade de *Sphenophorus levis*

Cauane Raema Antunes Gonçalves

**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto Biológico**

**Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no
Agronegócio**

Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios

Instituto Biológico

**Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no
Agronegócio**

**Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos
usados na cana-de-açúcar, e efeitos de misturas na mortalidade de *Sphenophorus
levis***

Cauane Raema Antunes Gonçalves

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre
em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no
Agronegócio.

São Paulo

2025

Cauane Raema Antunes Gonçalves

**Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos
usados na cana-de-açúcar, e efeitos de misturas na mortalidade de *Sphenophorus
levis***

Dissertação apresentada para a obtenção do título de
Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental
no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade
no Agroecossistema

Orientador: Professor Dr. Luís Garrigós Leite

**São Paulo
2025**

Eu, **Cauane Raema Antunes Gonçalves**, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico, de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico, repositório institucional ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte. Declaro também que os dados contidos nesta dissertação/ tese são inéditos e autênticos, portanto, sem fraudes e/ou derivações de plágio e que tenho pleno conhecimento do Código de Ética e dos Procedimentos referentes à proteção da integridade científica do Instituto Biológico.

Assinatura: _____ Data: / /

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Núcleo de Informação e Documentação – IB

Gonçalves, Cauane Raema Antunes.

Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos usados na cana-de-açúcar, e o efeito de misturas na mortalidade de *Sphenophorus levis*. / Cauane Raema Antunes Gonçalves. - Campinas, 2025.

88 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2025D.CG02

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

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos.

Orientador: Luis Garrigós Leite

Versão do título para o inglês: Compatibility of *Steinernema rarum* with chemical and biological products used in sugarcane, and effects of mixtures on the mortality of *Sphenophorus levis*.

1. *Steinernema rarum* 2. *Sphenophorus levis* 3. Bactérias 4. On Farm
 5. Compatibilidade 6. Manejo integrado de pragas I. Gonçalves, Cauane Raema Antunes II. Leite, Luis Garrigós III. Instituto Biológico (São Paulo)
 IV. Título.

IB/Bibl./2025/02

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Cauane Raema Antunes Gonçalves

Título: Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos usados na cana-de-açúcar, e efeitos de misturas na mortalidade de *Sphenophorus levis*.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em: __/__/__.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição:

Julgamento:

Assinatura:

Prof. Dr. _____ Instituição:

Julgamento:

Assinatura:

Prof. Dr. _____ Instituição:

Julgamento:

Assinatura:

DEDICATÓRIA

Aos meu pais, por tudo que fizeram e fazem por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela vida e suas aventuras, por me dar oportunidades de lutar pelos meus sonhos, por me dar desafios e vivências que me fazem crescer, fortalecer, amadurecer e lapidam quem eu sou;

O seguinte trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa durante o período de desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, pelo suporte, por sempre me apoiarem, me inspirarem, serem um exemplo de força de vontade, dedicação, caridade, integridade e ao meu irmão, por sempre estar presente e pelas risadas;

À minha vó, por todas as conversas acompanhadas de um café, por me abraçar e aos meus tios e toda minha família, cada um à sua maneira, por me apoiar;

À Jojo por me apoiar e me motivar, tornando a vida leve com seu jeito doce.

Às minhas melhores amigas Crystal, Vitória, Larissa e Júlia por me aceitarem e por sempre estarem ao meu lado;

Aos meus amigos, colegas de laboratório e do mestrado, Vitor, Pamela, Gabriel, Beatriz, Milena, Aline, Júlia, Ana, Luisa, Caroline, Tamara, por todas as conversas, risadas, companhia e ajuda na realização desse trabalho;

Ao Dr. Luís Garrigós Leite, pela orientação e confiança na realização desse trabalho;

Aos Dr. Fernando Berton Baldo, Dr. Julie Chacón-Orozco e Dr. Franceli da Silva, por serem solícitos às minhas dúvidas, por me motivarem, pela amizade e pela inspiração.

Ao Instituto Biológico e ao Programa de Pós-graduação, pela oportunidade de aperfeiçoar meus estudos em uma Instituição de pesquisa qualificada e reconhecida e por todo apoio e recursos necessários ao longo deste tempo;

À todas as pessoas que cruzaram a minha vida e de alguma forma tocaram o meu coração.

EPÍGRAFE

“Se não conseguir de primeira, coma um pedaço de bolo.”
(Charlie Mackesy)

GONÇALVES, Cauane Raema Antunes. **Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos usados na cana-de-açúcar, e efeitos de misturas na mortalidade de *Sphenophorus levis***. 2025. 88 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2025.

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial da cana-de-açúcar. Atualmente, essa cultura é cultivada em mais de 10.000.000 hectares. Em 2023 foi produzido mais de 782 milhões de toneladas com um valor de produção de 101 bilhões de reais. A cultura apresenta vários desafios em seu gerenciamento, incluindo o ataque de insetos-pragas como o bicudo-da-cana (*Sphenophorus levis*) e doenças. Visando o aumento de produtividade, os produtores têm utilizado a tecnologia dos bioinsumos, mercado em crescimento no país, como os nematoides entomopatogênicos que controlam pragas do solo. O nematoide entomopatogênico *Steinernema rarum* PAM25 (espécie nativa do Brasil) é comprovado ser eficiente contra o *S. levis*. Para melhorar a tecnologia de aplicação e manejo integrado de pragas, esse trabalho objetivou-se a avaliar a compatibilidade e a infectividade do *S. rarum* com 19 espécies de bactérias, 5 fungos e 5 inseticidas químicos utilizados nos canaviais, a patogenicidade de bactérias e virulência de *S. rarum* em mistura com inseticidas químicos para adultos de *S. levis*. Avaliou-se a compatibilidade das bactérias (*Rhizobium tropici*, *Nitrospirillum amazonense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Priestia megaterium* ATCC14581, *Priestia aryabhattai* 4005, *Pseudomonas putida*, *Chromobacterium subtsugae*, *Pseudomonas protegens*, *Bacillus thuringiensis kurstaki*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* ATCC6051, *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus amyloliquefaciens* CCT7690, *Cytobacillus firmus*, *Pseudomonas fluorescens* CCT2487, *Bacillus methylotrophicus* UFPEDA20), dos fungos (*Beauveria bassiana* IBCB 66, *Isaria javanica* IBCB 638, *Metarhizium anisopliae* IBCB 425, *Purpureocillium lilacinum* IBCB 130 e *Trichoderma harzianum* IBCB 1917) e dos inseticidas químicos (Bifentrina, Clorantraliniprole, Dinotefuram + Lambda-Cialotrina, Fipronil e Tiametoxan + Lambda-Cialotrina) com o nematoide, seus juvenis infectivos (JIs) foram colocados em contato com os tratamentos e sua mortalidade foi avaliada em diferentes intervalos de tempo. Para avaliar a infectividade, após os JIs serem colocados em contato com os tratamentos, foram

aplicados em lagartas de *Galleria mellonella*, avaliado a mortalidade das lagartas e a confirmação da morte pelo nematoide. Realizou-se também um teste de patogenicidade de bactérias para adultos de *S. levis* e um de virulência de *S. rarum* em mistura com inseticidas químicos para adultos de *S. levis*. O *S. rarum* foi compatível e infectivo com todas as bactérias e fungos testados. Nos tratamentos em que o *S. rarum* foi exposto a *Trichoderma harzianum* IBCB 1917 e a *Beauveria bassiana* IBCB 66, as espécies potencializaram a ação do nematoide. Em relação aos inseticidas, após 24 horas apenas Dinotefuram + Lambda-Cialotrina apresentou redução nos nematoide vivos, porém isso não afetou negativamente a infectividade do *S. rarum*. Os produtos químicos não afetaram negativamente a infectividade dos JIs para larvas de *G. mellonella* após 24 horas de exposição. Nos testes em adultos de *S. levis*, todas as bactérias foram inócuas e apenas a Bifentrina, dentre os inseticidas, não foi inócua e ao ser misturada com *S. rarum* apresentou efeito sinérgico, sendo assim um novo caminho para estudos futuros. Portanto, o *S. rarum* pode ser utilizado em associação com esses microrganismos e inseticidas químicos.

PALAVRAS-CHAVE: *Steinernema rarum*, *Sphenophorus levis*, Bactérias, On Farm, Compatibilidade, Manejo Integrado de Pragas.

GONÇALVES, Cauane Raema Antunes. **Compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos usados na cana-de-açúcar, e efeitos de misturas na mortalidade de *Sphenophorus levis***. 2025. 88 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2024.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest sugarcane producer. This crop is currently cultivated on more than 10,000,000 hectares. In 2023, more than 782 million tons were produced with a production value of 101 billion reais. The crop presents several challenges in its management, including attacks by insect pests such as the sugarcane weevil (*Sphenophorus levis*) and diseases. Aiming to increase productivity, producers have been using bioinput technology, a growing market in the country, such as entomopathogenic nematodes that control soil pests. The entomopathogenic nematode *Steinernema rarum* PAM25 (a species native to Brazil) has been proven to be effective against *S. levis*. To improve the application technology and integrated pest management, this study aimed to evaluate the compatibility and infectivity of *S. rarum* with 19 species of bacteria, 5 fungi and 5 chemical insecticides used in sugarcane fields, the pathogenicity of bacteria and virulence of *S. rarum* in a mixture with chemical insecticides for adults of *S. levis*. The compatibility of bacteria (*Rhizobium tropici*, *Nitrospirillum amazonense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Priestia megaterium* ATCC14581, *Priestia aryabhattai* 4005, *Pseudomonas putida*, *Chromobacterium subtsugae*, *Pseudomonas protegens*, *Bacillus thuringiensis kurstaki*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* ATCC6051, *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus amyloliquefaciens* CCT7690, *Cytobacillus firmus*, *Pseudomonas fluorescens* CCT2487, *Bacillus methylotrophicus* UFPEDA20), fungi (*Beauveria bassiana* IBCB 66, *Isaria javanica* IBCB 638, *Metarhizium anisopliae* IBCB 425, *Purpureocillium lilacinum* IBCB 130 and *Trichoderma harzianum* IBCB 1917) and chemical insecticides (Bifenthrin, Chlorantraniliprole, Dinotefuran + Lambda-Cyhalothrin, Fipronil and Thiamethoxan + Lambda-Cyhalothrin) was evaluated with the nematode, their infective juveniles (IJs) were placed in contact with the treatments and their mortality was evaluated at different time intervals. To evaluate the infectivity, after the IJs were placed in contact with the treatments, they were applied to *Galleria mellonella* caterpillars, evaluating the mortality of the caterpillars and confirming the death by the nematode. A bacterial pathogenicity test for *S. levis* adults and a virulence test for *S. rarum* in a mixture

with chemical insecticides for *S. levis* adults were also performed. *S. rarum* was compatible and infective with all bacteria and fungi tested. In treatments in which *S. rarum* was exposed to *Trichoderma harzianum* IBCB 1917 and *Beauveria bassiana* IBCB 66, the species potentiated the action of the nematode. Regarding insecticides, after 24 hours only Dinotefuran + Lambda-Cyhalothrin showed a reduction in live nematodes, but this did not negatively affect the infectivity of *S. rarum*. The chemicals did not negatively affect the infectivity of JIs for *G. mellonella* larvae after 24 hours of exposure. In tests on *S. levis* adults, all bacteria were innocuous and only Bifenthrin, among the insecticides, was not harmless and when mixed with *S. rarum* showed a synergistic effect, thus being a new possibility for future studies. Therefore, *S. rarum* can be used in association with these microorganisms and chemical insecticides.

KEYWORDS: *Steinernema rarum*, *Sphenophorus levis*, Bacteria, On Farm, Compatibility, Integrated Pest Management.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – SÉRIE HISTÓRICA DA EXPORTAÇÃO DE AÇÚCAR ENTRE 2013 E 2024.....	9
FIGURA 2 - VALOR DE PRODUÇÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR ENTRE 2019 E 2023.	9
FIGURA 3 – VALOR DA MOAGEM DA CANA-DE-AÇÚCAR POR ESTADO, NA SAFRA 2023/2024.	10
FIGURA 4 - PRODUTOS BIOLÓGICOS REGISTRADOS NO BRASIL ENTRE 2000 E 2020.	12
FIGURA 5 - OVOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	21
FIGURA 6 - LARVA DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	22
FIGURA 7 - PUPA DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i> EM CÂMARA PUPAL NO INTERIOR DO COLMO.	22
FIGURA 8 - FÊMEA ADULTA DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i> . PRESENÇA DE POUCA PILOSIDADE E PIGÍDIO TRUNCADO (SETAS).	24
FIGURA 9 - MACHO ADULTO DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i> . PRESENÇA DE PILOSIDADE ABUNDANTE E PIGÍDIO ARREDONDADO (SETAS).	24
FIGURA 10 - ESQUEMA PARA O LEVANTAMENTO POPULACIONAL E DANOS DO BICUDO DA CANA-DE-AÇÚCAR, EM 5 PONTOS POR HECTARE EM ÁREAS DE CANA SOCA.	26
FIGURA 11 - CICLO BÁSICO DA RELAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO DE <i>BEAUVERIA BASSIANA</i>	31
FIGURA 12 - CICLO BÁSICO DA RELAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO DE FUNGOS ANAMÓRFICOS. ILUSTRAÇÃO: CICLO DE <i>METARHIZIUM ANISOPLIAE</i> (HYPOCREALES) SOBRE <i>MAHANARVA FIMBRIOLATA</i> (CIGARRINHA-DA-RAIZ CANA-DE-AÇÚCAR).	32
FIGURA 13 - CICLO DE VIDA DOS NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS DOS GÊNEROS <i>STEINERNEMA</i> E <i>HETERORHABDITIS</i>	37
FIGURA 14 - LAGARTAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> MORTAS DEVIDO À INFECÇÃO DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> E SUA COR VERMELHA CARACTERÍSTICA DA AÇÃO DA BACTÉRIA SIMBIONTE <i>XENORHABDUS SZENTIRMAII</i>	39
FIGURA 15 - CORES CARACTERÍSTICAS DA LAGARTA DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> DEVIDO À AÇÃO DAS BACTÉRIAS SIMBIONTES: <i>PHOTORHABDUS</i> (ESQUERDA) CAUSA UMA COR VERMELHA OU ESVERDEADA, <i>XENORHABDUS</i> , COM EXCEÇÃO DA <i>X. SZENTIRMAII</i> , (DIREITA) CAUSA UMA COR AMARELO-CREME OU ACIZENTADO.	39
FIGURA 16 - COLETA DE ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i> . A) LINHA DE PLANTIO DO CANAVIAL EM QUE FORAM INSTALADAS AS ISCAS. B) INSTALAÇÃO DAS ISCAS DE CANA-DE-AÇÚCAR. C) VERIFICAÇÃO DAS ISCAS UMA SEMANA APÓS INSTALAÇÃO E COLETA DOS ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	42
FIGURA 17 - METODOLOGIA DO TESTE DE COMPATIBILIDADE DO <i>STEINERNEMA RARUM</i> COM BACTÉRIAS E FUNGOS.	44
FIGURA 18 - METODOLOGIA DO TESTE DE COMPATIBILIDADE DO <i>STEINERNEMA RARUM</i> COM OS INSETICIDAS TESTADOS.	46
FIGURA 19 – METODOLOGIA DO TESTE DE PATOGENICIDADE DAS BACTÉRIAS TESTADAS EM ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	47
FIGURA 20 - LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> APRESENTANDO COLORAÇÃO AVERMELHADA(A) E NEMATÓIDES (B), CONFIRMANDO MORTE POR AÇÃO DO <i>STEINERNEMA RARUM</i> QUE FOI EXPOSTO À <i>PRIESTIA ARYABHATTAI</i> 4005.	50

FIGURA 21 - LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> APRESENTANDO COLORAÇÃO AVERMELHADA(A) E NEMATOIDES (B), CONFIRMANDO MORTE POR AÇÃO DO <i>STEINERNEMA RARUM</i> QUE FOI EXPOSTO À <i>BEAUVERIA BASSIANA</i> IBCB 66.	51
FIGURA 22 - LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> APRESENTANDO COLORAÇÃO AVERMELHADA (A) E NEMATOIDES (B), CONFIRMANDO MORTE POR AÇÃO DO <i>STEINERNEMA RARUM</i> NO TRATAMENTO CONTROLE, EM QUE FOI EXPOSTO À ÁGUA DESTILADA AUTOCLAVADA, UTILIZANDO-SE DA METODOLOGIA DE IMERSÃO DA MISTURA EM PLACAS DE PETRI.	52
FIGURA 23 - LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> INFECTADAS COM <i>STEINERNEMA RARUM</i> QUE FOI EXPOSTO POR 24H À CLORANTRANILIPROLE.	53
FIGURA 24 - LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> INFECTADAS COM <i>STEINERNEMA RARUM</i> EXPOSTO POR 24H À DINOTEFURAM + LAMBDA-CIALOTRINA.	53
FIGURA 25 - LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> INFECTADAS COM <i>STEINERNEMA RARUM</i> QUE FOI EXPOSTO POR 24H À TIAMETOXAM + LAMBDA-CIALOTRINA.....	54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1OBJETIVO GERAL	3
2.2OBJETIVO ESPECÍFICO	3
3 REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1CANA-DE-AÇÚCAR	4
3.1.1História e Botânica	4
3.1.2Fenologia, Morfologia e Fisiologia	5
3.1.3Produtos e subprodutos.....	7
3.1.4Importância econômica e mercado	8
3.2PRODUTOS BIOLÓGICOS	11
3.2.1Produção <i>On Farm</i>	12
3.3BACTÉRIAS NA CULTURA DA CANA.....	13
3.3.1Gênero <i>Priestia</i>	13
3.3.2Gênero <i>Bacillus</i>	14
3.3.3Gênero <i>Pseudomonas</i>	16
3.3.4Gênero <i>Chromobacterium</i>	16
3.3.5Gênero <i>Azospirillum</i>	17
3.3.6Gênero <i>Rhizobium</i>	18
3.3.7Gênero <i>Bradyrhizobium</i>	19
3.3.8Gênero <i>Nitrospirillum</i>	19
3.4PRINCIPAIS PRAGAS	20
3.5BICUDO DA CANA-DE-AÇÚCAR (<i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>)	20
3.5.1Bioecologia.....	20
3.5.2Monitoramento	25
3.5.3Controle	26
3.6CONTROLE BIOLÓGICO	27
3.7FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS (FES).....	29
3.7.1 <i>Beauveria bassiana</i>	30
3.7.2 <i>Metarhizium anisopliae</i>	31
3.7.3 <i>Isaria javanica</i>	33

3.7.4	<i>Purpureocilium lilacinum</i>	33
3.7.5	<i>Trichoderma harzianum</i>	34
3.8	NEMATOIDE ENTOMOPATOGÊNICO (NEP).....	35
3.8.1	<i>Steinernema rarum</i>	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1	BACTÉRIAS, FUNGOS, NEMATOIDE <i>STEINERNEMA RARUM</i> E LAGARTAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> UTILIZADOS.....	41
4.2	INSETICIDAS UTILIZADOS.....	41
4.3	COLETA DE ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	42
4.4	MULTIPLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DOS FUNGOS	42
4.5	MULTIPLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DAS BACTÉRIAS	43
4.6	PADRONIZAÇÃO DOS NEMATOIDES PARA O TESTE DE COMPATIBILIDADE	43
4.7	COMPATIBILIDADE DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> COM BACTÉRIAS E FUNGOS, E INFECTIVIDADE PARA <i>GALLERIA MELLONELLA</i>	44
4.8	COMPATIBILIDADE DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> COM INSETICIDAS UTILIZADOS EM CANA-DE-AÇÚCAR, E INFECTIVIDADE PARA <i>GALLERIA MELLONELLA</i>	45
4.9	PATOGENICIDADE DE BACTÉRIAS PARA ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	46
4.10	VIRULÊNCIA DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> EM MISTURA COM INSETICIDAS QUÍMICOS PARA ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	47
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	48
5	RESULTADOS	49
5.1	COMPATIBILIDADE DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> COM BACTÉRIAS E FUNGOS, E INFECTIVIDADE PARA <i>GALLERIA MELLONELLA</i>	49
5.2	COMPATIBILIDADE DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> COM INSETICIDAS UTILIZADOS EM CANA-DE-AÇÚCAR, E INFECTIVIDADE PARA <i>GALLERIA MELLONELLA</i>	51
5.3	PATOGENICIDADE DE BACTÉRIAS PARA ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	54
5.4	VIRULÊNCIA DE <i>STEINERNEMA RARUM</i> EM COMBINAÇÕES COM INSETICIDAS QUÍMICOS PARA ADULTOS DE <i>SPHENOPHORUS LEVIS</i>	55
6	DISCUSSÃO	57
7	CONCLUSÃO	62
8	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 25% da produção global, é o maior exportador de açúcar e o segundo maior produtor de etanol do mundo (USDA, 2024). De acordo com o IBGE (2024), no Brasil a cana-de-açúcar é cultivada em mais de 10 milhões de hectares e em 2023 produziu mais de 782 milhões de toneladas. De 2020 a 2023 a produção da cultura apresentou um aumento de 68,43 %, passando de 60,5 bilhões de reais para mais de 101 bilhões. O país possui 345 usinas, sendo 143 localizadas no estado de São Paulo, que lidera como maior produtor do país e na safra de 2023/2024 foi responsável por 59,23 % da moagem da cana no Brasil e tendo uma participação de 63,5% na exportação de açúcar (UNICA, 2024).

Com o surgimento de uma crescente demanda pela produção de cana, aumentam os desafios, dentre deles a dificuldade de controlar as pragas da cultura. Para promover uma maior produtividade ao decorrer dos anos diversas tecnologias foram desenvolvidas, entre elas os produtos biológicos (Macro e Microrganismos para controle biológico, bactérias promotoras de crescimento, por exemplo), técnicas de manejo integrado de pragas conciliando a utilização desses bioinsumos com defensivos químicos para controlar pragas e doenças. Tais tecnologias tem apresentado ótimos resultados aos produtores, aumentando a produtividade, sendo eficientes e sustentáveis, com um mercado em ascensão e a cada safra sendo mais utilizadas pelo setor (LISBINSKI, FERRAZ e BURNQUIST, 2024).

O mercado dos insumos biológicos tem crescido no Brasil seguindo uma tendência mundial, com crescimento de 15 % na safra 2023/2024, em comparação à safra anterior, atingindo as vendas de R\$ 5 bilhões. A taxa média de adoção de bioinsumos por área, da safra 2022/2023 para a safra 2023/2024, subiu de 22% para 23% incluindo todos os segmentos: controle, inoculantes, bioestimulantes e solubilizadores. Entre os principais cultivos, do total de uso de bioinsumos no Brasil, 55% são destinados para soja, 27% para o milho, 12% para a cana-de-açúcar e 6% para algodão, café, citrus e hortifruti (CropLife, 2024).

A produção *On Farm* é uma das tecnologias de bioinsumos adotadas pelos produtores e se caracteriza pela produção de insumo biológicos nas propriedades agrícolas para uso próprio, que se dá a partir da multiplicação de pré-inóculos preparados e vendidos por empresas especializadas (EMBRAPA, 2024). Os principais gêneros de

bactérias na produção *on farm* são: *Azospirillum*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Chromobacterium*, *Nitrospirillum*, *Pseudomonas*, *Priestia* e *Rhizobium*. Essas bactérias são utilizadas pois promovem o crescimento e controlam doenças, consequentemente aumentando a produtividade e reduzindo custos com químicos.

A cana-de-açúcar apresenta vários insetos-pragas, entre eles o bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae), que atualmente é uma praga primária dos canaviais, primeiramente devido à sua distribuição na principal região canavieira do país, ocorrendo nas principais regiões produtoras de cana-de-açúcar do estado de São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (MORAES; ÁVILA, 2013; DINARDO-MIRANDA, 2018). Os danos gerados pelo ataque podem levar à morte das touceiras. Além da redução na produtividade agrícola, afeta a qualidade de matéria prima e a longevidade dos canaviais (ALMEIDA, 2005). Em determinados locais têm-se observado cerca de 50% a 60% de perfilho atacados pela praga, provocando uma queda na produtividade na ordem de 20 a 30 toneladas ha/ano (LEITE et al., 2012; NETO & GARCIA, 2016).

O controle de *S. levis* é realizado de diferentes maneiras, utilizando-se do controle químico, cultural e biológico. No controle químico são registrados 26 produtos comerciais para o controle do inseto-praga na cultura da cana-de-açúcar, aplicados através de pulverizações na cana soca no início da brotação, sobre a linha de plantio ou fazendo uma aplicação de jato dirigido na operação de plantios novos, com o produto sobre as mudas (AGROFIT, 2024). Para o controle cultural é realizado a destruição mecânica da soqueira com um cortador de soqueira, que destrói ou expõe as larvas e pupas ao sol, na época seca do ano, e adotado um vazio sanitário por pelo menos 4 a 5 meses (AGROLINK, 2021). Para o controle biológico, Silva et al. (2021) conduziram o primeiro estudo para avaliar o nematoide entomopatogênico (NEP) *Steinernema rarum* para controle de *Sphenophorus levis* e destacaram seu potencial entre as espécies de NEPs avaliadas, como a de melhor desempenho e capacidade de busca do inseto dentro do rizoma de cana-de-açúcar. Gonçalves et al. (2022), obtiveram resultados demonstrando a eficiência do nematoide no controle da mesma praga em condições de campo.

Apesar de tais tecnologias desenvolvidas, há uma demanda no mercado de dados sobre a compatibilidade entre os bioinsumos e defensivos químicos, se tais ferramentas apresentadas ao produtor podem ser usadas em conjunto ou em uma mesma área, sem afetar sua eficiência, promovendo o desenvolvimento e aperfeiçoamento do manejo integrado de pragas e tecnologia de aplicação dos bioinsumos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a compatibilidade de *Steinernema rarum* com produtos químicos e biológicos usados no cultivo da cana-de-açúcar, e efeitos de misturas na mortalidade de adultos de *Sphenophorus levis*.

2.2 Objetivo específico

1. Avaliar a compatibilidade do *S. rarum* com bactérias e fungos;
2. Avaliar a compatibilidade do *S. rarum* com inseticidas;
3. Avaliar a infectividade do *S. rarum*, após contato com bactérias e fungos, em lagartas de *Galleria mellonella*;
4. Avaliar a infectividade do *S. rarum*, após contato com inseticidas, em lagartas de *Galleria mellonella*;
5. Avaliar o efeito de bactérias na mortalidade de adultos de *Sphenophorus levis*;
6. Avaliar o efeito de inseticidas na mortalidade de adultos de *Sphenophorus levis*;
7. Avaliar o efeito de misturas na mortalidade de adultos de *Sphenophorus levis*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cana-de-açúcar

3.1.1 História e Botânica

A cana-de-açúcar, originária da Nova Guiné, foi trazida ao Brasil em 1532 por Martin Affonso de Souza. Em 1926 iniciou-se a busca por novas variedades mais produtivas, mais resistentes às pragas e doenças, além do início do controle biológico na cultura na década de 1960, com entidades como Copersucar, IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) e o IAA-Planalsucar responsáveis por esses avanços (RODRIGUES, ROSS, 2020). A cana é uma monocotiledônea e membro da família Gramineae, tribo Andropogoneae e classificada no gênero *Saccharum*. Há seis espécies, em que duas só duas ocorrem espontaneamente na natureza: *S. spontaneum* L. e *S. robustum* Brandes e Jesw ex Grassl. As outras são cultivadas até certo ponto, porém foram amplamente cultivadas no passado. As variedades comerciais de cana-de-açúcar cultivadas atualmente são híbridos originados de cruzamentos interespecíficos realizados no início do século XX, sendo principalmente de *S. spontaneum* e *S. officinarum* e retrocruzamento com *S. officinarum* (nobilização). *S. spontaneum* é uma espécie amplamente adaptada, crescem vigorosamente, com colmo fino e duro, com pouco caldo e sacarose e resistente às doenças. As espécies *S. officinarum* L., *S. barberi* Jeswiet, *S. sinense* Roxb. e *S. edule* Hassk, possuem menos fibra, um alto teor de sacarose, crescem menos vigorosamente e geralmente são mais suscetíveis à doenças. Portanto o cultivo de híbridos, por exemplo de *S. spontaneum* L. x *S. officinarum* L., possibilita uma produção em que se obtém de ambas, suas características interessantes para um bom rendimento: alto teor de caldo, menos fibrosas, alto teor de sacarose, crescimento vigoroso e resistência às doenças (JULIEN; IRVINE; BENDA, 1989).

3.1.2 Fenologia, Morfologia e Fisiologia

A cultura apresenta quatro estádios de desenvolvimento, sendo a brotação da gema e estabelecimento; perfilhamento; final do perfilhamento ao período de crescimento dos colmos (início do acúmulo de açúcar no colmo) e início da acumulação de açúcar à maturação (Quadro 1) (MATA, 2018).

Tabela 1 – Fase fenológica e estágio de desenvolvimento da cana-de-açúcar.

Estádio de Desenvolvimento	Brotação da Gema e Estabelecimento	Perfilhamento	Final do Perfilhamento ao Período de Crescimento dos Colmos	Início da Acumulação de Açúcar à Maturação
Fase Fenológica	Emergência	Estabelecimento	Desenvolvimento	Maturação
Tempo de Duração	30 a 60 dias	60 a 90 dias	180 a 210 dias	60 a 90 dias

Fonte: MATA, 2018.

Esta é uma planta de metabolismo C4, que possui uma série de modificações anatômicas e bioquímicas que resultam na concentração do CO₂ nas células da bainha do feixe vascular onde está localizada a enzima carboxilante Rubisco, aumentando a eficiência fotossintética em condições que promovem altas taxas de fotorrespiração (SAGE, 2003).

As plantas C4 habitam ambientes quentes, secos, possuem uma eficiência muito elevada no uso de água e sua taxa de fotossíntese pode chegar ao dobro das plantas C3, porém seu metabolismo é ineficiente em ambientes frios e com pouca luz. (WAND et al., 2001).

A cultura da cana-de-açúcar se desenvolve, caracteristicamente, em forma de touceira; possui uma parte aérea formada por colmos, folhas e inflorescência, e outra subterrânea, constituída de raízes e rizomas. Sendo o colmo a parte da cana-de-açúcar que apresenta maior valor econômico (MATA, 2018). Outras partes também possuem valor econômico, como no caso da produção de silagem a partir da cana-de-açúcar, em que se utiliza toda a parte aérea.

O colmo é cilíndrico, ereto, fibroso e rico em açúcar, com diâmetro e comprimentos variados, sendo a parte da cana-de-açúcar de maior interesse econômico.

Este é constituído de nós e entrenós. Em cada nó existe uma gema, geralmente protegida por escamas, dispostas alternadamente em torno do colmo, que normalmente são protegidas pela bainha da folha, a qual está firmemente presa ao entrenó. As folhas senescentes, ao caírem, deixam uma “cicatriz foliar” em torno do colmo, na região de inserção da bainha (CASAGRANDE, 1991). Acima da “cicatriz foliar” do colmo, se encontra a zona radicular, compreendida pelos primórdios radiculares e abaixo da “cicatriz foliar”, está a “zona cerosa”, isto ocorre em todas as cultivares.

Quanto aos plantios comerciais, a propagação da cana-de-açúcar normalmente é realizada através de toletes. Deve-se cortar a cana em toletes para reprimir a “predominância apical” quando o colmo não é dividido em toletes, há uma propensão para fazer vegetar somente as gemas da base e da ponta do mesmo. Provocada pela ação das enzimas nas gemas laterais, essas enzimas estão em estado latente, o tratamento térmico (52°C) do colmo inibe a predominância apical. Faz se necessário o cruzamento do pé com a ponta, as gemas mais próximas da ponta do colmo germinam mais facilmente do que as demais, em decorrência da dominância apical. Por essa razão é que se recomenda cruzar o ápice com as bases do colmo, as gemas mais novas germinam antes que as mais velhas, e a população ideal é de 15 a 18 gemas por metro de sulco (DINARDO-MIRANDA et al., 2008).

Os colmos são plantados em sulcos de no mínimo 20 cm de profundidade, picados em toletes com três a seis gemas. Após o plantio começam a surgir às raízes do tolete (que são finas e ramificadas) e em cada gema desenvolve o perfilho primário (que dá origem ao colmo), o perfilho secundário e assim por diante, formando touceiras (MATA, 2018). Após a brotação e emergência, inicia-se o perfilhamento, que é regulado por hormônios e resulta no crescimento de brotos que vão em direção à superfície do solo. Esses brotos aparecem de 20 a 30 dias após a emergência do colmo primário. Por meio desse processo, ocorre a formação da touceira da cana-de-açúcar e a população de colmos que será colhida (EMBRAPA, 2022).

O número de perfilhos por unidade de área está associado ao início do acúmulo de sacarose nos colmos e determina a futura produtividade ou fitomassa (t ha⁻¹) da cultura (LUCCHESI, 2001).

3.1.3 Produtos e subprodutos

O setor sucroalcooleiro é um dos mais eficientes em aproveitamento de produção, gerando produtos e subprodutos. Da cana-de-açúcar processada na usina se obtém álcool e açúcar, processos que produzem resíduos que são utilizados como subprodutos em diversas áreas (EMBRAPA, 2024). Além do setor sucroalcooleiro e suas usinas, há produções de cana-de-açúcar com diferentes estruturas, para outras finalidades: silagem, cachaça, rapadura e garapa.

O álcool e açúcar são os produtos principais das usinas, direcionados tanto para o mercado interno quanto para exportação. O álcool vendido como etanol anidro e etanol hidratado, possui como finalidade sua utilização como combustível e o açúcar utilizado como adoçante. Outro produto principal da cana-de-açúcar é a silagem, neste caso não há processamento em usina, o produtor colhe, faz o corte do material e o processo de ensilagem, produto que será utilizado para alimentação animal.

Os subprodutos são: bagaço, palhada, torta de filtro, melaço, vinhaça, óleo fúsel, álcool bruto e levedura seca. O bagaço é o resíduo fibroso resultante das moendas, apresentando diversos usos: etanol de segunda geração, bioplásticos, produção de borracha sintética a partir do butadieno, combustível para caldeira (bioeletricidade), célula com etanol (baterias e automóveis) produção de celulose (papel), fabricação de aglomerados, material alternativo na construção civil (fibrocimento), alimentação animal (ração), produção de ácido xilônico utilizado na fabricação de biopesticidas, antisséptico bucal e dispersante em cimento. A palhada resultante da colheita mecanizada pode ser deixada em cima do solo melhorando as condições físicas, químicas e biológicas do solo. A torta de filtro é um resíduo da filtragem do caldo extraído das moendas, fertilizante rico em fósforo, eficiente para melhoria da produtividade (EMBRAPA, 2024).

O melaço é o caldo concentrado da cana e pode ser utilizado para a fabricação de álcool etílico, produção de açúcar em diferentes formas, antibióticos, levedura prensada para panificação, rações, produção de xarope, vidro falso, produção de ácido láctico (indústria alimentícia, química fina, tintas, vernizes e blocos construtores para fabricação de polímeros renováveis), produção de ácido cítrico (indústria farmacêutica, de cosméticos, alimentícia e de cuidados especiais). A vinhaça é um resíduo da produção do etanol utilizado principalmente para adubação de solos no canavial através da fertirrigação, mas também para a produção de eletricidade através da produção de metano

(biogás) e produção de proteínas (biomassa). O óleo fúsel é uma matéria prima para o processo de refinação, sendo usado para obtenção de solventes, na indústria farmacêutica, plásticos e perfumaria. O álcool bruto é uma mistura impura de água e álcool, utilizado para produção de álcool extra-fino e neutro (indústria de bebidas, farmacêutica, setor de cosméticos) e combustíveis. A levedura seca é obtida ao fazer a sangria da vinhaça e é usada como fonte de proteína animal de qualidade (EMBRAPA, 2024).

E para consumo humano temos como produtos da cana-de-açúcar, a cana *in natura*, a garapa (caldo-de-cana), o melado, a rapadura, a cachaça etc.

3.1.4 Importância econômica e mercado

Atualmente o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 25% da produção global, é o maior exportador de açúcar e o segundo maior produtor de etanol do mundo (USDA, 2024). De janeiro a setembro de 2024 exportou 28,4 milhões de toneladas de açúcar (Figura 1), com um valor de mais de 13 bilhões de reais, com Indonésia, China e Índia liderando como compradores, respectivamente (COMEXVIS, 2024). De acordo com o IBGE (2024), no Brasil a cana-de-açúcar é cultivada em mais de 10 milhões de hectares, em 2023 produziu mais de 782 milhões de toneladas de cana-de-açúcar, de 2020 a 2023 apresentou um aumento de 68,43 % no valor da produção passando de 60,5 bilhões de reais para mais de 101 bilhões (Figura 2). O país possui 345 usinas, sendo 143 localizadas no estado de São Paulo, que lidera como maior produtor do país e na safra de 2023/2024 foi responsável por 59,23 % da moagem da cana no Brasil e tendo uma participação de 63,5% na exportação de açúcar (Figura 3).

Série histórica

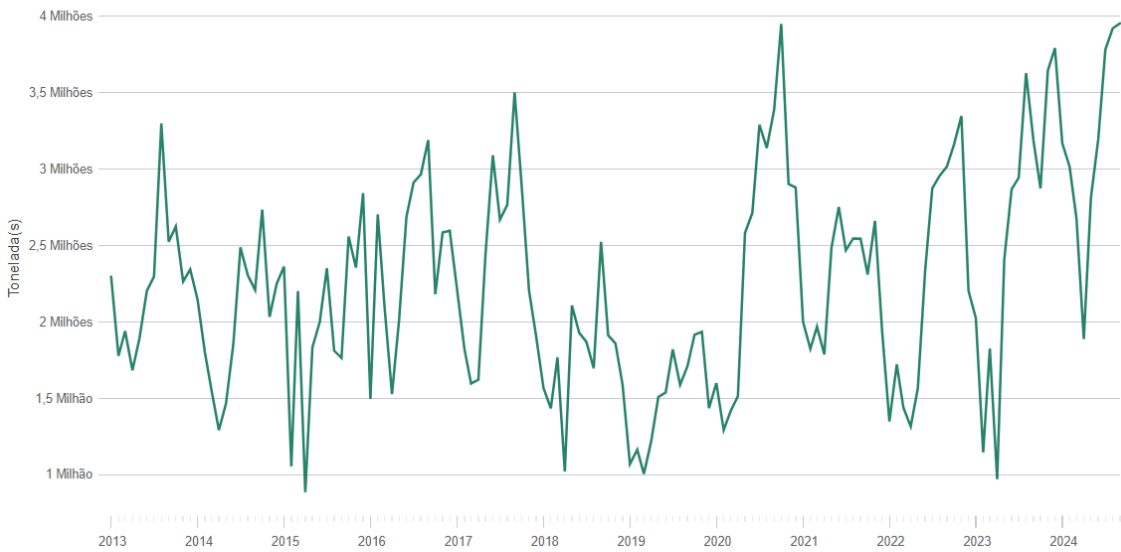


Figura 1 – Série histórica da exportação de açúcar entre 2013 e 2024.
Fonte: IBGE, 2024.

Série histórica (BR) - Cana-de-açúcar - Valor da produção

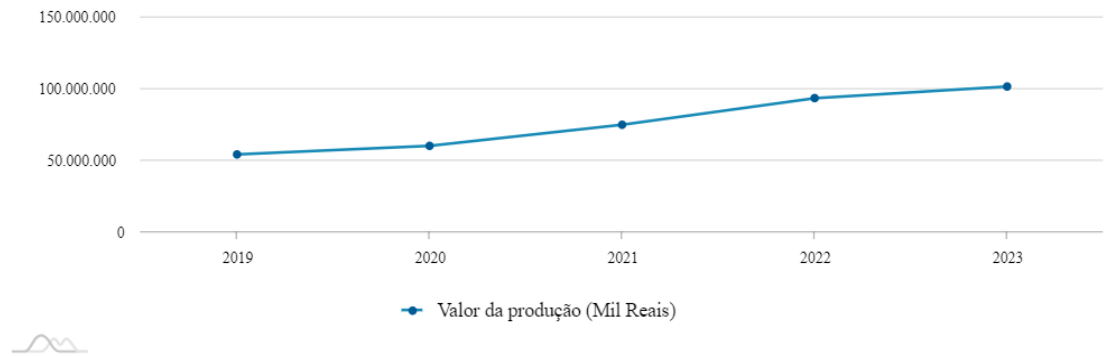


Figura 2 - Valor de produção da cana-de-açúcar entre 2019 e 2023.
Fonte: IBGE, 2024.

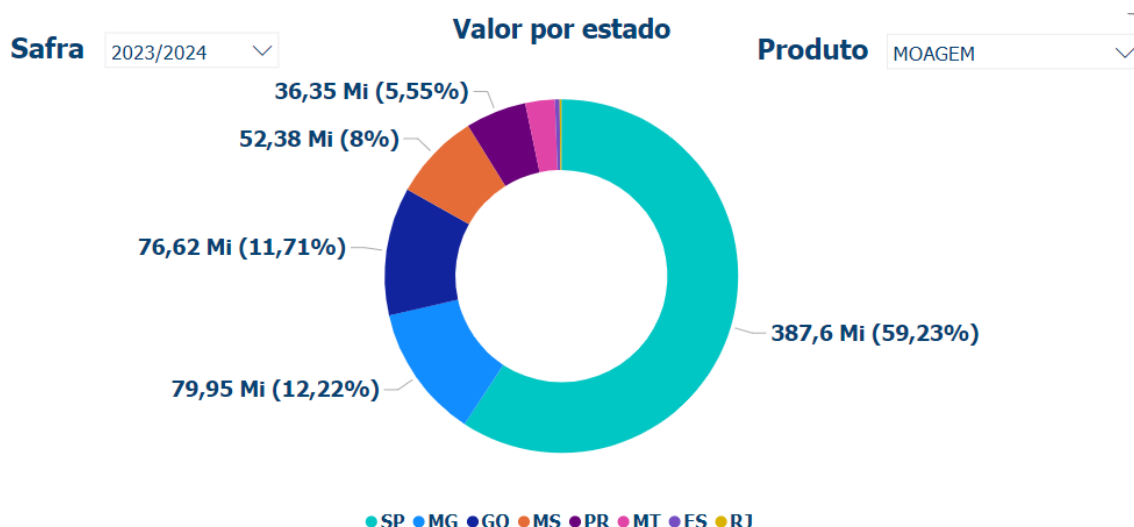


Figura 3 – Valor da moagem da cana-de-açúcar por estado, na safra 2023/2024.
Fonte: UNICA, 2024.

Atualmente apenas 1,5 % do território brasileiro é utilizado para o cultivo da cana-de-açúcar e o consumo de etanol hidratado pelos automóveis flex (uma revolução no mercado automobilístico nacional), combinado à mistura atual obrigatória de 27% de etanol anidro na gasolina, reduziu a emissão de gases de efeito estufa (GEE) em mais de 660 milhões de toneladas de CO₂eq desde março de 2003 (data do lançamento dos veículos flex no Brasil), até dezembro de 2023. Não há nenhum outro país que tenha uma frota de 31,5 milhões de veículos aptos a utilizarem qualquer combinação de gasolina e etanol. O setor gera mais de 730 mil empregos formais e somados os empregos indiretos gerados pelo setor, temos cerca de 2,2 milhões de pessoas empregadas na cadeia da cana-de-açúcar (UNICA, 2024). Sendo assim, se destaca em sua sustentabilidade, benefícios ambientais e impacto social.

Em 2023, bagaço e palha da cana-de-açúcar foram os principais combustíveis na geração de bioeletricidade para a rede no país, representando uma oferta de 20.973 GWh, equivalente à 25% da geração de energia elétrica pela usina Itaipu. A geração de bioeletricidade com biomassa de cana é caracterizada como não intermitente e acompanha principalmente o período de colheita de cana-de-açúcar na região Centro-Sul do país, dessa forma acaba coincidindo com o período seco e crítico no setor elétrico brasileiro que vai de maio a novembro de cada ano (UNICA, 2024).

Com o surgimento de uma crescente demanda e desafios para atendê-la, entre eles a dificuldade em controlar pragas da cultura, diversas tecnologias foram desenvolvidas para promover uma maior produtividade no decorrer dos anos. Entre elas, os produtos biológicos, bactérias promotoras de crescimento, técnicas de manejo

integrado de pragas conciliando a utilização desses bioinsumos com defensivos químicos para controlar pragas e doenças. Tais tecnologias apresentaram ótimos resultados aos produtores, aumentando a produtividade, sendo eficientes e sustentáveis, se mostrando um mercado em ascensão e a cada safra sendo mais utilizadas pelo setor (LISBINSKI, FERRAZ e BURNQUIST, 2024).

3.2 Produtos Biológicos

O mercado dos insumos biológicos tem crescido no Brasil seguindo uma tendência mundial, com crescimento de 15 % na safra 2023/2024, em comparação à safra anterior, atingindo as vendas de R\$ 5 bilhões. No mercado global, a estimativa é que a taxa anual de crescimento até 2032 seja entre 13% e 14%, o que corresponde a US\$ 45 bilhões, valor três vezes maior que o atual. A taxa média de adoção de bioinsumos por área, da safra 2022/2023 para a safra 2023/2024, subiu de 22% para 23% incluindo todos os segmentos: controle, inoculantes, bioestimulantes e solubilizadores. Entre os principais cultivos, do total de uso de bioinsumos no Brasil, 55% são destinados para soja, 27% para o milho, 12% para a cana-de-açúcar e 6% para algodão, café, citrus e hortifruti (CropLife, 2024).

Nos últimos anos, observou-se constante ingresso de novos produtos nacionais e importados no mercado brasileiro (Figura 4), além do surgimento de novas empresas de pequeno e médio porte, de capital nacional, até grandes multinacionais. Esse crescimento do mercado de bioinsumos no Brasil também vem sendo estimulado pela implementação do Programa Nacional de Bioinsumos, instituído pelo Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020 (MAPA, 2024) e da Lei de Bioinsumos (Lei 15.070/2024), sancionada em 24 de dezembro de 2024.(BRASIL, 2024)

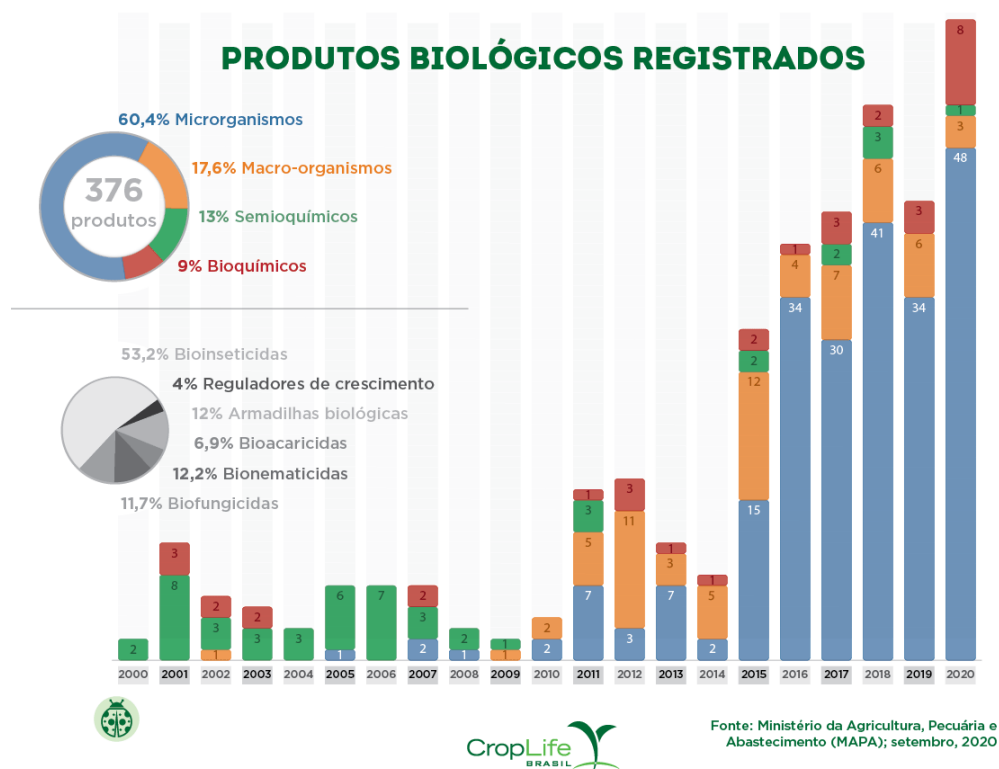


Figura 4 - Produtos biológicos registrados no Brasil entre 2000 e 2020.

Fonte: MAPA, 2020.

O Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento registrou em 2023, 90 produtos de baixo impacto (produtos de origem biológica, produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica, produtos semioquímicos e reguladores de crescimento) (MAPA, 2024). No Catálogo Nacional de Bioinsumos há 639 produtos para controle de pragas e 692 inoculantes (MAPA, 2024).

3.2.1 Produção On Farm

A produção *on farm* se caracteriza pela produção de insumo biológicos nas propriedades agrícolas para uso próprio, que se dá a partir da multiplicação de produtos comerciais adquiridos no mercado ou por meio de pré-inóculos preparados e vendidos por empresas especializadas, que também podem comercializar a infraestrutura empregada nesse tipo de produção (EMBRAPA, 2024).

Ao passar dos anos, cada vez mais os produtores adotam a utilização do manejo biológico, através da produção *on farm*. As pesquisas têm demonstrado resultados sobre a eficiência e sustentabilidade dessa ferramenta. Cruvinelli et al. (2022) realizaram

um estudo apresentando dados de custo, produção e rentabilidade ao longo de doze safras anuais (2010-2022) consecutivas na cultura da soja na Fazenda “Bom Jardim Lagoano” pertencente a microrregião do município de Rio Verde em Goiás. Foram conduzidas seis safras com manejo convencional (2010/2011-2015/2016) e seis safras com manejo de biológicos (2016/2017-2021/2022), sendo avaliado para ambos os manejos o custo de produção, a produtividade e a rentabilidade. Os resultados mostraram que na fazenda, o manejo com insumos biológicos produzidos *on farm* reduziu o custo de produção (58,6%), com um aumento da produtividade (13%) e da rentabilidade (175%).

Em um outro estudo realizado por Teckio et al. (2024), avaliaram o custo de produção *on farm* de *Bacillus thuringiensis* para controle de lepidópteros pragas e compararam com o valor de mercado do produto comercial, em Campo Novo do Parecis no Mato Grosso. Observaram que o produto *on farm* possui um custo de produção 46,37% menor, comparado ao produto comercial (metil carbamato de oxima). Porém quando comparadas as aplicações (o produto comercial necessita de um maior volume por hectare, de 1,2 litro) essa diferença atinge 54%. Sendo assim, os estudos corroboram para os produtores adotarem esse manejo, que representa uma excelente ferramenta na produção no Brasil, sempre que cumprido as normas de produção, controle de qualidade e aplicação dos biológicos, entre eles, as bactérias, os fungos e os nematoides entomopatogênicos.

3.3 Bactérias na cultura da cana

Taxonomicamente, as bactérias pertencem ao domínio Bacteria. Assim como os pertencentes ao domínio Archaea, esses microrganismos não possuem um núcleo distinto ou outras organelas devido à ausência de membranas internas, característica principal que os diferencia dos eucariotos.

3.3.1 Gênero Priestia

A fim de obter coerência filogenética e taxonômica, em 2020 foi proposto por Gupta et al. um novo gênero, *Priestia*, reclassificando *Bacillus aryabhattai* e *Bacillus megaterium* para *Priestia aryabhattai* e *Priestia megaterium*.

São bactérias aeróbicas, majoritariamente Gram-positivas, mas algumas espécies exibem coloração Gram-negativa e Gram-variável. Possuem formato de bastão e são capazes de formar endosporos. A maioria das espécies são móveis. *P. aryabhattai* é industrialmente importante porque é resistente à arsênico e radiação UV permitindo uma alternativa acessível às tecnologias convencionais e caras de remediação de metais. Isolado de diversas fontes incluindo fezes, solo, atmosfera superior, tecidos internos das plantas de algodão, sedimento marinho e rizosfera da raiz do salgueiro. A faixa de temperatura para crescimento é de 5-48 °C com crescimento ótimo ocorrendo na faixa 28-37 °C.

As espécies pertencentes a este gênero formam um clado monofilético em árvores filogenéticas baseadas em sequências concatenadas para vários grandes conjuntos de dados de proteínas. Além disso, os membros deste gênero podem ser distinguidos com segurança de todas as outras espécies de *Bacillaceae* pelos dois *conserved signature indels* (CSIs) na oligoribonuclease NrnB ou cAMP/cGMP fosfodiesterase, proteína da superfamília DHH, compartilhada exclusivamente por todos os membros deste gênero. A espécie-tipo é *Priestia aryabhattai*.

3.3.2 Gênero Bacillus

Bacillus spp e gêneros relacionados, incluindo *Paenibacillus*, *Alicyclobacillus* ou *Brevibacillus*, são majoritariamente Gram-positivos e possuem a habilidade de produzir esporos e exibir capacidades metabólicas em condições aeróbicas e relativamente anaeróbicas. Devido às suas características, bactérias desse grupo tem alta resistência à estresse do ambiente como seca, estresse hídrico, radiação UV ou baixa disponibilidade de nutrientes no ambiente. *Bacillus* spp. e gêneros relacionados comumente povoam a Terra e ocorrem em uma variedade de ambientes, tanto naturais quanto antropogênicos (DOBRZYNSKI, WRÓBEL, GÓRSKA, 2023).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria que produz no momento de sua esporulação inclusões proteicas cristalinas conhecidas por δ -endotoxinas. As mais conhecidas e utilizadas são as toxinas Cry, que formam um cristal proteico durante a fase de esporulação. Essas toxinas têm um amplo espectro de ação, sendo tóxicas a insetos de diversas ordens. Algumas estirpes podem produzir moléculas bioestimuladoras e biofertilizadoras, como fitohormônios, proteínas solubilizadoras de fosfato e sideróforos

além de proteínas parasporinas, as quais exibem atividade citotóxica específica contra células cancerígenas de humanos. As vantagens da utilização de *B. thuringiensis* são a especificidade aos organismos susceptíveis, o efeito não poluente ao meio ambiente, a inocuidade aos mamíferos e invertebrados e ausência de toxicidade às plantas.

Bacillus subtilis é uma bactéria móvel que forma esporos centrais com formato cilíndrico ou elipsoidal. As colônias podem ter diferentes colorações, variando do esbranquiçado ao preto, a depender do meio de cultura empregado. *Bacillus subtilis* é encontrada principalmente no solo e na rizosfera, o que proporciona proteção contra vários agentes causadores de doenças em plantas. O grande interesse nessa espécie bacteriana consiste nos inúmeros metabólitos secundários que ela produz, podendo ser utilizada no âmbito agrícola e medicinal. Além disso, essa bactéria é capaz de produzir biofilmes que proporcionam uma colonização preventiva e benéfica para as raízes de inúmeras plantas.

Bacillus pumilus é uma bactéria formadora de esporos, encontrada em vários tipos de ambientes, como solo (principalmente), água, ar e tecidos vegetais em decomposição. Essa bactéria é amplamente utilizada em processos industriais, fabricação de alimentos fermentados, tratamento de água e de ambientes contaminados. Na agricultura, *B. pumilus* está sendo empregado para o controle de diversos fungos, além de promover o crescimento de plantas.

Bacillus amyloliquefasciens é uma bactéria móvel, muito semelhante a *B. subtilis*. A forma mais utilizada para diferenciá-la é através de métodos moleculares. *Bacillus amyloliquefasciens* pode ser isolado de vários ambientes distintos, inclusive alimentos e solo, produz dezenas de enzimas de interesse industrial e possui grande atividade microbiana, podendo ser utilizada no controle de fungos, bactérias e também de nematoides.

Bacillus licheniformis é uma bactéria móvel que forma esporos na porção subterminal ou no centro da célula com formato elipsoidal a cilíndrico. A coloração da colônia em meio de cultura normalmente é esbranquiçada e possui formato arredondado a irregular. *Bacillus licheniformis* não causa doenças em plantas, tem sido extensamente utilizada na medicina humana e veterinária como probióticos e na produção de detergentes. É muito eficaz para controlar nematoides. Estudos mostram que a mistura entre *B. licheniformis* e *B. subtilis* promoveu o crescimento de plantas de soja.

Bacillus methylotrophicus é uma bactéria encontrada na rizosfera e apresenta grande potencial de promoção de crescimento de plantas. *B. methylotrophicus*

é aeróbica, móvel, com endósporos em formato de bastão. O grande interesse nessa espécie bacteriana consiste justamente na sua interação benéfica com plantas, promovendo o seu crescimento. Além disso, produz bacteriocinas, possui capacidade de biorremediar solos e age no controle de doenças (MONNERAT *et al.*, 2020).

3.3.3 Gênero *Pseudomonas*

O gênero *Pseudomonas* representa um grupo fisiologicamente e geneticamente diverso com uma grande importância ecológica. Esta diversidade é o resultado da interação entre fatores ecológicos e genéticos e tem sido objeto de um intenso e contínuo esforço taxonômico. Esse grupo de bactérias amplamente investigado é onipresente em todos os principais ambientes naturais, muitas vezes em associação íntima com plantas e animais (ZAGO; CHUGANI, 2009).

O gênero inclui bactérias Gram-negativas, não formadoras de esporos e em forma de bastonete, móvel por meio de um ou mais flagelos polares. Elas são aeróbias obrigatórias, mas algumas espécies podem crescer em condições anaeróbicas na presença de nitrato. Catalase-positivas, elas metabolizam açúcares oxidativamente e nenhuma é fermentativa ou fotossintética. O tamanho é de cerca de 1–5 µm de comprimento e 0,5–1,0 µm de largura. Este gênero contém principalmente *Pseudomonas* spp. fluorescentes, bem como algumas espécies não fluorescentes.

3.3.4 Gênero *Chromobacterium*

A espécie *Chromobacterium subtsugae* é uma bactéria Gram-negativa, identificada em 2007 nos Estados Unidos, que tem como características a pigmentação violeta e a mobilidade flagelar. Essa pigmentação, denominada violaceína, apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Essa bactéria apresenta crescimento ótimo a 25 °C, em pH 6,5–8,0 com até 1,5% de NaCl adicionado ao meio (MONNERAT *et al.*, 2020). Com a temperatura exercendo efeito significativo sobre o número de unidades formadoras de colônias após 96 horas, bem como também o efeito quadrático da concentração de NaCl sobre a densidade óptica em espectrofotômetro (ARAÚJO; RODRIGUES; DEMIATE, 2023).

Além disso, possui um gene que codifica uma proteína inseticida semelhante ao encontrado em *Photorhabdus luminescens* e *Xenorhabdus nematophila*. A maior mortalidade de insetos tratados com *C. subtsugae* ocorre em razão da combinação de células vivas e de compostos (toxinas inseticidas) presentes no meio líquido, os quais foram produzidos na fase estacionária de crescimento da bactéria (Martin et al., 2007).

As bactérias produtoras de toxinas são particularmente atraentes como agentes ativos para o desenvolvimento de novos produtos, uma vez que frequentemente possuem um espectro mais amplo de atividade, além de benefícios de formulação e aplicação (MONNERAT et al., 2020).

3.3.5 Gênero *Azospirillum*

O gênero pertencente à classe Alphaproteobacteria tem sido considerado importante entre as bactérias promotoras de crescimento de plantas. As espécies de *Azospirillum* apresentam ampla ocorrência nos ambientes, incluindo regiões tropicais, subtropicais e temperadas; a maioria delas foram descritas de raízes de plantas e amostras de solo. Alguns membros do gênero são reconhecidos como biofertilizadores devido às suas características de promover o crescimento das plantas, como fixação biológica de nitrogênio, produção de hormônios, solubilização de fosfato, e produção de sideróforos. Além de possuir atividades de biocontrole de fitopatógenos. Todas essas características tornam algumas espécies de *Azospirillum* atrativas para uso na agricultura (PEDRAZA et al., 2020).

A espécie *Azospirillum brasilense* é a espécie mais amplamente conhecida e foi isolada no Brasil, da rizosfera de *Digitaria eriantha*. Johanna Döbereiner (1924-2000), uma engenheira agrônoma brasileira, que descobriu a bactéria *Azospirillum* e estudou sua capacidade de fixar nitrogênio. Sua pesquisa revolucionou o cultivo de soja no Brasil e ajudou a reduzir a dependência de fertilizantes nitrogenados. Vários grupos de pesquisa no Brasil apresentaram resultados impressionantes de aumento no crescimento de raízes, produção de biomassa, rendimento de grãos, absorção de nutrientes e água e aumento da tolerância a estresses abióticos devido à inoculação com duas linhagens da espécie (SANTOS, NOGUEIRA e HUNGRIA, 2021).

3.3.6 Gênero *Rhizobium*

As bactérias desse gênero são gram-negativas, não produzem esporos, possuem o formato de bastonetes com um tamanho de 0,5-1,0 x 1,2-3,0 µm, móveis por 1 a 6 flagelos peritricosos e em algumas linhagens foram descritas fimbrias. São aeróbicas, com temperatura ótima para crescimento entre 25 e 30°C, mas algumas espécies podem crescer em temperaturas maiores que 40°C. O pH ótimo para crescimento está entre 6-7, porém possui uma faixa de pH de 4-10. Os tempos de geração das estirpes de *Rhizobium* são de 1,5 a 5,0 h. As colônias geralmente são brancas ou bege, circular, convexa, semi-translúcida ou opaca, sobressalente e mucilaginosa, geralmente com 2-4 mm de diâmetro em 3-5 dias em meio de cultura *yeast-mannitol-mineral salts agar* (YMA). Todas as espécies conhecidas de *Rhizobium* incluem cepas que induzem hipertrofismos em plantas como nódulos radiculares com ou sem fixação simbiótica de nitrogênio. Algumas células de espécies bacterianas simbióticas entram nas células do pelo da raiz de plantas leguminosas (Família Leguminosae) por invaginação ou por feridas (“entrada por rachadura”) e provocam a produção de nódulos radiculares nos quais as bactérias se envolvem como simbiontes intracelulares, geralmente fixando nitrogênio. Muitos genes bem definidos de nodulação (nod) e fixação de nitrogênio (nif) são agrupados em grandes plasmídeos ou megaplasmídeos (pSyms). A transferência de plasmídeo entre espécies resulta na expressão e herança estável das propriedades interativas da planta particular da espécie doadora de plasmídeo. A especificidade do hospedeiro da planta é geralmente para alguns gêneros de leguminosas, mas pode, em algumas linhagens, incluir uma ampla variedade de gêneros de leguminosas e é, até certo ponto, determinada pela estrutura química dos fatores Nod de lipoquito-oligossacarídeos produzidos. Essas moléculas semelhantes à quitina induzem a organogênese do nódulo na ausência de bactérias. Nos nódulos radiculares, as bactérias ocorrem como endófitos que exibem formas pleomórficas, denominadas “bacteroides”, que reduzem ou fixam o nitrogênio atmosférico gasoso em uma forma combinada utilizável pela planta hospedeira (KUYKENDALL *et al.*, 2015).

Bactérias desse gênero são colonizadoras frequentes da rizosfera de uma ampla gama de plantas e podem habitar de forma endofítica plantas não leguminosas. Nesses habitats rizosféricos e endofíticos, eles podem exibir vários efeitos promotores do crescimento das plantas, como produção de hormônios, solubilização de fosfato e supressão de patógenos (SESSITSCH *et al.*, 2002).

3.3.7 Gênero *Bradyrhizobium*

As *Bradyrhizobium* apresentam um formato de bastonete com um tamanho entre 0,5-0,9 x 1,2-3,0 μm , sob condição adversa de crescimento apresentam pleomorfismo, são gram-negativas e não produzem esporos. Geralmente contém grânulos de poli- β -hidroxibutirato que são refratários à microscopia de contraste de fase. São móveis por um flagelo polar ou subpolar e a presença de fimbrias não foi descrita. São aeróbicas, possuem uma temperatura ótima para crescimento na faixa de 25-30°C e pH ideal entre 6-7, porém linhagens de solos ácidos podem apresentar valores mais baixos de pH ideal. As colônias são circulares, opacas, raramente translúcidas, brancas, convexas, tendem a ter uma textura granulada e não passam de 1,0 mm de diâmetro em menos de 5-6 dias de incubação em meio de cultura A1EG. Apenas após 3-4 dias que apresenta turbidez em meio de cultura líquido em agitação. O tempo da geração é de 9-18h. Os organismos são caracteristicamente capazes de entrar nos pelos radiculares de plantas leguminosas de zona tropical e algumas de zona temperada (família Leguminosae) e incitar a produção de nódulos radiculares, nos quais as bactérias ocorrem como simbiontes fixadores de nitrogênio intracelular. Algumas linhagens, especialmente *B. elkanii*, fixam nitrogênio no estado de vida livre quando examinadas sob condições especiais (KUYKENDALL, 2015).

3.3.8 Gênero *Nitrospirillum*

Anteriormente pertencia ao gênero *Azospirillum*, mas foi reclassificado em 2014 por LIN *et al.*, de *Azospirillum amazonense* para *Nitrospirillum amazonense*. Primeiramente foi isolada de plantas da Amazônia brasileira, mas também foram isoladas de tecidos de diferentes variedades de cana-de-açúcar e selecionadas para formulação de bioinoculantes de cana-de-açúcar, visando reduzir o uso de fertilizantes nitrogenados, sendo uma espécie fixadora de nitrogênio. Há estudos demonstrando os ganhos na morfologia, nutrição das plantas de cana-de-açúcar, promovendo o crescimento com a aplicação da bactéria (BONASSI, 2024; REIS, 2020).

3.4 Principais pragas

De acordo com o Centro de Tecnologia Canavieira (2018) as principais pragas da cana-de-açúcar são: broca da cana (*Diatraea saccharalis*), bicudo da cana (*Sphenophorus levis*), cigarrinha das raízes (*Manaharva fimbriolata*), broca dos rizomas (*Migdolus fryanus*), broca gigante (*Telchin licus*), cupins (*Heterotermes tenui*, *Cornitermes cumulans*, *Neocapritermes opacus*, *Embiratermes* sp., *Procornitermes triacifer*), lagarta desfolhadora, lagarta elasma e formigas cortadeiras.

3.5 Bicudo da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*)

O bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae), atualmente é uma praga primária dos canaviais, primeiramente devido à sua distribuição na principal região canavieira do país, ocorrendo nas principais regiões produtoras de cana-de-açúcar do estado de São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (MORAES; ÁVILA, 2013; DINARDO-MIRANDA, 2018).

Os danos gerados pelo ataque podem levar à morte das touceiras. Além da redução na produtividade agrícola, qualidade de matéria prima e longevidade dos canaviais. Em determinados locais têm-se observado cerca de 50% a 60% de perfilho atacados, provocando uma queda na produtividade na ordem de 20 a 30 toneladas ha/ano (LEITE et al., 2012; NETO & GARCIA, 2016).

3.5.1 Bioecologia

Uma outra razão para o inseto ser uma praga de grande importância na cultura, é sua bioecologia, tornando-o de difícil controle. O ciclo biológico de *S. levis* varia de 58 a 307 dias, com média de 173,4 dias em condições de laboratório. Entre machos e fêmeas a longevidade pode chegar de 247 a 249 dias respectivamente, apresentando até 5 gerações em 12 meses (DEGASPARI et al., 1987).

A reprodução do *Sphenophorus levis* é sempre sexuada e os adultos atingem a maturidade sexual aproximadamente duas semanas após emergirem. Ao atingir essa fase, se inicia o comportamento do acasalamento, tendo um tempo total de cópula num único dia por casal uma média de 7 horas. O período de pré-oviposição dura em

média entre 5 e 11 dias, apresentando um pico máximo de oviposição entre o 7º e 14º dias após a cópula, com a postura diária reduzindo gradativamente com o passar do tempo após estes picos. Os ovos são postos de forma isolada, sendo de 1 a 4 ovos por fêmea. O número de ovos postos e a sua viabilidade, variam de acordo com a idade em quem as fêmeas foram acasaladas, havendo um aumento dos números nas que foram acasaladas entre 14 e 35 dias de vida, comparativamente as mais novas (BARRETO-TRIANA, 2009). De acordo com Precetti e Téran (1983), a capacidade média de oviposição das fêmeas é de 40 ovos, podendo atingir 60 a 70 ovos, sendo que 75% destes são depositados na primeira metade da vida.

Para a execução da postura, a fêmea abre com o rostro um orifício no colmo da cana e os ovos são postados na parte interna, a uma profundidade que varia desde a superfície até um máximo de 4 mm. Ao realizar a postura os ovos apresentam uma cor branco-leitosa (Figura 5) e vai escurecendo conforme se aproxima o momento da eclosão da larva. A fase possui uma duração média de 8,4 dias. (DEGASPARI et al. 1987).



Figura 5 - Ovos de *Sphenophorus levis*.

Fonte: CTC (2018)

Ao eclodir, a larva apresenta uma cor branco-leitosa (Figura 6) e com o desenvolvimento e a idade adquire coloração amarelada, tendo uma duração média de 35,6 dias variando de 26 a 50 dias, com um pico populacional em junho-julho. Possui sobre o dorso e no primeiro segmento torácico, junto à cabeça, uma mancha castanho-escuro e espiráculos visíveis neste segmento e no abdômen. São ápodas, enrugadas e abrem galerias na planta (GALLO et al., 2002). Pouco antes da larva passar para a fase pupal, ela amplia a galeria em que se encontra, preparando a “câmara pupal”. Então ela

praticamente encerra seus movimentos, para de se alimentar, diminui de tamanho e passa à fase de pupa.



Figura 6 - Larva de *Sphenophorus levis*.
Fonte: de autoria própria.

Logo no início da fase, a pupa possui coloração branco-leitosa do tipo exarada e torna-se castanha conforme se aproxima a emergência do adulto (Figura 7). Possui uma duração média de 10,50 dias, variando de cinco a treze dias.



Figura 7 - Pupa de *Sphenophorus levis* em câmara pupal no interior do colmo.
Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.

O adulto geralmente é encontrado abrigado abaixo do nível de solo. Em muitos casos o *Sphenophorus levis* é confundido com o *Metamasius hemipterus* devido às suas semelhanças, mas podem ser diferenciados observando a coloração do corpo: alaranjado para *M. hemipterus* e castanho-avermelhado para *S. levis*. Porém caracterizações considerando apenas a coloração pode gerar erros, pois existem insetos

que possuem policromatismo. Portanto uma outra característica interessante para diferenciar as espécies são as manchas no pronoto. No *Sphenophorus levis*, há três manchas negras longitudinais, a mancha central apresenta um formato de losango e é mais curta, estendendo-se entre a margem apical até um pouco além da metade do pronoto; as manchas laterais são irregulares, distribuídas por quase toda a extensão do pronoto, desde a margem basal até a margem apical com constrição próximo a margem apical. No *Metamasius hemipterus* a mancha central estende-se entre as margens apical e basal do pronoto, com largura mais ou menos uniforme, ou com regiões mais alargadas na parte mais próxima ao ápice ou ao meio. As duas manchas laterais, com formato triangular, estendem-se da margem basal do pronoto até aproximadamente a metade, sendo mais largas na base e estreitas no ápice (ALENCAR, 2016).

O macho normalmente é menor do que a fêmea, variando entre 7,70 mm e 11,20 mm de comprimento. A fêmea mede entre 10,50 mm e 13,30 mm. Porém o tamanho não é um bom indicativo para separar o sexo, pois há populações em que os insetos possuem tamanhos variados, machos grandes e pequenos, fêmeas grandes e pequenas, portanto podendo apresentar tamanhos similares ou machos maiores do que uma fêmea da população. O melhor para diferenciação, é a observação da extremidade do abdome e a pilosidade. O macho apresenta a região ventral mais pilosa, principalmente na coxa dianteira, onde nas cerdas se agrupam, dando um aspecto de esponja e tem o pigídio mais arredondado (Figura 9) do que as fêmeas, que possuem um pigídio truncado, com formato semelhante a letra V (Figura 8).



Figura 8 - Fêmea adulta de *Sphenophorus levis*. Presença de pouca pilosidade e pigídio truncado (setas).

Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.



Figura 9 - Macho adulto de *Sphenophorus levis*. Presença de pilosidade abundante e pigídio arredondado (setas).

Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.

Embora o adulto apresente asa, não foi relatado ainda ele se locomovendo através do voo. Em condições de laboratório, a longevidade do adulto é de sete a 249 dias para fêmea e sete a 247 dias para macho. Adulto coletado no campo e mantido em laboratório para obtenção de ovos viveu até 200 dias.

Em um estudo realizado por Barreto-Triana (2009), foram liberados adultos de *Sphenophorus levis* e avaliados à 5 e 10 metros do ponto de liberação. A recaptura foi baixa até o 21º dia, correspondendo a 2% dos indivíduos liberados. Demonstrando uma baixa mobilidade da espécie.

3.5.2 Monitoramento

Para o monitoramento dos canaviais é feito a avaliação das soqueiras de cana de 2 a 3 meses após a colheita, visitando estas áreas e percorrendo estas soqueiras novas procurando os sintomas característicos promovidos nas canas pela praga, que é o secamento das folhas mais velhas evoluindo para o secamento das folhas mais novas. É feito um caminhamento para esta procura (*roguing*) e, uma vez detectada a praga no talhão, fica caracterizada a sua ocorrência nessa área, atingindo assim o mapeamento da praga (Figura 9). Esta procura deve ser feita avaliando-se por volta de 12 ruas de cana por amostrador, e sempre que verificar o sintoma de secamento ou “coração morto”. O amostrador deverá retirar a cana danificada com a finalidade de avaliar a causa. Nesta avaliação, quando for determinado o nível de dano superior a 3% nos tocos atacados, deve-se adotar a metodologia de controle de acordo com a época de corte da cana. Se nas canas avaliadas após o segundo corte a porcentagem de tocos atacados estiver em nível de dano entre 1,0% e 2,9%, estas áreas deverão novamente ser avaliadas imediatamente após o terceiro corte e seguir novamente a recomendação de controle a partir do desenvolvimento da soqueira (ALMEIDA, 2020).

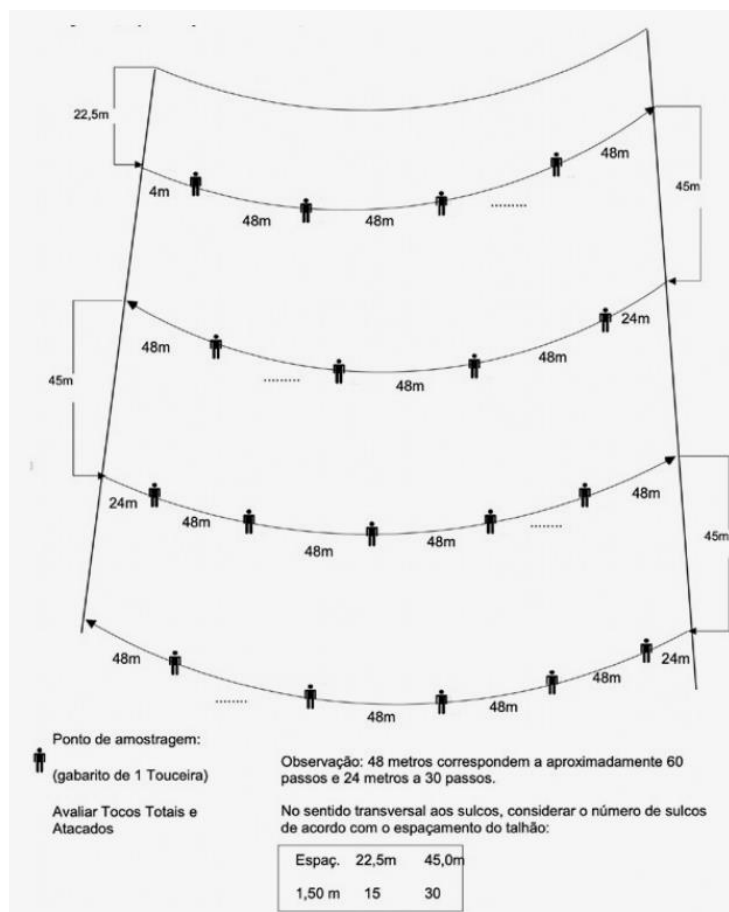


Figura 10 - Esquema para o levantamento populacional e danos do bicudo da cana-de-açúcar, em 5 pontos por hectare em áreas de cana soca.

Fonte: ALMEIDA, 2020.

3.5.3 Controle

O controle de *S. levis* é feito de diferentes maneiras, se utilizando do controle químico, cultural e biológico. No controle químico são registrados 26 produtos comerciais para o controle do inseto-praga na cultura da cana-de-açúcar, aplicados através de pulverizações na cana soca no início da brotação, sobre a linha de plantio ou se fazendo uma aplicação de jato dirigido na operação de plantios novos, aplicando o produto sobre as mudas (AGROFIT, 2024). A maioria dos produtos comerciais apresentam um modo de ação através de contato ou ingestão e devido à característica comportamental e da bioecologia do bicudo-da-cana de ficar abaixo do solo, dentro dos rizomas e no colo do colmo, é um controle que sozinho apresenta dificuldades em suprimir grandes populações de *S. levis*.

Em um estudo realizado por Nascimento (2024), a aplicação dos produtos comerciais Engeo Pleno S, Regent Duo, Warrant 700 WG, Altacor e Zeus via fertirrigação com vinhaça para o controle do bicudo-da-cana, não promoveu a redução da infestação do inseto nos perfilhos novos, aos 150 dias após aplicação, apresentando eficiência semelhante ao cortador de soqueira. Já Xavier (2020) avaliou níveis de dano econômico para o controle químico (Alfa-cipermetrina 120 + fipronil 180 SC, Bifentrina 400 EC, Bifentrina 50 + carbossulfano 150 EC, Clorantraniliprole 650 WG, Fipronil 200 EC, Imidacloprido 700 WG, Imidacloprido 728 SC, Lambda-cialotrina 106 + tiametoxam 1411 SC) e biológico (*Beauveria bassiana*) do *S. levis* em cultivos de cana-de-açúcar de sequeiro e irrigado, em que a intensidade de ataque do inseto foi monitorada em lavouras comerciais de cana-de-açúcar por quatro anos. Os valores de níveis de dano econômico para realização de controle químico da praga em cultivos de sequeiro e irrigados foram 5,93% e 4,85% de tocos atacados, respectivamente. Já para realização de controle biológico de *S. levis* com o fungo *B. bassiana* em cultivos de sequeiro e irrigados, os valores do NDE foram 4,15% e 3,40% de tocos atacados, respectivamente.

Porém Custódio, Martinelli e Santos (2017) obtiveram resultados de que o princípio ativo Fipronil proporcionou melhores resultados no controle populacional e redução de danos causados pela infestação de *S. levis*, quando avaliados em comparação com *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

Para o controle cultural é realizado a destruição mecânica da soqueira com um cortador de soqueira, que destrói ou expõe as larvas e pupas ao sol, na época seca do ano, e adotado um vazio sanitário por pelo menos 4 a 5 meses (AGROLINK, 2021).

3.6 Controle Biológico

Controle biológico é um fenômeno natural que consiste na regulação do número de plantas e animais por inimigos naturais, os quais se constituem nos agentes de mortalidade biótica. Assim, todas as espécies de plantas e animais têm inimigos naturais atacando seus vários estágios de vida. Dentre tais inimigos naturais existem grupos bastante diversificados, como insetos, vírus, fungos, bactérias, nematoides, protozoários, rickettsias, micoplasmas, ácaros, aranhas, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (PARRA et al., 2002).

No controle biológico clássico há importação e colonização de parasitoides ou predadores, visando ao controle de pragas exóticas (eventualmente nativas). De maneira geral, as liberações são realizadas com um pequeno número de insetos (liberações inoculativas), por uma ou mais vezes no mesmo local; por isso, o controle biológico, nesse caso, é visto como uma medida de controle a longo prazo, pois a população dos inimigos naturais tende a aumentar com o passar do tempo e, portanto, somente se aplica a culturas semiperenes ou perenes. Um exemplo notável inclui a utilização nos EUA, de moscas decapitadoras (espécies de *Pseudacteon* spp.) no controle de formiga de fogo exóticas. Por causa do longo, rigoroso e alto custo do processo de descoberta de novas espécies, testes, quarentena e criação desses inimigos naturais, os programas de controle biológico clássico são tipicamente conduzidos por pesquisadores em agências governamentais ou com financiamento e parceria de universidades (JEFFERS e CHONG, 2021).

Já o controle biológico conservativo, refere-se à população de inimigos que ocorrem naturalmente. Atendendo a um dos preceitos básicos de controle biológico, ou seja, conservação, tais inimigos naturais devem ser preservados e se possível, aumentados por meio da manipulação de seu ambiente de forma favorável, usando inseticidas seletivos em épocas corretas, reduzir dosagens de produtos químicos, evitar práticas culturais inadequadas, preservar habitat ou fontes de alimentação para inimigos naturais (VARGAS et al., 2023). Como a implementação e conservação de plantas frutíferas para serem utilizadas como base de manutenção e/ou incremento da população de parasitoides capazes de atuar como agentes de controle biológico de espécies de *Anastrepha* spp. de importância econômica (ADAIME et al., 2018). São muito importantes em programas de manejo de pragas, pois a preservação e a manutenção dos inimigos naturais são imprescindíveis para estabelecer o equilíbrio biológico e reduzir os custos de produção (SANTOS, 2006).

O controle biológico aplicado (CBA) trata-se de liberações inundativas após a criação massal em laboratório, visando a redução rápida da população da praga para seu nível de equilíbrio. Esse tipo de controle biológico é bem-aceito pelo usuário, pois tem um tipo de ação rápida, muito semelhante à de inseticidas convencionais. Como comentado anteriormente, quando apenas existia o controle biológico clássico, uma vez que as técnicas de criações de insetos eram incipientes, entre as desvantagens do controle biológico apontadas estavam sua ação lenta e sua aplicação exclusivamente em culturas perenes ou semiperenes. Com o desenvolvimento do controle biológico aplicado, tais

desvantagens foram superadas. O CBA refere-se ao preceito básico de controle biológico atualmente chamado de multiplicação (criações massais), que evoluiu muito com o desenvolvimento das dietas artificiais para insetos, especialmente a partir da década de 70 (PARRA et al., 2002). Esses “inseticidas biológicos” são mais utilizados para parasitoides ou predadores nativos, embora possam ser aplicados a inimigos naturais exóticos. Nesse tipo de controle não se espera estabelecimento dos indivíduos liberados nas áreas visadas. Existem muitos casos de sucesso de CBA, sendo bastante frequente, por exemplo, a liberação de *Trichogramma* spp., de forma inundativa, em diversos países do mundo e o controle de *Diaphorina citri* pelo parasitoide *Tamarixia radiata* (PARRA e JUNIOR, 2019). Uma das alternativas ao controle biológico de *S. levis* e que tem se mostrado efetivo, é o uso dos nematoides entomopatogênicos (SILVA, 2021).

3.7 Fungos entomopatogênicos (FEs)

Os primeiros testes com fungos entomopatogênicos foram realizados pelo russo Metschnikoff no final do século XIX, quando avaliou o potencial de *Metarhizium anisopliae* para o controle de uma espécie de besouro. Os FEs são organismos de tamanho, coloração e forma variáveis, multicelulares que formam um conjunto de hifas denominado micélio. No caso dos FEs anamórficos (ex.: *Metarhizium* e *Beauveria*), as hifas são septadas e produzem esporos assexuais (conídios) em estruturas especializadas chamadas de conidióforo. Os conídios têm a função chave de infectar o hospedeiro e disseminar o fungo no ambiente. A aplicação inundativa de fungos anamórficos é a mais utilizada no Brasil e no mundo, devido ao seu rápido efeito de supressão da praga independente da sua densidade populacional, muito utilizado contra pragas de culturas anuais, como hortaliças e grãos, cujo ciclo biológico é mais rápido e são prolíficas demandando elevadas dosagens do micopesticida para prover um controle satisfatório. A introdução inoculativa de FEs tem sido mais difundida nos cultivos semiperenes e perenes, tais como mandioca, café, frutíferas e florestas (MASCARIN & PAULI, 2010).

3.7.1 *Beauveria bassiana*

A *Beauveria bassiana* pertence ao filo Ascomyta, ordem Hypocreales e da família Cordycipitaceae. A infecção começa por meio da fixação de conídios à cutícula do hospedeiro por meio de forças físicas, seguidas pela germinação e penetração das camadas cuticulares com o auxílio de enzimas hidrolíticas (por exemplo, proteases, lipases, quitinases), pressão mecânica e outros fatores. Quando as hifas em crescimento alcançam a hemolinfa rica em nutrientes, o fungo é capaz de brotar em blastosporos unicelulares semelhantes a leveduras (ou corpos hifais) que são estruturas especializadas para proliferar e explorar rapidamente nutrientes, colonizar tecidos internos e escapar do sistema imunológico do hospedeiro. Uma variedade de metabólitos tóxicos (peptídeos antimicrobianos) é produzida durante a colonização. Eles estão envolvidos na supressão imunológica do hospedeiro, acompanhada pela destruição dos tecidos internos do hospedeiro e pela depleção de nutrientes, levando, portanto, à morte do hospedeiro (Figura 11). Historicamente, *Beauveria*, assim como os outros ascomicetos entomopatogênicos, tem sido usada de forma inundativa, em um paradigma químico, por assim dizer. Normalmente, quantidades muito grandes de propágulos, geralmente conídios aéreos, são aplicados ao inseto alvo e seu habitat. *Beauveria* é considerado um agente de biocontrole ambientalmente seguro que representa ameaça zero ou mínima à saúde humana e é geralmente inofensivo para organismos não alvo (MASCARIN & JARONSKI, 2016).

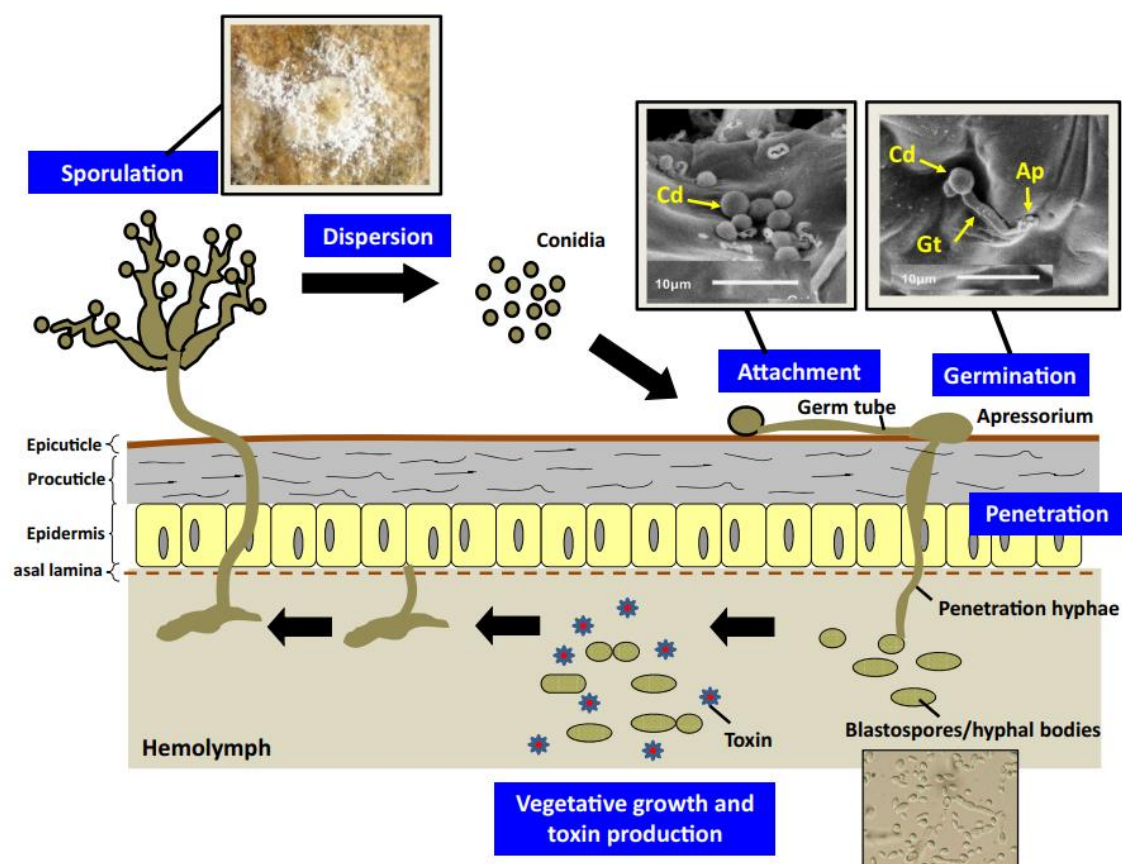


Figura 11 - Ciclo básico da relação patógeno-hospedeiro de *Beauveria bassiana*.

Fonte: Mascarin & Jaronski, 2016.

3.7.2 *Metarhizium anisopliae*

O *Metarhizium anisopliae* é um fungo anamórfico, também pertencente ao filo Ascomyta, como a *B. bassiana*, é a espécie mais estudada do gênero *Metarhizium*. As estruturas reprodutivas da espécie (o anamorfo, a forma mais comum de se encontrar) compreende conidióforos e conídios. Estruturas leveduriformes ou blastósporos e apressórios são produzidos por *M. anisopliae* através da diferenciação micelial. Blastósporos podem funcionar em certos casos como unidades reprodutivas e são produzidos em culturas submersas e na hemolinfa de insetos hospedeiros. Os apressórios, formados na extremidade das hifas, podem estar envolvidos na patogenicidade do fungo e têm a função de iniciar a penetração epicuticular e procuticular do tegumento do inseto. A relação fungo-hospedeiro ocorre por meio da adesão e germinação de conídios na superfície do inseto, seguida pela penetração de hifas pela cutícula. O processo de colonização do hospedeiro inicia após a penetração, com as hifas penetrantes se tornando

mais espessas e ramificadas dentro do tegumento e da hemocele do inseto, formando blastósporos. As hifas continuam a crescer e invadir vários órgãos internos após a morte do hospedeiro e, subsequentemente, emergirão do corpo do inseto e produzirão conídios que se disseminam e infectam outros indivíduos (Figura 12). *Metarhizium anisopliae* demonstra considerável versatilidade metabólica e ecológica e foi observado colonizando a rizosfera e aderindo às superfícies das raízes das plantas, e pode influenciar significativamente esse nicho ecológico repelindo e matando insetos do solo. Estudos mostraram que alguns fungos endofíticos patogênicos de insetos, como *Metarhizium*, são capazes de transferir nitrogênio derivado de insetos para as raízes das plantas, provavelmente em troca de açúcares vegetais. *Metarhizium* tem uma herança filogenética de simbiose vegetal (ou seja, o gênero está intimamente relacionado a outros endófitos) e evoluiu como um patógeno generalista de insetos (TIAGO, OLIVEIRA e LIMA, 2014).

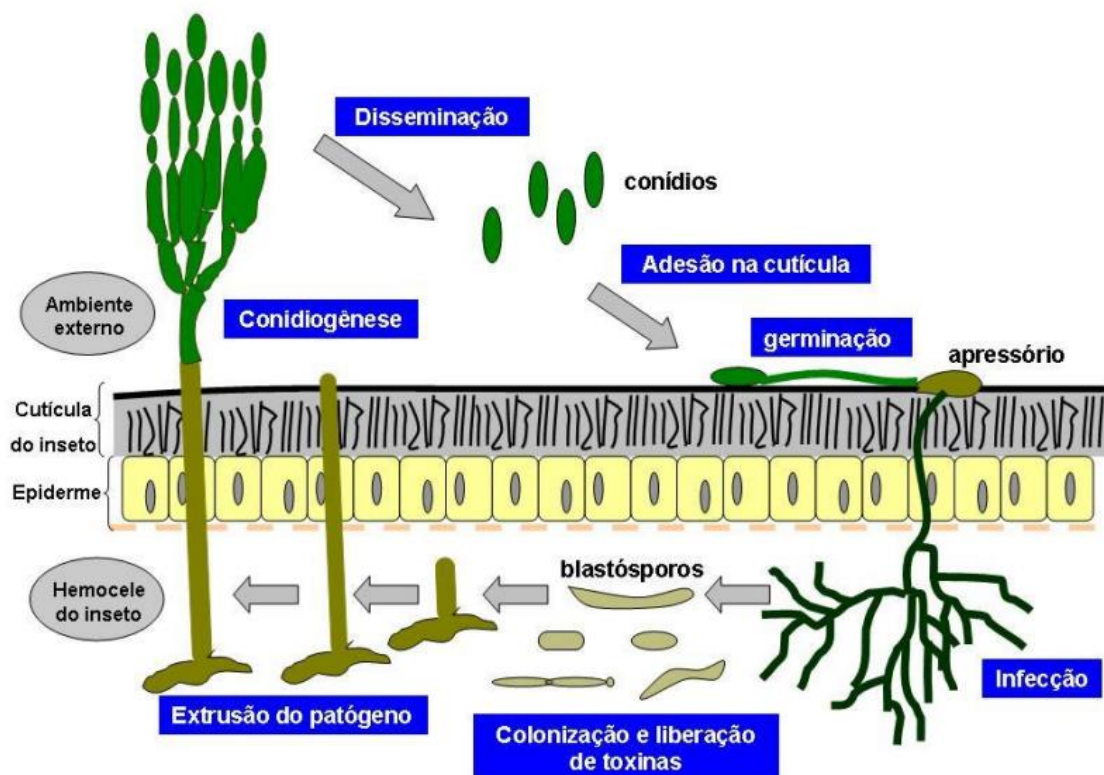


Figura 12 - Ciclo básico da relação patógeno-hospedeiro de fungos anamórficos. Ilustração: ciclo de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales) sobre *Mahanarva fimbriolata* (cigarrinha-da-raiz cana-de-açúcar).

Fonte: Mascarin & Pauli, 2010.

3.7.3 Isaria javanica

A espécie também pertence à família Cordycipitaceae. Em um estudo realizado por Sani *et al.* (2023), sementes de tomate tratadas com uma suspensão fúngica de *I. javanica* e *P. lilacinum* permitiram sua recuperação dos tecidos vegetais (raiz, caule e folha) até 60 dias após a inoculação. Ambos os isolados endofíticos também causaram mortalidade significativa de *Bemisia tabaci* adulto em mudas inoculadas com, *I. javanica* e *P. lilacinum* em comparação ao tratamento controle. Demonstrando de que isolados endofíticos de *I. javanica* e *P. lilacinum* têm potencial de biocontrole para uso contra moscas-brancas e podem ser explorados como promotores de crescimento de plantas. Em outro estudo realizado por Kang *et al.* 2018, os autores apresentaram resultados indicando que isolados de *I. javanica* podem ser usados como novos agentes de biocontrole para o controle simultâneo de pulgões e doenças fúngicas, como antracnose e requeima de *Phytophthora*, em uma estrutura de manejo integrado de pragas para pimenta vermelha.

3.7.4 Purpureocillium lilacinum

O gênero pertence à família Ophiocordycipitaceae e foi encontrado em uma ampla variedade de ambientes terrestres e marinhos. Eles são frequentemente isolados de insetos, nematoides e da rizosfera de muitas plantações. A espécie pode crescer em uma ampla faixa de temperaturas de 8 a 38 °C com temperaturas ótimas de 26–30 °C. Ela também tem uma ampla tolerância ao pH e pode crescer em uma variedade de substratos. Este fungo tem potencial promissor como um agente de biocontrole para controlar nematoides das galhas das raízes das culturas. O parasitismo dos nematoides é que as hifas invadem diretamente a superfície dos ovos dos nematoides e então produzem apressórios na superfície, que infectam os ovos dos nematoides após adsorção. No processo de infecção, *P. lilacinum* secreta uma variedade de enzimas, como serina protease e quitinase, que podem levar à degradação de componentes de proteína e quitina da epiderme do nematoide, o que é propício à invasão de fungos e destruição de componentes celulares. Foi demonstrado que o filtrado de fermentação de *P. lilacinum* pode inibir o crescimento micelial dos fungos patogênicos *Helminthosporium maydis* e *Fusarium graminearum*, e tem um efeito inibitório significativo na germinação de esporos de *Fusarium oxysporum* e que a espécie apresenta uma diversidade química em

seus metabólitos secundários, tendo potencial uso e estudos, não só na agricultura como na medicina, como a pesquisa e desenvolvimento de medicamentos anticâncer e antibióticos (CHEN e HU, 2022).

Em um estudo realizado por Khan e Tanaka (2023), demonstraram que *P. lilacinum* pode ser usado como um fungo promotor do crescimento de plantas e um nematicida biológico para o controle de doenças de nematoides das galhas em berinjelas. Os autores realizaram um ensaio em vaso no qual berinjelas cultivadas no solo foram tratadas com *P. lilacinum* seguido de inoculação com *Meloidogyne incognita*. Os resultados indicaram que *P. lilacinum* reduziu efetivamente a população de nematoides e o número de galhas nas raízes das plantas. Além disso, a aplicação de *P. lilacinum* resultou em melhorias significativas no crescimento e biomassa das plantas, mesmo sob infecção por nematoides, enquanto melhorou os pigmentos fotossintéticos das plantas, ou seja, clorofila e carotenoides.

3.7.5 *Trichoderma harzianum*

Pertencente ao filo Ascomycota e à família Hypocreaceae, os primeiros relatos de *Trichoderma* spp. datam de cerca de 1794, quando Persoon isolou quatro amostras e realizou caracterizações, das quais apenas o *T. viride* ainda permanece como identificado como *Trichoderma* e conhecidos desde 1920 pela sua capacidade de agir como agentes de biocontrole. A reprodução de *Trichoderma* spp. é geralmente observada na forma assexual, sendo encontrado nos solos, em plantas herbáceas e lenhosas, em uma ampla faixa de temperaturas, produzindo esporos esverdeados. Além disso, as espécies apresentam um crescimento rápido, invasivo e prolífico, portanto, são capazes de competir agressivamente com outros microrganismos pelo espaço, nutrientes e luz, são conhecidas há muito tempo não apenas pelo controle de doenças de plantas, mas também por sua capacidade de aumentar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, elevada capacidade reprodutiva, capacidade de modificar a rizosfera, capacidade de crescer em condições adversas, competência no uso de nutrientes, forte agressividade contra fungos fitopatogênicos e eficácia no suporte ao crescimento das plantas e mecanismos de defesa aprimorados (WAGHUNDE et al., 2016).

O *Trichoderma harzianum* é um fungo agressivo, de rápida proliferação, produtor de esporos abundantes e que compete fortemente por luz, minerais e espaço.

Além de atuar ativamente no controle de patógenos, a espécie atua na promoção de crescimento interferindo na combinação de fatores como auxina, giberelina e etileno, melhorando a germinação das sementes, a estatura da cultura e a massa seca quando aplicado ao solo e aumenta a resistência das plantas a condições de estresse. O fungo libera moléculas elicitoras que promovem o crescimento das plantas, raízes e disponibilidade de nutrientes, estimulando a expressão de genes envolvidos no sistema de defesa da planta. O *T. harzianum* pode ser aplicado em tratamento de sementes, em tratamento de mudas e imersão de raízes, e em tratamento do solo. Portanto, a espécie pode aumentar o potencial das plantas de resistir a diversos fatores bióticos e abióticos associados à perda de produtividade (PANI; KUMAR; SHARMA, 2021).

Os fungos *Trichoderma* spp. podem ser utilizados no controle de variados patógenos, como: *Macrophoma phaseolina*, *Sclerotinia sclerotium*, *Rhizoctonia solanum*, *Phytophthora sojae*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp. e *Rosellinia necatrix*. De acordo com Infante et al. (2009), a ação de controle desses fitopatógenos pode ser feito através da competição por substrato, pela produção de substâncias antibióticas que inibem o crescimento do outro microrganismo (antibiose), desativação de enzimas do patógeno, micoparasitismo ou indução de resistência, como relatado por Pascholati et al. (2019).

3.8 Nematoide Entomopatogênico (NEP)

Os nematoides podem ser encontrados em ambientes aquáticos, terrestres e no solo. São vermes microscópicos, cilíndricos e alongados, que podem ser encontrados em todos os ambientes onde há possibilidade de vida. Eles podem viver em águas doces, marinhas e no filme de água do solo. Com base nos diferentes hábitos alimentares, os nematoides podem ser divididos em diferentes grupos (tróficos) funcionais (parasitos de plantas, parasitos de animais, fungívoros, bacteriófagos, carnívoros, onívoros e outros que se alimentam de eucariotos unicelulares).

Embora existam 11 famílias de nematoides que oferecem potencial para o controle biológico de insetos pragas, o recente enfoque tem sido basicamente sobre 4 famílias: Mermithidae, da classe Adenophorea, e Neotylenchidae, Steinernematidae e Heterorhabditidae, da classe Secernentea. Os nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* já são produzidos comercialmente para uso no controle de pragas agrícolas, de importância veterinária e urbanas (GEORGIS et al., 2006, GREWAL et al.,

2001). São utilizados como controladores biológicos de diversas pragas agrícolas que vivem no solo ou possuem hábitos crípticos, pois são patogênicos à diversas espécies de insetos, apresentando uma particularidade que é a associação simbiote com bactérias entomopatogênicas dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus* (associação com espécies dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, respectivamente). Essas bactérias são as principais responsáveis pela rápida morte do hospedeiro por septicemia (DOLINSKI & MOINO, 2006).

No Brasil a primeira pesquisa sobre nematoides entomopatogênicos foi realizada por Lauro Travassos em 1927 ao estudar a espécie *Aplectana kraussei*, concluindo que se tratava de um novo gênero *Steinera*, nomenclatura que foi alterada em 1982 por Wouts et al., para *Steinernema*.

Os NEPs apresentam, durante seu ciclo de vida, uma forma larval de resistência conhecida como Juvenil Infectante (JI), encontrada livre no solo. Este JI possui duas cutículas superpostas e seus orifícios naturais (boca e ânus) encontram-se fechados, de forma a evitar dessecação e conferir maior tempo de sobrevivência. Dentro de seu tubo digestivo, os JIs carregam uma monocultura de bactérias. Estas bactérias pertencem a uma espécie (uma para cada espécie de nematoide) e permanecem com crescimento e metabolismo controlado dentro do intestino do JI, até que este encontre um inseto para infectar. Os JIs infectam este inseto adulto ou larva, penetrando em orifícios como boca, ânus ou espiráculos ou ainda perfurando regiões menos resistentes do exoesqueleto. Algumas espécies de NEPs possuem um dente córneo na região anterior do corpo que facilita a penetração. Uma vez no hemoceloma (principal cavidade do corpo do inseto), os JIs liberam as bactérias neles contidas, iniciando uma infecção. Essas bactérias rapidamente matam o inseto (ALMENARA et al., 2018). Os nematoides se alimentam da bactéria e tecido hospedeiro, se reproduzem por 2 a 3 gerações e emergem dos cadáveres como juvenis infectivos para a procura de novos hospedeiros.

Ao contrário do que ocorre em *Steinernema*, os JIs de *Heterorhabditis* não precisam utilizar orifícios naturais do inseto para penetração, pois possuem um dente córneo que lhes permite perfurar a cutícula do inseto. Geralmente essas perfurações são feitas nas regiões mais finas e flexíveis, como entre os segmentos apendiculares (FORST et al. 2002). Apesar desta diferença, o ciclo de *Heterorhabditis* é bem semelhante ao do *Steinernema* (Figura 12). As diferenças são que os adultos de primeira geração do gênero *Heterorhabditis* são hermafroditas com morfologia de fêmeas. Essas “fêmeas hermafroditas” produzem primeiramente espermatozoides que ficam armazenados na

espermateca à espera dos ovócitos que serão produzidos. Se um único JI de *Heterorhabditis* infectar um inseto, terá sucesso, pois não há necessidade de cópula entre adultos de primeira geração para a produção de ovos fertilizados. O aparecimento de machos e fêmeas acontece a partir da segunda geração, e nela a reprodução ocorre por fertilização cruzada. Os nematoides do 3º estágio retêm sempre um inóculo de bactéria em seu intestino, que liberados para o meio externo, onde permanecem até nova infecção (DOLINSKI & MOINO, 2006).

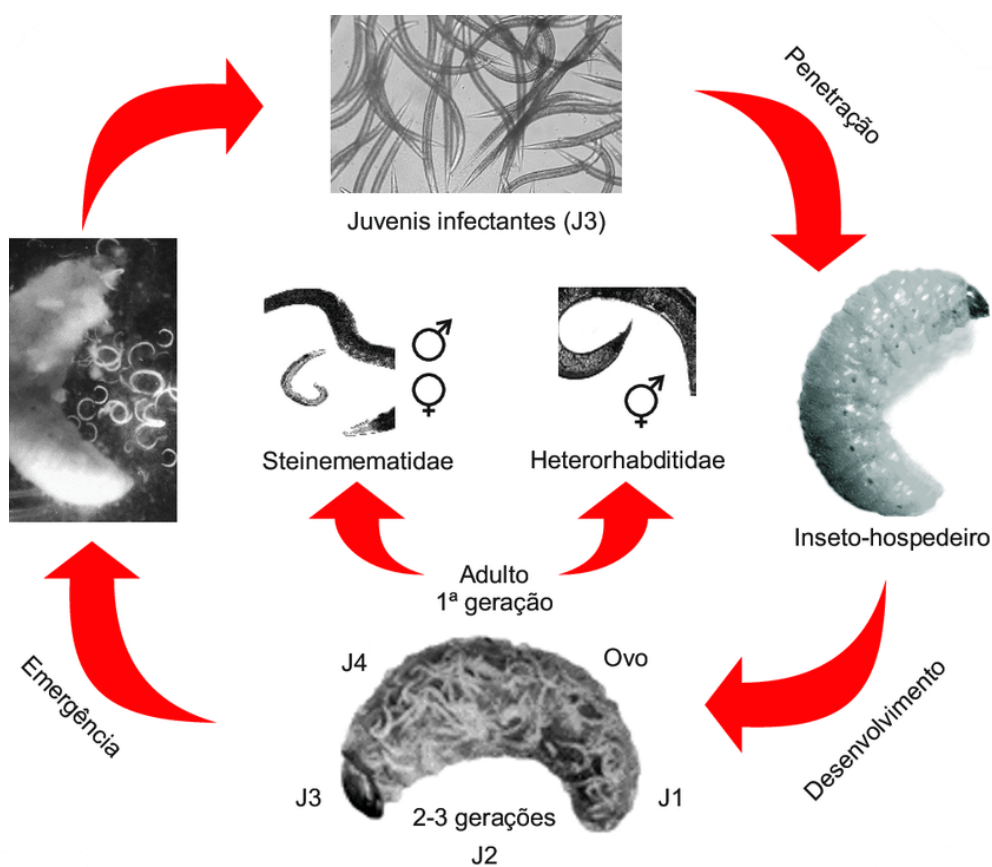


Figura 13 - Ciclo de vida dos nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*.

Fonte: DOLINSKI & MOINO (2006).

Nesse meio externo, para se movimentar e buscar um novo hospedeiro, os nematoides entomopatogênicos podem ser classificados como “*ambusher*” (que fica de tocaia) ou “*cruiser*” (que busca pelo solo). As espécies “*ambusher*” realiza uma movimentação própria chamada de nictação, a qual consiste na suspensão do corpo, ficando apoiado apenas na ponta da cauda. A parte anterior do nematoide fica livre aguardando a passagem de um hospedeiro para então saltar sobre ele. *Steinernema carpocapsae* e *Steinernema scapterisci* são exemplos de NEPs que fazem nictação. Os

nematoides “*cruiser*” não espera o hospedeiro passar, mas o buscam ativamente no solo, respondendo positivamente a diversos compostos voláteis e CO₂ deslocando-se a uma certa distância até localizá-lo (resposta direcional), como é o caso de espécies como *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema glaseri*. Além disso, existem espécies de NEPs que apresentam características tanto de “*ambushers*” como de “*cruisers*”, de acordo com a proximidade do hospedeiro, como ocorre com *Steinernema feltiae* e *Steinernema rarum* (DOLINSKI & MOINO, 2006).

3.8.1 *Steinernema rarum*

A espécie pertence à família Steinernematidae, como as espécies de nematoides no geral, pode ser identificada por caracterização molecular baseada na sequência do rDNA 28S, pois a baixa variação morfológica e características similares desse grupo dificultam a identificação (DOLINSKI et al., 2008).

O nematoide possui associação mutualística com a bactéria *Xenorhabdus szentirmaii*, que após liberada, infecta e causa a morte no hospedeiro, deixando-o com uma coloração avermelhada, resultante da formação de cristais roxos de iodo produzidos pela bactéria (Figura 14). O *S. rarum* é a única espécie do gênero *Steinernema* a apresentar essa característica devido à *X. szentirmaii*, pois outras espécies e suas respectivas simbioses do gênero *Xenorhabdus* quando infectam o hospedeiro, deixam-no com uma coloração acinzentada ou amarelo-creme. Isso ressalta a importância da identificação molecular, pois, devido à essa característica e a baixa variação morfológica, sem essa tecnologia, a espécie pode ser erroneamente identificada como uma pertencente ao gênero *Heterorhabditis*, que em associação com bactérias do gênero *Photorhabdus*, infectam o hospedeiro e deixam-o vermelho ou em casos raros, esverdeados, moderadamente luminescente no escuro (Figura 15) (TARASCO et al., 2023).



Figura 14 - Lagartas de *Galleria mellonella* mortas devido à infecção de *Steinernema rarum* e sua cor vermelha característica da ação da bactéria simbiote *Xenorhabdus szentirmaii*.

Fonte: de autoria própria.



Figura 15 - Cores características da lagarta de *Galleria mellonella* devido à ação das bactérias simbiotes: *Photorhabdus* (esquerda) causa uma cor vermelha ou esverdeada, *Xenorhabdus*, com exceção da *X. szentirmaii*, (direita) causa uma cor amarelo-creme ou acizentado.

Fonte: Tarasco et al., 2023.

O nematoide penetra no hospedeiro através de aberturas naturais, libera a bactéria na hemocela, onde se reproduzem e matam o inseto por septicemia dentro de 24 a 48 horas, tornando o ambiente favorável para o desenvolvimento e reprodução do nematoide. Quando os recursos do hospedeiro se esgotam, os juvenis infectivos saem em

procura de outro hospedeiro no solo. O *Steinernema rarum* se comporta satisfatoriamente em uma temperatura que varia entre 18 °C e 30 °C, amplitude térmica observada em seu local de isolamento e possui um tamanho aproximado de 511 µm (SILVA et al., 2018). Em um estudo realizado por Brida et al. (2017) para identificar nematoides entomopatogênicos de solos agrícolas com culturas anuais, frutíferas e florestais no Brasil, o *S. rarum*, foi identificado em solo arenoso com plantações de *Rubus idaeus* (framboeseira), *Mangifera indica* (mangueira) e *Oryza sativa* (arroz), e em solo argiloso com *Citrus* sp. e *Eucalyptus* sp., demonstrando a diversidade de habitat dessa espécie de nematoide.

Ao decorrer dos anos, até o período atual deste trabalho, estudos foram realizados, comprovando a ampla gama de hospedeiros e potencial deste nematoide para o controle biológico

De Doucet et al. (1999) compararam a virulência de *S. rarum*, *S. feltiae* e *H. bacteriophora* sobre 33 diferentes espécies de insetos distribuídos nas ordens Anoplura, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepdoptera e Orthoptera, usando a dose de 100 JIs/inseto. *S. rarum* se destacou por causar mortalidades acima de 90% para a maioria dos insetos testados, consideradas de importância agrícola: *Eriopsis connexa*, *Hippodamia convergens*, *Naupactus cinereidorsum*, *Epicauta adspersa*, *Tenebrio molitor* e *Chrysodina* sp. *S. rarum* se destacou também por desenvolver-se com sucesso em insetos adultos e imaturos, enquanto as outras duas espécies de nematoides desenvolveram somente em insetos imaturos. Santos et al. (2022) pesquisaram a eficiência do *S. rarum* PAM 25 para controle de *Drosophila suzukii* (mosca-da-asa-manchada) e obtiveram resultados confirmando o potencial do nematoide para o controle do inseto.

Silva et al. (2021) conduziram o primeiro estudo a avaliar o *S. rarum* PAM 25 para controle de *Sphenophorus levis* e destacou seu potencial entre as espécies de NEPs avaliadas, como a de melhor desempenho e capacidade de busca da larva e pupa do inseto dentro do rizoma de cana-de-açúcar. Gonçalves et al. (2022), obtiveram resultados demonstrando a eficiência desse isolado do nematoide no controle da fase larval da praga em condições de campo e Leite et al. (2023) desenvolveram um novo processo bifásico de produção do *S. rarum*, altamente eficiente, com custos de produção e aplicação reduzidos. Tais estudos demonstram a eficiência e a viabilidade da produção e da utilização do nematoide para o controle de *Sphenophorus levis* em grande escala.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Bactérias, fungos, nematoide *Steinernema rarum* e lagartas de *Galleria mellonella* utilizados

As bactérias, fungos e nematóides testados foram provenientes da coleção de microrganismos presente na Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, no Centro Avançado de Pesquisa e Desenvolvimento em Sanidade Agropecuária-CAPSA, localizado em Campinas. As espécies de bactérias avaliadas foram: *Rhizobium tropici*, *Nitrospirillum amazonense*, *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Priestia megaterium* ATCC14581, *Priestia aryabhattai* 4005, *Pseudomonas putida*, *Chromobacterium subtsugae*, *Pseudomonas protegens*, *Bacillus thuringiensis kurstaki*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* ATCC6051, *Azospirillum brasiliense*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus amyloliquefaciens* CCT7690, *Cytobacillus firmus*, *Pseudomonas fluorescens* CCT2487 e *Bacillus methylotrophicus* UFPEDA20. As espécies de fungos avaliados foram: *Beauveria bassiana* IBCB 66, *Isaria javanica* IBCB 638, *Metarhizium anisopliae* IBCB 425, *Purpureocillium lilacinum* IBCB 130 e *Trichoderma harzianum* IBCB 1917. A espécie de nematoide avaliada foi o *Steinernema rarum* isolado PAM 25.

As lagartas de *Galleria mellonella* utilizadas nos experimentos foram retiradas da criação da Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, no Centro Avançado de Pesquisa e Desenvolvimento em Sanidade Agropecuária-CAPSA, localizado em Campinas.

4.2 Inseticidas utilizados

Os inseticidas utilizados foram fornecidos pela Usina ABENGOA. Sendo eles: Dinotefuram + Lambda-Cialotrina, Clorantraliniprole, Tiametoxan + Lambda-Cialotrina, Bifentrina e Fipronil.

4.3 Coleta de adultos de *Sphenophorus levis*

Os adultos de *S. levis* foram coletados nos canaviais das usinas ABENGOA (São João da Boa Vista - SP) e Ester (Cosmópolis - SP), usando-se iscas.

Para fazer as iscas, foram retiradas plantas de cana-de-açúcar e com um facão foram cortados em partes de aproximadamente 30 cm, e então cada parte foi cortada ao meio longitudinalmente. Na área destinada, as iscas foram dispostas entre as plantas, de duas em duas, com o lado interno da cana virado para o solo, então coberto de palhada. Foram colocadas a cada 10 metros, com 10 a 15 de iscas por linha. Uma semana após a instalação das iscas, foi feito a coleta dos adultos de *S. levis* (Figura 16).



Figura 16 - Coleta de adultos de *Sphenophorus levis*. A) Linha de plantio do canavial em que foram instaladas as iscas. B) Instalação das iscas de cana-de-açúcar. C) Verificação das iscas uma semana após instalação e coleta dos adultos de *Sphenophorus levis*.

Fonte: de autoria própria.

Os testes foram realizados somente para o estágio adulto do *S. levis*, pois há uma dificuldade da obtenção do estágio larval, o *S. rarum* já é comprovadamente eficiente para o controle da larva e pupa, e devido à dificuldade do nematoide entomopatogenico *S. rarum* sozinho controlar o adulto, buscou-se, portanto, através dos estudos, uma alternativa.

4.4 Multiplicação e padronização dos fungos

Os fungos foram repicados em placas com meio de cultura BDA e mantidos em BOD a 28 °C para crescimento. Após o crescimento, a solução foi preparada a partir da raspagem da placa e a concentração de cada fungo foi avaliada e padronizada por diluição até atingir a dose recomendada para aplicação em campo: *Beauveria bassiana* IBCB 66 com $8,0 \times 10^9$ UFC/mL, *Metarhizium anisopliae* IBCB 425 com $5 \times$

10^9 UFC/mL, *Isaria javanica* IBCB 638 com 1×10^9 UFC/mL, *Purpureocillium lilacium* IBCB 130 com 1×10^9 UFC/mL.

4.5 Multiplicação e padronização das bactérias

As espécies *Rhizobium tropici*, *Nitrospirillum amazonense*, *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium japonicum* foram mantidas em meio de cultura “Yeast Manitol” YM (0,4 g de extrato de levedura, 10 g de manitol, 0,5 g de K_2HPO_4 , 0,2 g de $MgSO_4$, 0,1 g NaCl, 1L de água destilada autoclavada) em agitação constante, a 27°C durante 5 dias. As demais espécies foram mantidas em meio de cultura “Nutrient Broth” (5 g de peptona, 5g de cloreto de sódio, 1,5 g de extrato de bife, 1,5g de extrato de levedura, 1L de água destilada autoclavada), em agitação constante (170 rpm), a 27°C durante três dias. Para conhecer a concentração de cada bactéria foram realizadas diluições seriadas e contagem de UFC.

De acordo com os resultados as bactérias tinham as seguintes concentrações: *Priestia megaterium* ATCC 14581 com $1,9 \times 10^5$ UFC/mL, *Priestia aryabhattai* 4005 com $3,4 \times 10^5$ UFC/mL, *Bacillus thuringiensis kurstaki* com $2,8 \times 10^5$ UFC/mL, *Chromobacterium subtsugae* com $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, *Bacillus pumilus* com $2,5 \times 10^6$ UFC/mL, *Pseudomonas protegens* com $5,5 \times 10^8$ UFC/mL, *Bacillus licheniformis* com $2,4 \times 10^5$ UFC/mL, *Bacillus velezensis* com $1,5 \times 10^6$ UFC/mL, *Pseudomonas putida* com $1,4 \times 10^8$ UFC/mL, *Pseudomonas fluorescens* CCT2487 com $1,4 \times 10^8$, *Azospirillum brasilense* com $2,3 \times 10^8$ UFC/mL, *Cytobacillus firmus* com $3,0 \times 10^7$ UFC/mL, *Bacillus subtilis* ATCC6051 com $3,7 \times 10^7$ UFC/mL, *Bacillus amyloliquefaciens* CCT7690 com $1,7 \times 10^8$ UFC/mL, *Bradyrhizobium japonicum* com $1,2 \times 10^9$ UFC/mL, *Bradyrhizobium elkanii* com $4,0 \times 10^8$ UFC/mL, *Rhizobium tropici* com $1,2 \times 10^9$ UFC/mL, *Nitrospirillum amazonense* com $1,7 \times 10^8$ UFC/mL, *Bacillus metylotrophicus* UFPEDA20 com $1,0 \times 10^9$ UFC/mL.

4.6 Padronização dos nematoides para o teste de compatibilidade

Os nematoides, provenientes da coleção, foram contados usando-se a Câmara de McMaster. Depois de constatado a concentração que o conteúdo tinha, foi

feito o cálculo para atingir a concentração desejada de 50 JIs/mL: $\text{Volume inicial} * \text{Concentração inicial} = \text{Volume final} * \text{Concentração final}$. Depois do resultado obtido, a diluição foi feita para obter o volume e concentração necessária para a realização do bioensaio.

4.7 Compatibilidade de *Steinernema rarum* com bactérias e fungos, e infectividade para *Galleria mellonella*

Nesta etapa do estudo foi avaliado a compatibilidade de *Steinernema rarum* com bactérias e fungos, e infectividade do nematoide para *Galleria mellonella*. Para esse estudo foram realizados dois experimentos, um para avaliar a compatibilidade e outro a infectividade. Para ambos os experimentos, foram estabelecidos 25 tratamentos representados por 19 bactérias, cinco fungos e três controles (NB, YM e água destilada autoclavada).

No primeiro experimento, o bioensaio foi realizado utilizando-se a metodologia adaptada de Campos-Herrera (2023), com placas de Petri 90x15 mm estéreis. Para cada isolado foram estabelecidas seis repetições, cada repetição consistindo de uma placa de Petri contendo 12mL do tratamento: 4 mL de água destilada autoclavada, 4 mL de suspensão contendo *S. rarum* na concentração de 50 JIs/mL (pois é a dose utilizada em campo), mais 4 mL do isolado do microrganismo avaliado (Figura 17). As avaliações foram realizadas com 3h, 10h, 24h, 48h, 72h e uma semana: indivíduos com o corpo estendido/reto após estimulação com agulha foram considerados mortos e indivíduo que se mexeram após estimulação com agulha foram considerados vivos, usando a Câmara de McMaster.

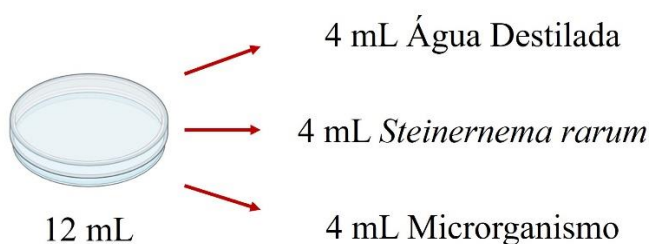


Figura 17 - Metodologia do teste de compatibilidade do *Steinernema rarum* com bactérias e fungos.

Fonte: de autoria própria.

No segundo experimento, o bioensaio foi realizado utilizando-se placas de Petri 90x15 mm, descartáveis estéreis. Para cada isolado foram estabelecidas seis repetições, cada repetição representada por uma placa de Petri contendo 12 mL do tratamento: 4 mL de água destilada autoclavada, 4 mL da suspensão de *S. rarum* a uma concentração de 50 JIs/mL (pois é a dose utilizada em campo), mais 4 mL do microrganismo a ser avaliado. Após uma semana, 1,5 mL do tratamento em cada repetição foi aplicado em um papel filtro estendido na base de uma placa de Petri 90x15 mm, seguido da liberação de 5 lagartas de *Galleria mellonella*. As placas foram fechadas e incubadas em uma câmara BOD, sob 24 °C, por uma semana. A cada 24h foi avaliado a mortalidade das lagartas e a confirmação da causa pelo nematoide *S. rarum* mediante a coloração dos cadáveres após serem transferidos para as armadilhas de White. Para cada tratamento foram estabelecidas 6 repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri.

4.8 Compatibilidade de *Steinernema rarum* com inseticidas utilizados em cana-de-açúcar, e infectividade para *Galleria mellonella*

Nesta etapa do estudo foi avaliado a compatibilidade de *Steinernema rarum* com inseticidas químicos, e a infectividade do nematoide para *Galleria mellonella*. Para esse estudo foram realizados dois experimentos, um para avaliar a compatibilidade e outro a infectividade. Para ambos os experimentos, foram estabelecidos seis tratamentos representados por cinco produtos químicos e um tratamento controle (água destilada autoclavada).

No primeiro experimento, a metodologia utilizada foi a de Campos-Herrera et al. (2023). O bioensaio foi realizado utilizando-se placas de Petri. Para cada inseticida foram estabelecidas seis repetições, cada repetição consistindo de uma placa de Petri 60x15 mm esteril contendo 5 mL do tratamento: 2,5 mL de *S. rarum* na concentração de 50 JIs/mL (pois é a dose utilizada em campo), mais 2,5 mL do inseticida na dose recomendada pelo fabricante (Figura 18): 0,045 g de Clorantniliprole em 20 mL de calda, 0,134 mL de Bifentrina em 20 mL de calda, 0,334 mL de Tiametoxam + Lambda-Cialotrina em 20 mL de calda, 0,034 g de Fipronil em 20 mL de calda, 0,23 mL de Dinotefuram + Lambda-Cialotrina em 20 mL de calda. As avaliações foram feitas com

4h e 24h: indivíduos com o corpo estendido/reto após estimulação com agulha foram considerados mortos e indivíduo que se mexeram após estimulação com agulha foram considerados vivos, usando a Câmara de McMaster.

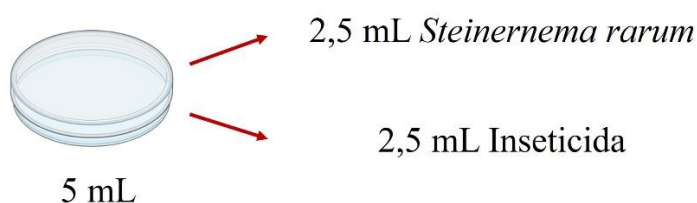


Figura 18 - Metodologia do teste de compatibilidade do *Steinernema rarum* com os inseticidas testados.

Fonte: de autoria própria.

No segundo experimento, a metodologia utilizada foi adaptada de Özdemir et al. (2020). Em um frasco Schott de 100mL foi adicionado 20 mL da calda do inseticida, em dose recomendada pelo fabricante, contendo o nematoide *S. rarum* na concentração de 50 JIs/mL (pois é a dose utilizada em campo). O frasco foi incubado no agitador à 170 rpm por 24 h, sob 24 °C. Em seguida, 1,5 mL da mistura *S. rarum* com o inseticida foi filtrado em dois círculos de papéis filtro com o auxílio de uma bomba de vácuo, e o nematoide retido enxaguado três vezes com 10 mL de água destilada autoclavada usando a bomba de vácuo, para excluir o inseticida e deixar apenas o nematoide. Depois o papel filtro com o nematoide foi transferido para uma placa de Petri 90x15 mm, juntamente com cinco lagartas de *Galleria mellonella*. As placas foram incubadas em uma câmara BOD sob 24 °C e avaliada a cada 24 h, durante uma semana, no que se refere a mortalidade das lagartas pelo *S. rarum*, e a habilidade do nematoide de se multiplicar nos cadáveres das lagartas utilizando armadilhas de White. Para cada tratamento foram estabelecidas seis repetições, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri.

4.9 Patogenicidade de bactérias para adultos de *Sphenophorus levis*

Nesta etapa do estudo foi avaliado a patogenicidade de bactérias para adultos de *S. levis*. Para esse estudo foi realizado um experimento, em que foi estabelecido 15 tratamentos representados por 13 bactérias e dois controles (NB e YM).

O bioensaio foi realizado usando potes plásticos de 300 mL, com as tampas perfuradas para aeração, cada pote contendo 100g de areia fina previamente esterilizada em estufa a 120°C por 50 minutos. Para cada tratamento foram estabelecidas 10 repetições, sendo cada repetição representado por um pote plástico.

Após as bactérias serem multiplicadas como descrito anteriormente (item 4.5), 50 mL da cultura foi adicionada em 50 mL de água destilada autoclavada dentro de um frasco Scotch (200 mL), resultando na proporção de 50 % da bactéria em 50 % de água destilada autoclavada. Depois, o frasco foi agitado e sobre a areia de cada repetição, foi inoculado 10 mL do caldo bacteriano das espécies consideradas em cada tratamento.

Em cada pote foram liberados cinco insetos e um pedaço de cana-de-açúcar de 3 cm (Figura 19). A avaliação foi feita com três dias e seis dias após, contando a quantidade de *S. levis* vivos e mortos.

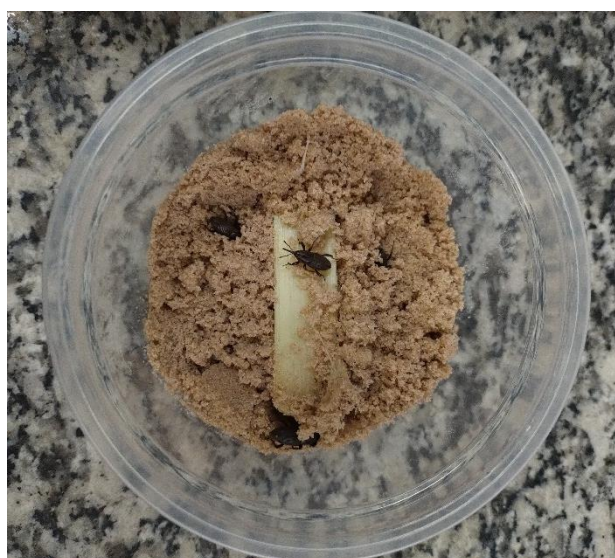


Figura 19 – Metodologia do teste de patogenicidade das bactérias testadas em adultos de *Sphenophorus levis*.

Fonte: de autoria própria.

4.10 Virulência de *Steinernema rarum* em mistura com inseticidas químicos para adultos de *Sphenophorus levis*

Neste estudo foi avaliado estudo a virulência de *Steinernema rarum* em mistura com inseticidas químicos para adultos de *Sphenophorus levis*. Para esse estudo, foram estabelecidos 12 tratamentos representados por cinco produtos químicos, cinco

produtos químicos + *S. rorum*, um controle com água destilada autoclavada e um controle com o *S. rorum*.

O experimento foi realizado utilizando potes plásticos de 300 mL, com as tampas perfuradas para aeração, cada pote contendo 200 g de areia fina, previamente esterilizada em estufa a 120 °C por 50 minutos. Sobre a areia foi aplicado 10 mL de cada tratamento. Os inseticidas foram preparados à ¼ da dose do recomendado pelo fabricante, para possibilitar a avaliação dos tratamentos: 0,007 g de Clorantraniliprole em 3,181 mL de calda, 0,0095 mL de Bifentrina em 3,181 mL de calda, 0,0318 mL de Tiametoxam + Lambda-Cialotrina em 2,386 mL de calda, 0,0024 g de Fipronil em 4,7715 mL de calda, 0,037 mL de Dinotefuram + Lambda-Cialotrina em 3,181 mL de calda. Os nematoides foram preparados na concentração de 1.000 Jis por inseto, uma superdose, para facilitar a avaliação e comparação entre tratamentos. Ambos os químicos e o nematoide foram aplicados no substrato com auxílio de uma pipeta. Para cada tratamento foram estabelecidas 10 repetições, sendo cada repetição representado por um pote plástico. Em cada pote foram liberados cinco insetos e um pedaço de cana-de-açúcar de 3 cm. As avaliações foram realizadas com três e seis dias após, contando o número de *S. levis* vivos e mortos. Para a confirmação da morte pelo nematoide, os adultos foram transferidos para armadilhas de White.

4.11 Análise estatística

Os dados de porcentagem de viabilidade e mortalidade foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$, sendo x a porcentagem da repetição de cada tratamento. O teste estatístico para comparar a média dos tratamentos foi o Tukey a 5% de significância. O programa estatístico utilizado foi o software SPSS, versão 16.0.

5 RESULTADOS

5.1 Compatibilidade de *Steinernema rarum* com bactérias e fungos, e infectividade para *Galleria mellonella*

Todas as bactérias e todos os fungos foram compatíveis com *S. rarum*, possibilitando 100% de juvenis infectivos (JIs) vivos após uma semana de exposição (Tabela 2), exceto o fungo *Trichoderma harzianum* IBCB 1917, que apresentou 90,20% de JIs vivos.

Porém, nos tratamentos em que o *S. rarum* foi exposto a *T. harzianum* IBCB 1917 e a *Beauveria bassiana* IBCB 66, obteve-se o melhor resultado no teste de infectividade, com 100% de mortalidade de *Galleria mellonella*, demonstrando que as espécies potencializaram a ação do nematoide.

Portanto, além de não interferir na compatibilidade dos nematoides, os agentes microbianos não afetaram negativamente a infectividade dos JIs para larvas de *G. mellonella* após uma semana da exposição (Figuras 20 e 21).

Tabela 2 – Compatibilidade de *Steinernema rarum* com bactérias e fungos (viabilidade), e infectividade para *Galleria mellonella* (mortalidade).

Tratamento	Viabilidade dos JIs (%) 1 semana	Mortalidade de <i>Galleria mellonella</i> (%)
Controle (H ₂ O esteril)	100 a	90 ab
Controle NB	100 a	96,67 ab
Controle YM	100 a	83,33 ab
<i>Rhizobium tropici</i>	100 a	X
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	100 a	90 ab
<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	100 a	86,67 ab
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	100 a	80 ab
<i>Priestia megaterium</i> ATCC14581	100 a	90 ab
<i>Priestia aryabhattai</i> 4005	100 a	93,33 ab
<i>Pseudomonas putida</i>	100 a	93,33 ab
<i>Chromobacterium subtsugae</i>	100 a	73,33 ab
<i>Pseudomonas protegens</i>	100 a	86,67 ab

<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	100 a	80 ab
<i>Bacillus licheniformis</i>	100 a	96,67 ab
<i>Bacillus pumilus</i>	100 a	86,67 ab
<i>Azospirillum brasiliense</i>	100 a	96,67 ab
<i>Bacillus velezensis</i>	100 a	90 ab
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CCT7690	100 a	80 ab
<i>Cytobacillus firmus</i>	100 a	X
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6051	100 a	X
<i>Bacillus metylotrophicus</i> UFPEDA20	100 a	80 ab
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCT2487	100 a	90 ab
<i>Beauveria bassiana</i> IBCB 66	100 a	100 a
<i>Metarhizium anisopliae</i> IBCB 425	100 a	76,67 ab
<i>Purpureocillium lilacinum</i> IBCB 130	100 a	93,33 ab
<i>Isaria javanica</i> IBCB 638	100 a	90 ab
<i>Trichoderma harzianum</i> IBCB 1917	90,20 b	100 a

X = Não foi realizado o bioensaio com a espécie.

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de significância



Figura 20 - Larvas de *Galleria mellonella* apresentando coloração avermelhada(a) e nematoides (b), confirmando morte por ação do *Steinernema rarum* que foi exposto à *Priestia aryabhattai* 4005.



Figura 21 - Larvas de *Galleria mellonella* apresentando coloração avermelhada(a) e nematoides (b), confirmando morte por ação do *Steinernema rarum* que foi exposto à *Beauveria bassiana* IBCB 66.

5.2 Compatibilidade de *Steinernema rarum* com inseticidas utilizados em cana-de-açúcar, e infectividade para *Galleria mellonella*

Todos os inseticidas químicos foram compatíveis com *S. rarum* após 4 horas de exposição aos produtos, possibilitando 100% de viabilidade dos JIs. Após 24 horas, apenas Dinotefuram + Lambda-Cialotrina apresentou redução de nematoides vivos, com 76,83% de JIs.

Apesar dessa redução de nematoides vivos, ao ser exposto ao Dinotefuram + Lambda-Cialotrina, o *S. rarum* exposto a esse inseticida foi o que apresentou melhor resultado na mortalidade de *G. mellonella*.

Além da compatibilidade dos nematoides, os produtos químicos não afetaram a infectividade dos JIs para larvas de *G. mellonella* após 24 horas de exposição (Figuras 22 e 23). O tratamento controle também obteve menor porcentagem em relação aos outros tratamentos demonstrando que, exceto o Tiametoxan + Lambda-Cialotrina, os inseticidas junto com o nematoide, potencializaram a ação de controle.

Tabela 3 - Compatibilidade de *Steinernema rarum* com inseticidas utilizados em cana-de-açúcar (viabilidade), e infectividade para *Galleria mellonella* (mortalidade).

Tratamento	Viabilidade dos JIs (%) 4h	Viabilidade dos JIs (%) 24h	Mortalidade de <i>Galleria mellonella</i> (%)
Controle (H ₂ O estéril)	100 a	100 a	66,7 bc
Clorantaliniprole	100 a	100 a	80 abc
Bifentrina	100 a	100 a	90 ab
Tiametoxan + Lambda-Cialotrina	100 a	100 a	50 c
Fipronil	100 a	100 a	86,7 ab
Dinotefuram + Lambda-Cialotrina	100 a	76,83 b	93,33 a

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de significância



Figura 22 - Larvas de *Galleria mellonella* apresentando coloração avermelhada (A) e nematoides (B), confirmando morte por ação do *Steinernema rarum* no tratamento controle, em que foi exposto à água destilada autoclavada, utilizando-se da metodologia de imersão da mistura em placas de Petri.



Figura 23 - Larvas de *Galleria mellonella* infectadas com *Steinernema rarum* que foi exposto por 24h à Clorantraniliprole.

O *S. rarum* demonstrou continuar infectivo após ficar imerso por 24 h em Tiametoxam + Lambda-Cialotrina e Dinotefuram + Lambda-Cialotrina, pois apresentou a coloração avermelhada, porém não conseguiu se reproduzir e multiplicar dentro do hospedeiro, pois não saíram da lagarta para a água na armadilha de White (Figura 24 e 25).



Figura 24 - Larvas de *Galleria mellonella* infectadas com *Steinernema rarum* exposto por 24h à Dinotefuram + Lambda-Cialotrina.



Figura 25 - Larvas de *Galleria mellonella* infectadas com *Steinernema rarum* que foi exposto por 24h à Tiametoxam + Lambda-Cialotrina.

5.3 Patogenicidade de bactérias para adultos de *Sphenophorus levis*

Apesar de na avaliação de 3 dias haver diferença entre os tratamentos, com os dias os tratamentos se igualaram em resultados. Portanto todas as bactérias foram inócuas para adultos de *S. levis*.

Tabela 4 - Teste de patogenicidade das bactérias em adultos de *Sphenophorus levis*

Tratamento	Mortalidade de <i>Sphenophorus levis</i> 3 dias (%)	Mortalidade de <i>Sphenophorus levis</i> 6 dias (%)	Mortalidade total (%)
Controle NB	0 b	6 a	6 a
Controle YM	10 ab	10 a	10 a
<i>Priestia megaterium</i> ATCC14581	2 ab	2 a	2 a
<i>Priestia aryabhattai</i> 4005	2 ab	2 a	2 a
<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	4 ab	4 a	4 a
<i>Rhizobium tropici</i>	10 ab	12 a	12 a
<i>Nitrospirillum amazonense</i>	8 ab	12 a	12 a
<i>Chromobacterium subtsugae</i>	8 ab	2 a	10 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CCT2487	6 ab	8 a	8 a
<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	0 b	0 a	0 a
<i>Bacillus licheniformis</i>	0 b	0 a	0 a
<i>Bacillus pumilus</i>	0 b	0 a	0 a
<i>Azospirillum brasiliense</i>	0 b	0 a	0 a
<i>Bacillus velezensis</i>	0 b	2 a	2 a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CCT7690	16 a	16 a	16 a

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de significância

5.4 Virulência de *Steinernema rarum* em combinações com inseticidas químicos para adultos de *Sphenophorus levis*

Todos os produtos químicos na dose de $\frac{1}{4}$ da recomendada foram atóxicos/inócuos para adultos de *S. levis*, com mortalidade do inseto abaixo de 17%, exceto Bifentrina que proporcionou 40% de mortalidade três dias após a exposição e 60% após seis dias. Da mesma forma, o nematoide *S. rarum* foi inócuo para adultos do inseto na dose de 1000 Jis/inseto, não apresentando efeito sinérgico nas misturas com os produtos químicos, exceto quando misturado com Bifentrina, já que a mortalidade

aumentou de 60% no inseticida isolado, para 94% na mistura com o nematoide, 6 dias após a exposição.

Tabela 5 - Teste de patogenicidade dos inseticidas e inseticidas + *Steinernema rarum*, em adultos de *Sphenophorus levis*.

Tratamento	Mortalidade de <i>Sphenophorus levis</i> 3 dias (%)	Mortalidade de <i>Sphenophorus levis</i> 6 dias (%)	Mortalidade total (%)
Controle NEPs	0 c	0 e	0 e
Controle Água Destilada Autoclavada	2 c	2 e	2 e
Clorantroliniprole	0 c	0 e	0 e
Clorantroliniprole + NEPs	0 c	0 e	0 e
Bifentrina	40 b	60 b	60 b
Bifentrina + NEPs	84 a	94 a	94 a
Tiametoxan + Lambda-Cialotrina	0 c	16 cd	16 cd
(Tiametoxan + Lambda-Cialotrina) + NEPs	0 c	10 cde	10 cde
Fipronil	2 c	6 cde	6 cde
Fipronil + NEPs	0 c	4 de	4 de
Dinotefuran + Lambda-Cialotrina	0 c	12 cde	12 cde
(Dinotefuran + Lambda-Cialotrina) + NEPs	0 c	20 c	20 c

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de significância

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, o nematoide entomopatogênico *Steinernema rarum* demonstrou-se compatível e infectivo com as espécies de bactérias e fungos testadas. Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) podem ter o seu desempenho afetado por muitos agentes de controle e agroquímicos. No caso desse estudo, nos tratamentos em que o *S. rarum* foi exposto a *T. harzianum* IBCB 1917 e a *Beauveria bassiana* IBCB 66, obteve-se com 100% de mortalidade de *Galleria mellonella*, demonstrando que as espécies potencializaram a ação do nematoide. As interações, que ocorrem com diferentes intensidades, são menos prováveis quando os NEPs são aplicados simultaneamente ou logo após outros materiais. Normalmente, as hipóteses de interação são muito maiores quando os NEPs são misturados com outros agentes em tanques de pulverização por conveniência, devido à maior concentração desses agentes. As interações podem ser intencionais quando os NEPs são combinados com outros agentes de controle (ACs) para melhorar o controle de pragas por meio de efeitos aditivos ou, preferencialmente, sinérgicos na mortalidade das pragas. As interações em aplicações combinadas incluem efeitos na viabilidade e/ou patogenicidade dos ACs, reciclagem dos ACs na praga e aumento da suscetibilidade da praga ao AC.

Além das bactérias e fungos testados, o *S. rarum* também foi compatível com os produtos químicos. No presente estudo, a metodologia usada para avaliar a compatibilidade dos produtos químicos com nematoides é conhecida, sendo usada anteriormente por Campos-Herrera et al. (2023). Juvenis infectivos de NEPs (Nematoides Entomopatogênicos) conseguem tolerar exposições de curto prazo (2-44 horas) a muitos agroquímicos em concentrações suficientemente altas para permitir a sua mistura em tanques, facilitando o uso de NEPs em sistemas de gestão integrada de pragas. Nesse contexto, o sistema de aplicação e o volume de pulverização irão influenciar a exposição dos juvenis infectivos (JIs) aos agroquímicos (Alumai e Grewal, 2004). Se os NEPs e os agroquímicos não forem compatíveis para mistura em tanque, os agentes de controle (ACs) devem ser aplicados separadamente, de acordo com a persistência dos agroquímicos (Grewal et al., 1998). Na ausência de informações sobre intervalos, os NEPs devem ser aplicados pelo menos uma semana após inseticidas sintéticos e duas semanas após nematicidas. Como as espécies de NEPs diferem na compatibilidade com materiais sintéticos ou biológicos, e alguns ingredientes inertes ou adjuvantes podem ser

tóxicos para os JIs (Krishnayya e Grewal, 2002), a compatibilidade entre as formulações de NEPs e agroquímicos deve ser avaliada.

No presente estudo, todos os inseticidas químicos permitiram a reprodução do nematoide nas larvas de *G. mellonella*, exceto Tiametoxam + Lambda-Cialotrina e Dinotefuram + Lambda-Cialotrina, que inibiram a reprodução ou formação dos juvenis infectivos. *Steinernema kushidai* e *S. scarabaei*, dois nematoides bastante específicos e altamente virulentos para escarabeídeos, não interagiram com imidaclopride. Além disso, o imidaclopride não comprometeu a reciclagem dos NEPs (Koppenhöfer et al., 2003). Os neonicotinóides tiametoxam e clotianidina interagiram de forma menos consistente com os NEPs (Koppenhöfer et al., 2002; Koppenhöfer e Fuzy, 2008b). Por outro lado, o diamida clorantraniliprole apresentou sinergia com *H. bacteriophora* no controle de larvas de escarabeídeos sem comprometer a reciclagem dos nematoides (Koppenhöfer e Fuzy, 2008a).

O inseticida Bifentrina apresentou um efeito sinérgico no controle de adultos de *S. levis* quando misturado ao nematoide *S. rarum*. A combinação de dois agentes de controle (ACs) pode melhorar o controle (ou seja, a mortalidade) e/ou a rapidez no controle de pragas. Se os ACs não interagirem, o controle é aditivo (complementar). Interações antagônicas entre ACs resultam num controle significativamente inferior ao controle aditivo. Por outro lado, interações sinérgicas (ou de potencialização), em que a ação conjunta (ou suplementar) de dois agentes resulta num efeito superior à soma das atividades dos agentes atuando isoladamente, levam a níveis de controle significativamente mais elevados. A menos que o mecanismo de interação seja conhecido, testes estatísticos são utilizados para determinar o tipo de interação, com base na diferença significativa entre o efeito observado e um efeito aditivo.

Alguns inseticidas mostram interações sinérgicas ou aditivas. Conjuntos de dados mais amplos indicam que a variabilidade dentro de um determinado químico (por exemplo, imidaclopride, clotianidina) é influenciada pela espécie de NEP e/ou pela espécie de praga alvo. As interações entre NEPs e químicos podem variar com base no desenvolvimento da praga. Por exemplo, interações mais fracas foram observadas entre NEPs e imidaclopride em larvas de segundo estágio em comparação com as de terceiro estágio (Koppenhöfer e Fuzy, 2008b). Um antagonismo extremo ocorreu em pupas de *Phthorimaea operculella*, enquanto o sinergismo foi observado em pré-pupas expostas a combinações de *S. carpocapsae* e abamectina (Eivazian Kary et al., 2018).

O sistema mais estudado é a interação sinérgica entre NEPs e o neonicotinóide imidaclopride em larvas de escarabeídeos. O imidaclopride reduz os comportamentos defensivos das larvas, aumentando a fixação e penetração dos NEPs (Koppenhöfer et al., 2000). O imidaclopride e *Heterorhabditis bacteriophora* apresentaram sinergia de forma mais consistente contra larvas mais velhas de terceiro estágio, mas proporcionaram um controle melhor em larvas mais jovens devido à maior suscetibilidade destas a ambos os agentes de controle (ACs), com taxas tão baixas quanto 25% e 50% das doses totais de *H. bacteriophora* e imidaclopride, respectivamente (Koppenhöfer e Fuzy, 2008b).

Neste estudo, todas as bactérias foram inócuas para adultos de *S. levis*. Em estudos realizados, as combinações entre NEPs e bactérias resultaram em interações antagônicas ou aditivas. Nessas combinações, a reprodução dos NEPs tendia a ser reduzida (Bednarek, 1986) ou inibida (Kaya e Burlando, 1989; Poinar et al., 1990), a menos que os NEPs fossem inoculados antes da bactéria. Quando a B-exotoxina de *Bacillus thuringiensis* ssp. *thuringiensis* foi combinada com taxas economicamente inviáveis de *S. carpocapsae*, a combinação causou uma mortalidade sinérgica em larvas de *Tipula paludosa* (mosca europeia da cana) (Lam e Webster, 1972).

A mortalidade de larvas de terceiro estágio em vários escarabeídeos expostos a combinações de *B. thuringiensis* ssp. *japonensis* com *S. glaseri* ou *H. bacteriophora* foi, na maioria dos casos, aditiva e, por vezes, sinérgica, especialmente quando larvas mais jovens foram expostas (Koppenhöfer et al., 1999). O efeito dessas combinações na reprodução dos NEPs não foi estudado.

Larvas de terceiro estágio do escarabeídeo *Cyclocephala hirta* (besouro mascarado) mostraram-se mais suscetíveis a *H. bacteriophora* e *S. glaseri* quando infetadas pela bactéria causadora da doença leitosa, *Paenibacillus popilliae*, devido à maior penetração dos NEPs no intestino médio (Thurston et al., 1993, 1994). A reprodução dos NEPs não foi afetada pela infecção por *P. popilliae* (Thurston et al., 1993). No entanto, a viabilidade dessa combinação é limitada pelo lento estabelecimento da doença leitosa nas populações de escarabeídeos e pela ausência de métodos de produção *in vitro* para a bactéria.

O nematoide *S. rarum* foi inócuo para adultos do inseto na dose de 1000 IIs/inseto, não apresentando efeito sinérgico nas misturas com os produtos químicos, exceto quando misturado com Bifentrina, já que a mortalidade aumentou de 60% no inseticida testado isoladamente, para 94% na mistura com o nematoide. Muitos

agroquímicos podem afetar negativamente a sobrevivência de NEPs. Não há uma tendência clara em relação à sensibilidade dos NEPs a diferentes classes de agroquímicos, por isso novas combinações precisam ser avaliadas quanto à compatibilidade. Caso contrário, os agentes devem ser aplicados com um intervalo de uma a duas semanas, um do outro (KOPPENHÖFER; FOYE, 2024).

No que diz respeito à melhoria do controle de pragas, ao selecionar combinações para estudo e desenvolvimento, é importante considerar se a combinação será econômica, prática e/ou mais segura para os utilizadores e o meio ambiente do que as alternativas disponíveis. As aplicações combinadas só são úteis se a mortalidade das pragas for aumentada sinergicamente. Se uma combinação proporcionar controle aditivo, é mais simples usar apenas o agente mais eficaz.

No entanto, combinações aditivas podem ter vantagens. Por exemplo, em *fairways* de campos de golfe, *S. carpocapsae* aplicado a meia dose, combinado com imidaclopride, proporcionou um controle das larvas de *Listronotus maculicollis* equivalente ao obtido com a dose completa de *S. carpocapsae* sozinho. Contudo, a combinação ofereceu um controle mais consistente, foi menos dispendiosa devido ao menor custo do imidaclopride, e este também controlou simultaneamente larvas de escarabeídeos, outro grupo importante de pragas (Koppenhöfer et al., 2020).

Quando ocorreram interações sinérgicas entre NEPs e inseticidas, o inseticida afetou o comportamento dos NEPs ou, mais frequentemente, o comportamento da praga devido à atividade neurotóxica dos inseticidas (KOPPENHÖFER; FOYE, 2024). Por isso, arenas experimentais devem permitir comportamentos normais tanto dos NEPs como das pragas.

As combinações de NEPs com agentes biológicos resultaram, na maioria dos casos, em mortalidade-alvo aditiva ou sinergia fraca, sendo raros os casos de antagonismo ou sinergia forte. As observações para a maioria das combinações são limitadas. Podem surgir tendências diferentes dependendo dos insetos, dos agentes biológicos ou das condições ambientais. As co-aplicações contra o mesmo alvo provavelmente desencadeiam competição por recursos, embora, em condições de campo, as coinfeções sejam menos prováveis.

Atualmente, as combinações de NEPs com imidaclopride e com *Bacillus thuringiensis* ssp. *japonensis* (não disponível comercialmente) em larvas brancas de escarabeídeos são os únicos sistemas com ensaios em estufas e no campo suficientes para permitir recomendações informadas. As combinações de NEPs com imidaclopride podem

ser uma ferramenta eficaz para o controle curativo de larvas brancas de escarabeídeos (KOPPENHÖFER et al., 2000). Os NEPs são caros, portanto, a viabilidade desta combinação depende da redução das taxas de NEPs, mantendo, ao mesmo tempo, um controle aceitável das pragas.

7 CONCLUSÃO

- O nematoide entomopatogênico *Steinernema rarum* é compatível com as espécies de bactérias e fungos testadas.
- Todos os inseticidas químicos foram compatíveis com *S. rarum* após 4 horas de exposição aos produtos.
- Após 24 horas, apenas Dinotefuram + Lambda-Cialotrina apresentou redução de nematoides vivos, porém isso não afetou a infectividade do nematoide.
- Os agentes microbianos não afetaram negativamente a infectividade dos JIs para larvas de *G. mellonella* após 1 semana da exposição.
- Nos tratamentos em que o *S. rarum* foi exposto a *T. harzianum* IBCB 1917 e a *Beauveria bassiana* IBCB 66, as espécies potencializaram a ação do nematoide.
- Os produtos químicos não afetaram a infectividade dos JIs para larvas de *G. mellonella* após 24 horas de exposição.
- Todas as bactérias foram inócuas para adultos de *S. levis*.
- Todos os produtos químicos na dose de $\frac{1}{4}$ da recomendada foram atóxicos/inócuos para adultos de *S. levis*, exceto Bifentrina.
- O nematoide *S. rarum* foi inócuo para adultos do inseto na dose de 1000 JIs/inseto, não apresentando efeito sinérgico nas misturas com os produtos químicos, exceto quando misturado com Bifentrina.
- A Bifentrina apresentou um novo caminho para futuros estudos em conjunto com o nematoide *S. rarum*, para controle de adultos de *S. levis*.
- O nematoide *S. rarum* pode ser utilizado em associação com esses agentes biológicos e inseticidas químicos, apresentando potencial de serem utilizadas na mesma área ou em conjunto nas operações agrícolas, em um manejo integrado de pragas.

8 REFERÊNCIAS

ADAIME, R.; LIMA, A. L.; SOUSA, M. S. M.; Controle biológico de moscas-das-frutas na Amazônia brasileira. **Innovations Agronomiques**, França, v. 64, p. 47-59, 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/173869/1/CPAF-AP-2018-Controle-biologico-conservativo-de-moscas-das-frutas.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2024.

AGROFIT. **Consulta de Praga/Doença: *Sphenophorus levis***. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 11 set. 2024.

AGROLINK. ***Sphenophorus levis*: praga de difícil controle torna-se a mais preocupante dos canaviais**. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/sphenophorus-levis--praga-de-dificil-controle-torna-se-a-mais-preocupante-dos-canaviais_458542.html. Acesso em: 11 set. 2024.

ALENCAR, Marina Aparecida Viana de. ***Sphenophorus levis* Vaurie 1978 (Coleoptera: Curculionidae): caracterização macroscópica e determinação de inseticida e época de aplicação para controle**. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Campus de Jaboticabal. 2016. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/965cdf1c-2a37-45a9-954f-db3d2b060ce8>. Acesso em: 5 nov. 2024

ALMEIDA, Luiz Carlos de. **Monitoramento e controle do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978**. Curitiba: SENAR AR-PR., 30 p., 2020. Disponível em: https://www.sistemafaep.org.br/wp-content/uploads/2021/11/Cartilha_Bicudo.pdf. Acesso em: 20 set. 2024.

ALMENARA, D. P.; NEVES, M. R. de C.; KAMITANI, F. L.; WINTER, C. E.; Nematoides Entomopatogênicos: as duas faces de uma simbiose. **Revista da Biologia**, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2018.

ALUMAI, A.; GREWAL, P.S. Tank-mix compatibility of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. **Biocontrol Science and Technology**, v.14, p.725-730, 2004. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/263144415_Tank-Mix_compatibility_of_the_entomopathogenic_nematodes_Heterorhabditis_bacteriophora_and_Steinernema_carpocapsae_with_selected_chemical_pesticides_used_in_turfgrass. Acesso em: 5 jan. 2025.

ARAÚJO, S. P.; RODRIGUES, S. Á.; DEMIATE, I. M.; Utilização de um delineamento composto central rotacional para avaliação microbiológica da *Chromobacterium subtsugae*. Scientific **Journal of Environmental Sciences and Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 04-10, abr. 2023. Disponível em: <https://www.journals.ufrpe.br/index.php/geama/article/view/5139>. Acesso em: 10 abr. 2024.

BARRETO-TRIANA, N.; **Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo: Piracicaba, 2009.

BEDNAREK, A. Development of the *Steinernema Feltiae* (Filipjev) entomogenous nematode (Steinernematidae) in the conditions of occurrence in the insects body cavity of other pathogens. **Ann. Warsaw Agric. Univ. Anim. Sci.**, 1986.

BONASSI, Rita de Cássia *et al.* Inoculation effects of *Nitrospirillum amazonense* and biofertilizer in sugarcane. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 54, n. 3, p. 01-11, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/BMY45S6Hyj5YN9wgGcTn8Pw/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 20 set. 2024.

BRASIL. Lei Nº 15.070, de 24 de dezembro de 2024. Dispõe sobre a produção, a importação, a exportação, o registro, a comercialização, o uso, a inspeção, a fiscalização, a pesquisa, a experimentação, a embalagem, a rotulagem, a propaganda, o transporte, o armazenamento, as taxas, a prestação de serviços, a destinação de resíduos e embalagens e os incentivos à produção de bioinsumos para uso agrícola, pecuário, aquícola e florestal; e altera as Leis nºs 14.785, de 27 de dezembro de 2023, 10.603, de 17 de dezembro de 2002, e 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2024.

BRIDA, A. L. de; ROSA, J. M. O.; OLIVEIRA, C. M. G. de.; CASTRO, B. M. de C. e; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; LEITE, L. G.; WILCKEN, S. R. S. Entomopathogenic nematodes in agricultural areas in Brazil. **Scientific Reports**, vol. 7, n. 45254, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep45254>. Acesso em: 10 abr. 2025.

CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar.** Jaboticabal-SP: UNESP FUNEP. 1991, p. 133.

CAMPOS-HERRERA, R.; CARPENTERO, E.; PUELLES, M.; OJER, J. L. R. S. de; PÉREZ, R. B.; Entomopathogenic Nematode Compatibility with Vineyard Fungicides. **The Journal of Nematology**, v. 55, n. 1, p. 1-9, fev. 2023. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/375906645_Entomopathogenic_Nematode_Compatibility_with_Vineyard_Fungicides. Acesso em: 29 fev. 2024.

CHEN, Wei; HU, Qiongbo. Secondary Metabolites of *Purpureocillium lilacinum*. **Molecules**, vol. 27, n. 1, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/1/18>. Acesso em: 6 nov. 2024.

ComexVis. **Açúcares e melaços.** Disponível em: <https://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>. Acesso em: 12 out. 2024.
CropLife. **Bioinsumos.** Disponível em: <https://croplifebrasil.org/bioinsumos.html>. Acesso em: 14 jul. 2024.

CRUVINELLI, A.; SILVA, T. M.; ROCHA, M. A. M.; AZEVEDO, M. O.; AGUILERA, J. G.; BERNARDO, M. L. T.; BERNARDO, J. T.; ALMEIDA, J. E. M. de. Rentabilidade na produção de soja na fazenda Bom Jardim Lagoano com manejo de biológicos *on farm*.

Research, Society and Development, v. 11, n. 14, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/36112>. Acesso em: 15 abr. 2025.

CUSTÓDIO, Herverton Henrique; MARTINELLI, Paulo Roberto Pala; SANTOS, Leticia Serpa dos. Controle químico e biológico de *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae) na cultura de cana-de-açúcar. **Entomologia mexicana**, vol. 4, p. 331-337, 2017. Disponível em: https://www.acaentmex.org/entomologia/revista/2017/EA/EM1452017_331-337.pdf. Acesso em: 11 set. 2024.

DE DOUCET, M. M. A.; BERTOLOTTI, M. A.; GIAYETTO, A. L.; MIRANDA, M. B. Host Range, Specificity, and Virulence of *Steinernema feltiae*, *Steinernema rarum*, and *Heterorhabditis bacteriophora* (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Argentina. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 73, n. 3, p. 237-242, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10222175/>. Acesso em: 21 out. 2024.

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. *Sphenophorus levis*: aspectos bioecológicos da espécie. In: DINARDO-MIRANDA, L. L. **Nematoides e Pragas da Cana de Açúcar**. 2. Ed. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2018. Cap. 7, p. 227.

DINARDO-MIRANDA, Leila L.; MACHADO, Antonio C.; LANDELL, Marcos G. A. **Cana-de-açúcar**. Campinas, SP: Instituto Agrônomo, 2008, p. 882.

DOBZYNSKI, Jakub; WRÓBEL, Barbara; GÓRSKA, Ewa Beata; Taxonomy, Ecology, and Cellulolytic Properties of the Genus *Bacillus* and Related Genera. **Agriculture** 2023, v. 13, n. 10, p. 1-20, out. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0472/13/10/1979>. Acesso em: 9 abr. 2024.

DOLINSKI, C. & MOINO, A. Utilização de nematóides entomopatogênicos nativos e exóticos: o perigo das introduções. **Nematologia Brasileira**, Brasília, vol. 30, n. 2, p. 139-149, 2006. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20073088315>. Acesso em: 21 out. 2024.

DOLINSKI, C., KAMITANI, F. L., MACHADO, I. R. & WINTER, C. E. Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 2, p. 150–159, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/Nn4Q3hcCcLNksFPBKynJNfs/?lang=en>. Acesso em: 10 abr. 2025.

EIVAZIAN KARY, N.; SANATIPOUR, Z.; MOHAMMADI, D.; KOPPENHÖFER, A. M. Developmental stages affects the interaction of *Steinernema carpocapsae* and abamectin for the controlo f *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera, Gelechiidae). **Biological Control**, vol. 122, p. 18-23, jul. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964418301968>. Acesso em: 6 jan. 2025.

EMBRAPA. **Cana: Fenologia**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pre-producao/caracteristicas/fenologia#:~:text=O%20processo%20de%20perfilhamento%20%C3%A9,de%20colmos%20que%20ser%C3%A1%20colhida..> Acesso em: 24 fev. 2024.

EMBRAPA. **Cana: Outros produtos**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pos-producao/processamento-da-cana-de-acucar/outros-produtos>. Acesso em: 28 fev. 2024.

EMBRAPA. **Produção de microrganismos para uso próprio na agricultura (on-farm) – Esclarecimentos Oficiais**. Disponível em: https://www.embrapa.br/esclarecimentos-oficiais/-/asset_publisher/TMQZKu1jxu5K/content/nota-tecnica-producao-de-microrganismos-para-uso-proprio-na-agricultura-on-farm-?inheritRedirect=false. Acesso em: 14 jul. 2024.

FORST, S.; DOWDS, B.; BOEMARE, N.; STACKEBRANDT, E. *Xenorhabdus* and *Photobacterium* spp.: bugs that kill bugs. **Annual Review of Microbiology**, v. 51, p. 47 – 72, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9343343/>. Acesso em: 21 out. 2024.

FERRAZ, L. C. F., KLEPA, M. S., HUNGRIA, M. New Insights into the Taxonomy of Bacteria in the Genomic Era and a Case Study with Rhizobia. **International Journal of Microbiology**, v. 2022, p. 1-19, mai. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9148247/>. Acesso em: 8 abr. 2024.

GONÇALVES, Cauane Raema Antunes et al. *Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) em condição de campo. In: XI Congresso Internacional de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento, 2022, Universidade de Taubaté, São Paulo.

GREWAL, P. S.; WEBBER, T.; BATTERLEY, D. A. Compatibility of *Steinernema feltiae* with chemicals used in mushroom production. **Mushroom News**, 46: 6-10, 1998.

GUPTA, Radhey S. et al. Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the *Subtilis* and *Cereus* clades of species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 2020, p. 5753-5798, out. 2020. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.004475>. Acesso em: 8 abr. 2024.

IBGE. **Produção de Cana-de-açúcar**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cana-de-acucar/br>. Acesso em: 12 out. 2024.

INFANTE, D.; MARTÍNEZ, B.; GONZÁLEZ, N.; REYES, Y.; Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. **Rev. Protección Veg.**, v. 24, n. 1, 2009.

Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002. Acesso em: 18 abr. 2025.

JEFFERS, Andrew H.; CHONG, Juang H.; Biological Strategies in Integrated Pest Management (IPM) Programs. **Land-Grant Press**, Estados Unidos da América: Carolina do Sul, v. 1111, p. 1-9, mai. 2021. Disponível em: <https://lpress.clemson.edu/publication/biological-control-strategies-in-integrated-pest-management-ipm-programs/>. Acesso em: 28 fev. 2024.

JULIEN, M. H. R.; IRVINE, J. E.; BENDA, G. T. A. Sugarcane Anatomy, morphology, and physiology. In: RICAUD, C.; EGAN, B. T.; GILLASPIE JR, A. G.; HUGHES, C. G.; **Diseases of Sugarcane: Major Diseases**. Amsterdã, Holanda: Elsevier, 1989. p. 1-20. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=b54RCoqov8UC&oi=fnd&pg=PA1&dq=sugarcane+botanical+classification&ots=ktEkWgKzFj&sig=2YsZVeWZtNh1sC7gFGRvxeMuLww#v=onepage&q&f=true>. Acesso em: 21 fev. 2024.

KANG, Beom Ryong *et al.* Dual Biocontrol Potential of the Entomopathogenic Fungus, *Isaria javanica*, for Both Aphids and Plant Fungal Pathogens. **Mycobiology**, vol. 46, n. 4, p. 440-447, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/12298093.2018.1538073>. Acesso em: 5 nov. 2024.

KAYA, H. K.; BURLANDO, T. M. Development of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) in diseased insect hosts. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 53, n. 2, p. 164-168, mar. 1989. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022201189900049>. Acesso em: 10 jan. 2025.

KHAN, Masudulla; TANAKA, Kiwamu. *Purpureocillium lilacinum* for plant-growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant. **PLOS ONE**, vol. 18, n. 3, 2023. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0283550>. Acesso em: 6 nov. 2024.

KRISHNAYYA, P. V.; GREWAL, P. S. Effect of neem and selected fungicides on viability and virulence of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 12, n. 3, p. 259-266, 2002. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/09583150210388?needAccess=true>. Acesso em: 5 jan. 2025.

KOPPENHÖFER, A. M.; CHOO, H.Y.; KAYA, H. K.; LEE, D. W.; GELERNTER, W. D. Increased Field and Greenhouse Efficacy against Scarab Grub with a Combination of an Entomopathogenic Nematode and *Bacillus thuringiensis*. **Biological Control**, vol. 14, n. 1, p. 37-44, jan. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964498906636>. Acesso em: 10 jan. 2025.

KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E.; FUZY, E. M.; KAYA, H. K. Effect of neonicotinoid synergists on entomopathogenic nematode fitness. **Entomologia**

Experimentalis et Applicata, vol. 106, n. 1, p. 7-18, jan. 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/229778871_Effect_of_neonicotinoid_synergists_on_entomopathogenic_nematode_fitness. Acesso em: 10 jan. 2025

KOPPENHÖFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E.; FUZY, E. M.; BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, vol. 24, n. 1, p. 90-97, mai. 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964402000087>. Acesso em: 8 jan. 2025.

KOPPENHÖFER, A. M.; FOYE, S. Interactions between Agrochemicals and Biological Control Agents. In: SHAPIRO-ILAN, D. I.; LEWIS, E. E. **Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents**. Boston, MA: CAB International, 2024. p. 494–518. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/384723463_Interactions_between_Agrochemicals_and_Biological_Control_Agents. Acesso em: 25 abr. 2025.

KOPPENHÖFER, A. M.; FUZY, E. M. Early timing and new combinations to increase the efficacy of neonicotinoid-entomopathogenic nematode (Rhabditida: Heterorhabditidae) combinations against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). **Pest Manag Sci**, vol. 64, n. 7, jul. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18260065/>. Acesso em: 6 jan. 2025.

KOPPENHÖFER, A. M.; FUZY, E. M. Effect of the anthranilic diamide insecticide, chlorantraniliprole, on *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) efficacy against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). **Biological Control**, vol. 45, n. 1, p. 93-102, abr. 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/240445203_Effect_of_the_anthranilic_diamide_insecticide_chlorantraniliprole_on_Heterorhabditis_bacteriophora_Rhabditida_Heterorhabditidae_efficacy_against_white_grubs_Coleoptera_Scarabaeidae. Acesso em: 8 jan. 2025

KOPPENHÖFER, A. M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P. S.; BROWN, I. Synergism of Entomopathogenic Nematodes and Imidacloprid Against White Grubs: Greenhouse and Field Evaluation. **Biological Control**, vol. 19, n. 3, p. 245-251, nov. 2000. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/223401689_Synergism_of_Entomopathogenic_Nematodes_and_Imidacloprid_against_White_Grubs_Greenhouse_and_Field_Evaluation. Acesso em: 10 jan. 2025.

KOPPENHÖFER, A. M.; KOSTROMYTSKA, O. S.; WU, S. Optimizing the use of entomopathogenic nematodes for the management of *Listronotus maculicollis* (Coleoptera: Curculionidae): Split applications and combinations with imidacloprid. **Crop Protection**, vol. 137, nov. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219420301629>. Acesso em: 16 jan. 2025.

KUYKENDAL, L. David *et al.* *Rhizobium*. In: TRUJILLO, M. E. *et al.* **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118960608.gbm00847>. Acesso em: 13 set. 2024.

LAM, A. B. Q.; WEBSTER, J. M. Effect of the DD-136 nematode and of β -exotoxin preparation of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on leatherjackets, *Tipula paludosa* larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 20, n. 2, p. 141-149, set. 1972. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022201172901279>. Acesso em: 10 jan. 2025.

LANDELL, M. G. A.; BRESSIANI, J. A. Melhoramento genético, caracterização e manejo varietal. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Ed.). Cana-de-açúcar. Campinas: Instituto Agrônomo, 2010. p. 101-156.

LEITE, L. G.; CHACON-OROZCO, J. G.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; BALDO, F. B.; CARDOSO, J. F. M. Effects os temperature for optimizing production and storage of *Steinernema rarum* in a novel biphasic process, and efficacy of the nematode against *Sphenophorus levis*. **Biological Control**, v. 187, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964423002347>. Acesso em: 18 abr. 2025.

LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; BOTELHO, P. S. M.; BATISTA FILHO, A.; POLANCZYK, R. A.; SCHIMIDT, F. S. Eficiência de nematoides entomopatogênicos e inseticidas químicos contra *Sphenophorus levis* e *Leuxothyreus* sp. em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 1, p. 40-48, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pat/a/TSrB7NpyPmrpHZmg37DfkcF/>. Acesso em: 22 out. 2024.

LEITE, L. G.; **Tecnologia Sustentável: Nematoides contra insetos**. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/pdf/tecnologia_sustentavel/nematoides.pdf. Acesso em: 17 jul. 2024.

LIN, Shih-Yao, *et al.* Description of *Niveispirillum fermenti* gen. nov., sp. nov., isolated from a fermentor in Taiwan, transfer of *Azospirillum irakense* (1989) as *Naveispirillum irakense* comb. nov., and reclassification of *Azospirillum amazonense* (1983) as *Nitrospirillum amazonense* gen. nov. **Antonie Van Leeuwenhoek**, vol. 105, n. 6, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24771126/>. Acesso em: 20 set. 2024.

LISBINSKI, F. C.; FERRAZ, L.; BURNQUIST, H. L. **Bioinsumos na produção de cana-de-açúcar: um caminho sustentável e econômico?**. CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, set. 2024. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/opiniaio-cepea/bioinsumos-na-producao-de-cana-de-acucar-um-caminho-sustentavel-e-economico.aspx>. Acesso em: 21 out. 2024.

LUCCHESI, A. A. Cana-de-açúcar. In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (Eds.). **Ecofisiologia de culturas extrativistas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendzeneiro e oliveira**. Piracicaba: Cosmópolis Stoller do Brasil, 2001, p. 13-45.

MANTOVANI, G. L.; **Estudo da eficiência das táticas de manejo integrado de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em soqueiras de cana-de-açúcar**. Tese de

Mestrado em Entomologia. Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2023. MATA, Jhansley F. da. Ecofisiologia da cana-de-açúcar. In: DIAS, João P. T. **Ecofisiologia das culturas agrícolas**. Belo Horizonte: EdUEMG, 2018. p. 133-149. Disponível em: https://editora.uemg.br/images/livros-pdf/catalogo-2018/Ecofisiologia/ecofisiologia_de_cultura_agricolas.pdf. Acesso em: 23 fev. 2024.

MAPA. **Catálogo Nacional de Bioinsumos**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/catalogo-nacional-de-bioinsumos>. Acesso em: 14 jul. 2024.

MAPA. **Mapa encerra 2023 com 90 produtos de baixo impacto registrados**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-encerra-2023-com-90-produtos-de-baixo-impacto-registrados>. Acesso em: 14 jul. 2024.

MAPA. **O Programa Nacional de Bioinsumos**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa>. Acesso em: 14 jul. 2024.

MASCARIN, Gabriel Moura; JARONSKI, Stefan T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, vol. 32, n. 177, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-016-2131-3>. Acesso em: 5 nov. 2024.

MASCARIN, G. M.; PAULI, G.; Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. In: Madelaine Venzon; Trazilbo José de Paula Júnior; Angelo Pallini. (Org.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças na Agricultura Orgânica**. 1 ed. Viçosa: U. R. EPAMIG ZM, 2010, v. 4, p. 169-195. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Gabriel-Moura-Mascarin/publication/274374886_Bioprodutos_a_base_de_fungos_entomopatogenicos_Fungal_biopesticides_in_portuguese/links/551c6f220cf2909047bc92ef/Bioprodutos-a-base-de-fungos-entomopatogenicos-Fungal-biopesticides-in-portuguese.pdf. Acesso em: 22 out. 2024.

MONNERAT, Rose *et al.* **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 46 p., 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/213246/1/documentos-36916.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2024.

MONNERAT, R. G.; QUEIROZ, P. R. M.; MARTINS, É. S.; PRAÇA, L. B.; SOARES, C. M. S.; Controle de artrópodes-praga com bactérias entomopatogênicas. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C.; **Controle Biológico de Pragas da Agricultura**. 1. Ed. Brasília, DF: Embrapa, 2020. cap. 6, p. 167-200. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/212490/1/CBdocument.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2024.

MORAES, G. C.; ÁVILA, C. J.; *Sphenophorus levis* detected in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Agricultural Science Research Journals**, v. 3, n. 1, p. 36-37, 2013.

NASCIMENTO, Mariele de Souza Penteado. **Aplicação de inseticida via fertirrigação com vinhaça para controle de *Sphenophorus levis* Vaurie (1978) na cana-de-açúcar**.

Tese (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2024. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/0df5ae74-b6f5-41bf-ac14-fed52bb2bcaa/content>. Acesso em: 11 set. 2024.

NETO, D. E. S.; GARCIA, J. F.; **Cana-de-açúcar: Desafios fitossanitários e Manejo sustentável**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda, CRIAR/ Boletim Técnico, n. 4, p. 65-76, 2016. Disponível em: https://boletimtecnico.uplbrasil.com.br/wp-content/uploads/2021/08/boletim_cana.pdf. Acesso em: 22 out. 2024.

OLIVEIRA, C. M. G.; ROSA, J. M. O.; GIORIA, R.; BRAGA, K. R. B.; Nematoides. In: BRANDÃO FILHO; J. U. T.; FREITAS, P. S. L.; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R.; **Hortaliças-fruto**. Maringá: EDUEM, 2018, p. 315-338.

ÖZDEMİR, E.; İNAK, E.; EVLICE, E.; LAZNIK, Z.; Compatibility of entomopathogenic nematodes with pesticides registered in vegetable crops under laboratory conditions. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 127, n. 4, p. 529-535, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/341738018_Compatibility_of_entomopathogenic_nematodes_with_pesticides_registered_in_vegetable_crops_under_laboratory_conditions. Acesso em: 13 mar. 2024.

PANI, S.; KUMAR, A.; SHARMA, A. Trichoderma harzianum: An Overview. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 10, n. 6, p. 32-39, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/352312147_Trichoderma_harzianum_An_Overview. Acesso em: 19 abr. 2025.

PARRA, José R. P.; BOTELHO, Paulo S. M.; CORRÊA-FERREIRA, Beatriz S.; BENTO, José M. S. Controle Biológico: Terminologia. In: PARRA, José R. P.; BOTELHO, Paulo S. M.; CORRÊA-FERREIRA, Beatriz S.; BENTO, José M. S. **Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Jose-Mauricio-Bento/publication/318826631_Control_Biologico_Terminologia_in_portuguese/links/59807e79a6fdcc324bbe5b2e/Controle-Biologico-Terminologia-in-portuguese.pdf. Acesso em: 28 fev. 2024.

PARRA, José R. P.; JUNIOR, Aloisio C.; Applied Biological Control in Brazil: From Laboratory Assays to Field Applications. **Journal of Insect Science**, Reino Unido, Oxford, v. 19, n. 2, p. 1-6, mar. 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/jinsectscience/article/19/2/5/5368158>. Acesso em: 28 fev. 2024.

PASCHOLATI, S. F.; de SOUZA, V. H. M.; CARDOSO FILHO, J. A. Indução de resistência por Trichoderma. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. **Trichoderma: Uso na Agricultura**. Brasília, DF: Embrapa Soja, 2019. p. 235-254. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1117296>. Acesso em: 18 abr. 2025.

PEDRAZA, Raúl O. *et al.* *Azospirillum*. In: AMARESAN, N. *et al.* **Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi**. India: Academic Press, 2020, p. 73-105. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B978012823414300006X>. Acesso em: 13 set. 2024.

POINAR, G. O. Jr.; THOMAS, G. M.; LIGHTHART, B. Bioassay to determine the effect of commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* of entomogenous rhabditoid nematodes. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, vol. 30, n. 3-4, p. 195-202, abr. 1990. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016788099090105M>. Acesso em: 10 jan. 2025.

PRECETTI, A.; WIENDL, F.; TERÁN, F.; SGRILLO, R. **Estudos sobre dispersão de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana de açúcar através de traçador radioativo**. Boletim Técnico Copersucar, Piracicaba, n. 23, p. 12-17, 1983.

REIS, Verônica Massena *et al.* Agronomic performance of sugarcane inoculated with *Nitrospirillum amazonense* (BR11145). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 33, n. 4, p. 918-926, out. – dez., 2020. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/caatinga/article/view/9226/10358>. Acesso em: 20 set. 2024.

RODRIGUES, G. S. de S. C.; ROSS, J. L. S.; **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Uberlândia, MG: UFU, 2020. Disponível em: <https://edufu.ufu.br/catalogo/ebooks-gratuitos/trajetoria-da-cana-de-acucar-no-brasil-perspectivas-geografica-historica-e>. Acesso em: 21 out. 2024.

SAGE, Roman F. The evolution of C4 photosynthesis. **New Phytologist**, Canada: Toronto, v. 161, p. 341-370, dez. 2003. Disponível em: <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1469-8137.2004.00974.x>. Acesso em: 23 fev. 2024.

SANI, Ibrahim *et al.* Inoculation and colonization of the entomopathogenic fungi, *Isaria javanica* and *Purpureocillium lilacinum*, in tomato plants, and their effect on seedling growth, mortality and adult emergence of *Bemisia tabaci* (Gennadius). **PLOS ONE**, vol. 18, n. 5, 2023. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0285666>. Acesso em: 5 nov. 2024.

SANTOS, J. J. dos; BRIDA, A. L. de; JEAN-BAPTISTE, M. C.; BERNARDI, D.; WILCKEN, S. R. S.; LEITE, L. G.; GARCIA, F. R. M.; Effectiveness of *Steinernema rarum* PAM 25 (Rhabditida: Steinernematidae) Against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 4, 2022. Disponível em: <https://academic.oup.com/jee/article/115/4/967/6533136>. Acesso em: 10 abr. 2025.

SANTOS, Mariana Sanches; NOGUEIRA, Marco Antonio; HUNGRIA, Mariangela; Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista**

Brasileira de Ciência e Solo, vol. 45, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/CdtxRfpzKD8Y7DxBmXQfYgf/?lang=en#>. Acesso em: 13 set. 2024.

SANTOS, Terezinha M. dos; Manejo do habitat – Uma tática de controle conservativo. **Pesquisa & Tecnologia**, São Paulo, v. 3, n. 1, jan-jun 2006. Disponível em: <https://www.agricultura.sp.gov.br/documents/1007647/0/31.MANEJO%20DO%20HABITAT%20%E2%80%93%20UMA%20T%C3%81TICA%20DE%20CONTROLE%20BIOL%C3%93GICO%20CONSERVATIVO.pdf/9b4ca02f-fdf0-f4da-4e41-f8fef2b7c803>. Acesso em: 28 fev. 2024.

SESSITSCH, A. *et al.* Advances in Rhizobium Research. **Critical Reviews in Plant Sciences**, vol. 21, n. 4, p. 323-378, 2002. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0735-260291044278>. Acesso em: 13 set. 2024.

SILVA, Aline Sagaz da *et al.* Comportamento do *Steinernema rarum* em diferentes temperaturas. In: XXVII Congresso de Iniciação Científica, 2018, Universidade Federal de Pelotas. Disponível em: https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2018/CA_03227.pdf. Acesso em: 12 set. 2024

SILVA, Mateus Salviano Oliveira *et al.* An Assessment of *Steinernema rarum* as a Biocontrol Agent in Sugarcane with Focus on *Sphenophorus levis*, Host-Finding Ability, Compatibility with Vinasse and Field Efficacy. **Agriculture** **2021**, 11, 550. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/351945106_An_Assessment_of_Steinernema_rarum_as_a_Biocontrol_Agent_in_Sugarcane_with_Focus_on_Sphenophorus_levis_Host-Finding_Ability_Compatibility_with_Vinasse_and_Field_Efficacy. Acesso em: 11 set. 2024.

TARASCO, E.; FANELLI, E.; SALVEMINI, C.; EL-KHOURY, Y.; TROCCOLI, A.; VOVLAS, A.; DE LUCA, F.; Entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria: from genes to field uses. **Frontiers in Insect Science**, v. 3, 2023. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/insect-science/articles/10.3389/finsec.2023.1195254/full#f4>. Acesso em: 10 abr. 2025.

TECKIO, B. C. S.; GRZEBIELUCKAS, C.; COSTA, M. da S.; PEREIRA, M. J. B.; Custos da produção *on farm* de *Bacillus thuringiensis* para o controle de lepidópteros pragas. **Custos e @gronegócio online**, v.19, n. 4, 2023. Disponível em: <http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero4v19/OK%2011%20bacillus.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2025.

THURSTON, G. S.; KAYA, H. K.; BURLANDO, T. M.; HARRISON, R. E. Milky Disease Bacterium as a Stressor to Increase Susceptibility of Scarabaeid Larvae to an Entomopathogenic Nematode. **Journal of Invertebrate Pathology**, vol. 61, n. 2, p. 167-172, mar. 1993. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002220118371030X>. Acesso em: 10 jan. 2025.

THURSTON, G. S.; KAYA, H. K.; GAUGLER, R. Characterizing the Enhanced Susceptibility of Milky Disease-Infected Scarabeid Grubs to Entomopathogenic Nematodes. **Biological Control**, vol. 4, n. 1, p. 67-73, mar. 1994. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/257468773_Characterizing_the_Enhanced_Susceptibility_of_Milky_Disease-Infected_Scarabaeid_Grubs_to_Entomopathogenic_Nematodes. Acesso em: 10 jan. 2025.

TIAGO, Patricia Vieira; OLIVEIRA, Neiva Tinti de; LIMA, Elza Áurea de Luna Alves. Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular and ecological aspects. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 44, n. 4, p. 645-651, abr. 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/wDR5kxk9zzcCHGhDy3RS4vP/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 5 nov. 2024.

UNICA. **Bioeletricidade.** Disponível em: <https://unicadata.com.br/listagem.php?idMn=134>. Acesso em: 12 out. 2024.

UNICA. **Fotografia do setor.** Disponível em: <https://unicadata.com.br/listagem.php?idMn=158>. Acesso em: 12 out. 2024.

UNICA. **Histórico de moagem e produção de açúcar e etanol.** Disponível em: <https://unicadata.com.br/listagem.php?idMn=4>. Acesso em: 12 out. 2024.

United States Department of Agriculture. MARTIN, Phyllis A.; SHROPSHIRE, Ashaki D. S.; GUNDERSEN-RINDAL, Dawn E.; BLACKBURN, Michael B. *Chromobacterium substugae* sp. nov for control of insect pests. US 7.244.607 B2, 07 abr. 2005, 17 jul. 2007. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/a4/e6/37/31db848761bc62/US7244607.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2024.

USDA. **Production-Sugar.** Disponível em: <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/0612000>. Acesso em: 12 out. 2024.

VARGAS, German; RIVERA-PEDROZA, Leonardo F.; GARCÍA, Luis F.; JAHNKE, Simone M.; Conservation Biological Control as an Important Tool in the Neotropical Region. **Netropical Entomology**, Brasil, v. 52, p. 134-151, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13744-022-01005-1.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2024.

WAGHUNDE, R. R.; SHELAK, R. M.; SABALPARA, A. N. Trichoderma: A significant fungus for agriculture and environment. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/303703234_Trichoderma_A_significant_fungus_for_agriculture_and_environment. Acesso em: 19 abr. 2025.

WAND, Stephanie J. E. et al. Responses of wild C4 and C3 grass (Poaceae) species to elevated atmospheric CO2 concentration: a meta-analytic test of current theories and perceptions. **Global Change Biology**, África do Sul: Claremont, v. 5, n. 6, p. 723-741,

dez. 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2486.1999.00265.x>. Acesso em: 23 fev. 2024.

XAVIER, Gilson Gonçalves. **Níveis de dano econômico para o controle químico e biológico de *Sphenophorus levis* em cultivos de cana-de-açúcar de sequeiro e irrigado**. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, 2020. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/3bd217f0-0e35-44c7-b0b8-32eba5192b10/content>. Acesso em: 11 set. 2024.

ZAGO, Anna; CHUGANI, Sudha A. Pseudomonas. In: SCHAECHTER, Moselio. **Encyclopedia of Microbiology**. 3. Ed. EUA: Academic Press, 2009. p. 245-260. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123739445002030>. Acesso em: 10 abr. 2024.