



***Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* e *Leucothyreus* sp. na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça**

Mateus Salviano Oliveira Silva

**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**

***Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* e
Leucothyreus sp. na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça**

Mateus Salviano Oliveira Silva

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

**São Paulo
2020**

Mateus Salviano Oliveira Silva

***Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponomeuta taltula* e *Leucothyreus* sp. na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça**

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
2020**

Eu **Mateus Salviano Oliveira Silva**, 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 ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

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

Silva, Mateus Salviano Oliveira.

Steinernema rarum para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* e *Leucothyreus* sp. na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça. / Mateus Salviano Oliveira Silva. - São Paulo, 2020.

60 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2020D.MS004

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: Luís Garrigós Leite.

Versão do título para o inglês: *Steinernema rarum* for the control of *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* and *Leucothyreus* sp. in the culture of sugarcane and its compatibility with vinasse.

1. Bicudo-da-cana-de açúcar 2. *Galleria mellonella* 3. Controle biológico
I. Silva, Mateus Salviano Oliveira II. Leite, Luís Garrigós III. Instituto Biológico (São Paulo) IV. Título.

IB/Bibl./2020/004

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Mateus Salviano Oliveira Silva

Título: *Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* e *Leucothyreus* sp. na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da 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: 30/07/2020

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luís Garrigós Leite Instituição: Instituto Biológico/APTA

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. César Júnior Bueno Instituição: Instituto Biológico/APTA

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Profa. Dra. Inajá Marchizeli Wenzel Rodrigues: Koppert Biological Systems

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por toda a luz nos caminhos escuros e todo aprimoramento nos momentos de dificuldade. Agradeço ainda ao meu Santo Anjo da Guarda por toda a inspiração trazida dos Céus para a realização destas atividades;

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

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

À Fundação CAPES- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo financiamento da bolsa de mestrado;

Ao Dr. Luís Garrigós Leite, pela amizade, orientação, acolhimento, confiança e empenho na realização deste trabalho;

Aos membros do CAPSA - Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal, aos pesquisadores e aos amigos do Laboratório de Controle Biológico pela amizade, companheirismo e ensinamentos diários;

À Usina de cana-de-açúcar Abengoa Bioenergia pelos recursos e disponibilidade das áreas para os estudos;

Aos membros da banca de defesa de dissertação de mestrado, pelo pronto atendimento e disponibilidade em contribuir para este trabalho;

Aos meus pais, Clovis Oliveira Silva e Lucia de Fátima Salviano da Silva Oliveira, por toda paciência e dedicação na minha educação e pelo suporte indispensável até este momento;

Aos meus irmãos Marcos, Bruno e Maria Luiza, pela amizade e motivação em todos os momentos;

À minha família, por todo o incentivo e compreensão ao longo destes anos;

A todos que de alguma forma contribuíram para a condução e conclusão deste trabalho ou ajudaram indiretamente com incentivo e positividade;

A Nossa Senhora, medianeira de todas as graças, por toda força e resiliência adquiridas ao longo destes anos.

SILVA, Mateus Salviano Oliveira. ***Steinernema rarum* para o controle de *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* e *Leucothyreus* sp. na cultura da cana-de-açúcar e sua compatibilidade com vinhaça.** 2020. 60 f. São Paulo-SP. 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, 2020.

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. Dentre as pragas que atacam a cultura, o bicudo-da-cana, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), tem ganhado destaque nos últimos anos devido à sua crescente disseminação e os grandes prejuízos causados ao setor sucroalcooleiro. Os métodos atuais recomendados para o controle desse inseto, tanto culturais, como baseados na aplicação de produtos químicos, não têm gerado resultados satisfatórios, principalmente em virtude do comportamento do inseto. Uma alternativa para o manejo populacional dessa praga é a utilização de agentes de controle biológico, como os nematoides entomopatogênicos (NEPs), porém até o momento não há disponível no mercado um produto comercial a base desses entomopatógenos. Com este estudo foi possível compreender os aspectos relacionados à formulação, aplicação e eficiência de um produto a base de NEPs, que seja eficiente para o controle de pragas de solo em cana-de-açúcar e em outras culturas/ambientes. Foram selecionadas algumas das espécies de nematoides entomopatogênicos que, de acordo com a literatura, são eficientes no controle de insetos no solo, para um teste de capacidade em ambiente simulando o campo, testando não apenas o potencial patogênico de cada espécie, mas também a forma como agem no solo e infectam o hospedeiro. Além disso, a espécie mais eficiente foi colocada sob análise a fim de se observar uma dose ideal de produto a base desse agente de controle biológico, assim como seu efeito, durabilidade, viabilidade e ação no controle de cobaias em ambiente semelhante ao campo. Os resultados indicaram que a espécie *Steinernema rarum* foi a mais eficiente no controle de insetos no sentido de interceptação de hospedeiros e mortalidade causada aos mesmos, ainda que no interior de colmos de cana-de-açúcar. Os testes de campo indicaram ainda que esta espécie é eficiente no controle de *S. levis*, *Hyponeuma taltula* e larvas de escarabeídeos. Os testes de sobrevivência de nematoides em vinhaça indicaram que este resíduo não causa mortalidade de nematoides da espécie *S. rarum* quando aplicado à um substrato de palha de cana-de-açúcar.

PALAVRAS-CHAVE: Bicudo-da-cana-de-açúcar, *Galleria mellonella*, Controle biológico.

SILVA, Mateus Salviano Oliveira. **Steinernema rarum for the control of *Sphenophorus levis*, *Hyponeuma taltula* and *Leucothyreus* sp. in the culture of sugarcane and its compatibility with vinasse.** 2020. 60 f. São Paulo-SP. 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, 2020.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest producer of sugar cane. Among the pests that attack the crop, the sugarcane billbug, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), has gained prominence in recent years due to its growing spread and the great damage caused to the sugarcane industry. The current methods recommended for the control of this insect, both cultural and chemical-based, have not yielded satisfactory results, mainly due to the cryptic behavior of the insect. An alternative for the population management of this pest is the use of biological control agents, such as entomopathogenic nematodes (EPNs), but to date there is no commercial product based on these entomopathogens. With this study it was possible to understand the aspects related to the formulation, application and efficiency of a product based on EPNs that is efficient for the control of soil pests in sugarcane and other crops / environments. Some of the entomopathogenic nematode species that, according to the literature, are efficient in the control of insects in the soil were selected for an environmental capacity test simulating the field, testing not only the pathogenic potential of each species, but also the shape as they act in the soil and infect the host. In addition, the most efficient species was placed under analysis in order to observe an ideal dose of product based on this biological control agent, as well as its effect, durability, viability and action on the control of guinea pigs in a field-like environment. The results indicated that the species *Steinernema rarum* was the most efficient in the control of insects in the sense of hosts interception and mortality caused to them, even in the interior of sugarcane stalks. Field tests also indicated that this species is efficient in controlling *S. levis*, *Hyponeuma taltula* and scarab larvae. The survival tests of nematodes in vinasse indicated that this residue does not cause mortality of nematodes of the species *S. rarum* when applied to a substrate of sugarcane straw.

KEYWORDS: *Sugarcane billbug*, *Galleria mellonella*, Biological control.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Colmos da Cana-de-açúcar.....	14
Figura 2. Sistema radicular da Cana-de-açúcar.....	15
Figura 3. Ovos de <i>Sphenophorus levis</i>	22
Figura 4. Larva de <i>Sphenophorus levis</i> em galeria no interior do colmo.....	22
Figura 5. Pupa de <i>Sphenophorus levis</i> em câmara pupal no interior do colmo.....	23
Figura 6. Adultos fêmea e macho de <i>Sphenophorus levis</i>	23
Tabela 1. Nomes dos isolados, espécies e origens.....	32
Figura 7. Recipiente com areia inoculada com nematoides entomopatogênicos contendo colmos que devem conter as larvas de <i>Galleria mellonella</i>	33
Figura 8. Esquema de acomodação das larvas de <i>Galleria mellonella</i> no interior dos colmos para aplicação de nematoides entomopatogênicos.....	33
Figura 9. Bacias contendo areia e palhada, inoculada com nematoides entomopatogênicos da espécie <i>Steinernema rarum</i> , contendo colmos que devem encerrar as larvas de <i>Galleria mellonella</i>	34
Figura 10. Substratos preparados para teste de sobrevivência de nematoides.....	35
Figura 11. Método de molhamento da palha e peneiramento para retirada do excesso de líquido.....	36
Figura 12. Mortalidade de larvas de <i>Galleria mellonella</i> por nematoides entomopatogênicos sete dias após a aplicação.....	38
Figura 13. Mortalidade de larvas de <i>Galleria mellonella</i> enterradas, por nematoides entomopatogênicos da espécie <i>Steinernema rarum</i> , nas diferentes concentrações de 125,6; 502,4; 2009,6; 8038,4 e 32153,6 JIs/40 cm de linha	41
Figura 14. Mortalidade de larvas de <i>Galleria mellonella</i> dentro dos colmos, por nematoides entomopatogênicos da espécie <i>Steinernema rarum</i> , nas diferentes concentrações 125,6; 502,4; 2009,6; 8038,4 e 32153,6 JIs/40 cm de linha	41
Figura 15. Viabilidade de nematoides da espécie <i>Steinernema rarum</i> (PAM 25) na fase de Juvenil Infectivo nos diferentes tratamentos composto por: água (Controle), vinhaça, palha mais água e palha mais vinhaça; durante os intervalos de tempo no período de exposição de 30 dias.....	42
Tabela 2. Valores de desvio padrão, erro padrão, média geral, viabilidade final e teste de Tukey (P <0,005), para cada tratamento.....	42
Figura 16. População de <i>Sphenophorus levis</i> (larvas + pupas) em cana-de-açúcar. Medias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,005)	44
Figura 17. População de <i>Hyponomeuta taltula</i> em cana-de-açúcar. Medias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P <0,005)	45
Figura 18. Número de insetos adultos da espécie <i>Sphenophorus levis</i> encontrados nos rizomas de amostras de cana-de-açúcar por tratamento: <i>Steinernema rarum</i> (1x10 ⁸ JIs/ha e 3x10 ⁸ JIs/ha), Fipronil (1,2 L/ha) e Testemunha. Medias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Duncan (P <0,005)	48
Figura 19. Número de larvas de <i>Leucothyreus</i> sp. encontrados nos rizomas de amostras de cana-de-açúcar por tratamento: <i>Steinernema rarum</i> (1x10 ⁸ JIs/ha e 3x10 ⁸ JIs/ha), Fipronil (1,2 L/ha) e Testemunha. Medias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Duncan (P <0,005)	48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivo específico.....	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1. O cultivo de cana-de-açúcar	14
3.2. Pragas da cana-de-açúcar	18
3.3. O bicudo-da-cana-de-açúcar	20
3.4. Danos causados	20
3.5. Bioecologia de <i>S. levis</i>	21
3.6. Monitoramento de <i>S. levis</i>	24
3.7. Controle de <i>S. levis</i>	25
3.8. O controle biológico.....	27
3.9. Uso de nematoides entomopatogênicos	28
3.10. A vinhaça	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Seleção de isolado de nematoides entomopatogênicos	32
4.2. Seleção de dose ideal de NEPs.....	34
4.3. Viabilidade de NEPs em vinhaça	35
4.4. Teste de campo I - Combinação de nematoides	36
4.5. Teste de campo II - Eficácia de doses	36
4.6. Análise estatística.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1. Avaliação de nematoides entomopatogênico	38
5.2. Avaliação de doses	40
5.3. Efeito da vinhaça.....	42
5.4. Teste de campo I - Combinação de nematoides	44
5.5. Teste de campo II - Eficácia de doses	47
6. CONCLUSÃO	50
7. REFERÊNCIAS	51

1. INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma das principais atividades que impulsionam a economia brasileira. Dentre os estados produtores, São Paulo destaca-se com uma produção estimada em 75.207 kg/ha na safra 2018/2019, correspondendo a mais de 55% do total produzido no país (CONAB, 2019). Para alcançar esse patamar, grandes investimentos têm sido feitos em tecnologias usadas no estabelecimento e condução da cultura, incluindo estratégias para o manejo integrado de pragas.

Inúmeros insetos herbívoros podem atacar a cana-de-açúcar, havendo um destaque para aqueles conhecidos como pragas de solo que se alimentam do sistema radicular. O bicudo-da-cana, *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae), é um inseto que vem assumindo grande importância nos últimos anos, principalmente por estar disseminado em áreas do estado de São Paulo e com potencial de incidência em outros estados (GIOMETTI et al., 2011). Os principais danos do inseto à cultura ocorrem durante a sua fase imatura, quando as larvas abrem galerias no rizoma da planta, podendo acarretar a morte de 50 a 60% dos perfilhos, perdas na produção de até 30% e redução da longevidade dos canaviais (LEITE et al., 2012).

O principal método recomendado para o controle desse inseto tem sido a destruição mecânica das soqueiras e restos culturais, proporcionando resultados satisfatórios somente no primeiro corte da cana. Após esse período, como o rizoma da cana permanece para a próxima safra, a incidência da praga aumenta. O controle químico pelo uso de fipronil WG 250 g p.c./ha e Actara 250 WG 1 Kg p.c./ha também tem sido recomendado, com as desvantagens do elevado custo dos produtos, riscos de intoxicação e poluição ambiental. Além disso, o controle químico não tem se mostrado muito eficiente, visto que as larvas se alimentam no interior da planta hospedeira e os adultos permanecem enterrados, sendo dificilmente atingidos pelos produtos (PRECETTI; ARRIGONI, 1990; LEITE et al., 2012).

Como alternativa para o manejo populacional dessa praga destaca-se o controle biológico por meio do uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, os quais têm se mostrado bastante efetivos no controle de diversas espécies de curculionídeos pragas, inclusive do gênero *Sphenophorus*, nos EUA e Japão (SMITH, 2005). Esses nematoides possuem uma relação simbiótica altamente

específica com bactérias capazes de causar a morte rápida do inseto hospedeiro.

Ambos os gêneros de nematoides atacam exclusivamente insetos e têm ciclos de vida semelhantes, começando com um juvenil infectivo (JI) que transporta a bactéria entomopatogênica dentro do seu intestino e a libera na hemocele de um hospedeiro adequado. Os nematoides e as bactérias simbiotes agem em conjunto para vencer o sistema imunológico do inseto, causando a sua morte dentro de 24 a 48 horas (DOWDS; PETERS, 2002). Posteriormente, as bactérias se multiplicam no interior do inseto e o nematoide se propaga alimentando-se de ambos. Quando o alimento se esgota, o nematoide é induzido para a forma de JI e deixa o cadáver do inseto a procura de um novo hospedeiro (BROWN; GAUGLER, 1997).

O nematoide *Steinernema brazilense* mostrou excelentes resultados no controle de *S. levis* em casa de vegetação e campo, causando 80% de mortalidade de larvas do inseto dentro dos rizomas das plantas e 60% de controle dos adultos no campo (TAVARES et al., 2007; GIOMETTI et al., 2011; LEITE, 2011). Os ganhos de produção gerados pela aplicação do nematoide tem sido semelhantes aos ganhos gerados pela aplicação do inseticida fipronil, com a vantagem do nematoide ser um produto de menor custo, não poluir o meio ambiente, não deixar resíduos no produto, ser seletivo para inimigos naturais e ser totalmente seguro ao trabalhador.

Esses nematoides podem atuar também no controle de outras pragas de solo que atacam a cana-de-açúcar, como as ninfas da cigarrinha da raiz, *Mahanarva fimbriolata*, larvas de corós *Leucothyreus* sp (Coleoptera: Scarabaeidae) e a lagarta *Hyponeuma taltula* (Lepidoptera: Noctuidae) (LEITE et al., 2006). A espécie *Heterorhabditis indica*, por exemplo, proporcionou 60% de controle da cigarrinha da raiz, enquanto que *Steinernema brazilense* causou 50% de controle do coró (LEITE et al., 2012).

Apesar dos estudos indicando a viabilidade de uso dos NEPs para o controle de pragas de solo que atacam a cana-de-açúcar e outras culturas, até o momento não há um produto comercial disponível no mercado. Além disso, agricultores tem mostrado demanda pelo desenvolvimento de métodos alternativos e eficazes de controle das pragas de solo da cana-de-açúcar, já que os inseticidas químicos não têm gerado resultados esperados, encarecendo a produção e poluindo o ambiente. Neste contexto, a presente proposta visa a estudar e aperfeiçoar os métodos de utilização dos NEPs, a fim de desenvolver um produto comercial eficiente e sustentável para o controle do bicudo-da-cana-de-açúcar em campo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Encontrar a melhor opção para o controle do *Sphenophorus levis* em cana-de-açúcar, relacionado aos nematoides entomopatogênicos.

2.2. Objetivo específico

1. Selecionar o isolado de NEP que apresente maior eficiência no controle do bicudo, aferido através da mortalidade de larvas em laboratório
2. Selecionar a melhor dose de NEP para o uso em campo, que seja viável e apresente bom resultado.
3. Avaliar a influência da vinhaça sobre a mortalidade de nematoides, com finalidade de utilização desse substrato pra aplicação de NEPs em campo.
4. Avaliar o controle das pragas de solo com NEP aplicado no solo da cana-de-açúcar.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O cultivo de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) pertencente à família Poaceae, gênero *Saccharum*, sendo uma planta semi-perene, necessita de um intervalo para o plantio menor que as plantas perenes. Nesse caso, um ciclo médio de quatro anos desde o plantio até a renovação das áreas cultivadas (TOLEDO et al., 2011).

Na parte aérea da planta, notam-se os seguintes componentes: folhas, inflorescências e colmos, que são cilíndricos e formados por sucessivos entrenós, ligados entre si por nós (Fig 1). Cada entrenó possui uma gema axilar, utilizada no cultivo extensivo, e por isso a cana-de-açúcar é tida como uma cultura de propagação vegetativa, já a parte subterrânea é composta de rizomas e raízes (CAMPOS, 2013).



Figura 1. Colmos da Cana-de-açúcar

Fonte: Mateus S. O. Silva - Instituto Biológico, 2020.

Segundo Alcarde (2017), a fibra da cana contém principalmente celulose, hemicelulose e lignina, sendo que seu teor depende majoritariamente da variedade e da idade da planta, alternando de 10% a 16%. O caldo representa 84% a 90% do colmo, sendo constituído de água (75% a 82%) e de sólidos solúveis (18% a 25%), agrupados em açúcares (18%) e não açúcares orgânicos (1%) e inorgânicos (1%).

Ainda de acordo com Alcarde (2017), os açúcares são constituídos principalmente pela sacarose, glicose e frutose. A sacarose é o principal componente (17%), já os não açúcares orgânicos são constituídos por substâncias nitrogenadas (proteínas e aminoácidos), gorduras, ceras, ácidos e pigmentos (clorofila e antocianina). Os não açúcares

inorgânicos constituem-se de sílica, potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio, ferro, cloro, alumínio e enxofre.

Conforme Silva et al. (2007), a cana-de-açúcar tem potencial de perfilhamento, ou seja, brotação a partir de seu rizoma (Fig 2), originando-se na base da planta ou na região axilar da folha basal. Cada perfilho é uma ramificação do colmo e a intensidade do perfilhamento é variável, podendo ocorrer até quatro meses após o plantio, originando de 10 a 20 perfilhos (SILVA et al., 2007).



Figura 2. Sistema radicular da Cana-de-açúcar
Fonte: Mateus S. O. Silva - Instituto Biológico, 2020.

Após o primeiro corte, chamado de cana-planta, a cana-de-açúcar passa a ter um ciclo de colheita anual, sendo que ao crescer para o segundo corte é chamada de cana-soca e é denominada rессoca nos cortes seguintes. Pode render de três a seis colheitas consecutivas (dependendo da variedade de cana-de-açúcar plantada), ou seja, é possível que se tenha até 5 socas. No entanto, o que deve determinar a quantidade possível de cortes, além do potencial genético advindo de cada variedade, são fatores como o manejo do solo e de água, clima, entre outros (CAVERSAN, 2017).

Dentre os fatores que determinam a produção da cana, a água pode ser considerada como elemento decisivo para o sucesso da lavoura. Sua falta ou excesso afetam de maneira significativa o desenvolvimento das plantas, pois influencia diretamente outros fatores, como absorção de nutrientes e desenvolvimento vegetal. A cana-de-açúcar apresenta elevado consumo de água, necessitando de aproximadamente 250 partes de água para formar uma parte de matéria seca na planta (MAULE, 2001).

Além disso, o bom desempenho da cultura depende de uma série de outros fatores, como fertilidade do solo, manejo hídrico (1.500 a 2.500 mm), cultivar, idade de

corte, tipo de solo e do clima (DA SILVA; BORGES; DE ALBUQUERQUE, 2014). Nesse contexto, o solo destaca-se por fornecer às plantas suporte físico, água e nutrientes. Os solos profundos, pesados, bem estruturados, férteis e com boa capacidade de retenção são ideais para a cana-de-açúcar que, tendo em vista a sua rusticidade, desenvolve-se bem, mesmo em solos como os de cerrado (MAULE, 2001; CAMPOS, 2013).

As necessidades hídricas dessas plantas estão relacionadas diretamente com o clima onde se encontram (com temperaturas ideais de 18°C a 35°C), principalmente por serem oriundas de regiões de clima tropical, onde existe alternância de estações secas e úmidas (DA SILVA; BORGES; DE ALBUQUERQUE, 2014; ALCARDE, 2017). O centro de origem desta cultura pode ser situado entre a China e Nova Guiné, tendo em vista registros com mais de 8000 anos da presença desta planta nesse território (MARIN; NASSIF, 2013).

A primeira cultura de cana-de-açúcar foi estabelecida no Brasil em 1502 por europeus, utilizando-se mudas trazidas da Ilha da Madeira, expandindo rapidamente seu território, principalmente na região Nordeste (Bahia, Piauí, Alagoas e Paraíba), devido às características edafoclimáticas favoráveis e aos solos férteis. Isso garantiu em pouco tempo o monopólio de produção de açúcar a Portugal, gerando alta lucratividade e desenvolvimento (DE CARVALHO; FURTADO, 2013).

De acordo com Marin e Nassif (2013), no século XIX houve uma expansão dos pólos produtores de açúcar pelo mundo, o que reduziu a importância do Brasil no mercado mundial, comprometendo assim a viabilidade econômica da atividade interna. Neste período, os Estados de São Paulo e Rio de Janeiro se firmaram como pólos fornecedores de açúcar para as regiões Sul e Sudeste.

Em 1933 houve a criação do Instituto do Açúcar e do Alcool (IAA), a fim de regular a produção interna e desenvolver pesquisas sobre a cultura. Em 1973 ocorreu a primeira crise do petróleo, dando espaço no Brasil ao Programa Nacional do Alcool - ProAlcool, com o objetivo de inserir o etanol na matriz energética brasileira, sendo que em 1979 deu-se início a produção de veículos movidos a etanol. A produção nacional desse tipo de veículo atraiu a classe média, devido ao custo mais barato em relação aos veículos movidos a gasolina, gerando uma área de desenvolvimento muito rentável (MARIN; NASSIF, 2013).

Atualmente, a cana-de-açúcar é uma das culturas de metabolismo C4 mais importantes do mundo para a produção de alimentos, fornecendo cerca de 75% da colheita mundial de açúcar para o consumo humano (MARIN; NASSIF, 2013). É cultivada numa

extensa área territorial, compreendida entre os paralelos 35° de latitude Norte e Sul do Equador, apresentando melhor comportamento nas regiões quentes.

O Brasil encontra-se ainda como maior produtor mundial, detendo cerca de $\frac{1}{3}$ da produção global, seguido de Índia e China (RODRIGUES, 2010; CAMPOS, 2013). O clima ideal é aquele que apresenta duas estações distintas: uma quente e úmida, pois isso proporciona a germinação, perfilhamento e desenvolvimento vegetativo; seguido de outra fria e seca, para favorecer a maturação e acúmulo de sacarose nos colmos, com valores mais elevados na direção do centro do caule (CAMPOS, 2013; ALEXANDER, 1973).

No Brasil ocorrem duas épocas de colheitas anuais, uma em meados de setembro a abril, nas regiões norte e nordeste e outra em meados de maio a dezembro nas regiões centro oeste, sudeste e sul, sendo o período de janeiro e março a melhor época para o plantio (TOLEDO et al., 2011). Segundo dados da UNICA (2018), a produção de cana-de-açúcar se concentra principalmente nas regiões Centro-Sul e Nordeste do Brasil. Somente na safra de 2016-2017, foram utilizadas respectivamente 9.182.699 e 1.062.403 hectares de plantio para essas regiões, com total nacional de 10.245.102 hectares de cana-de-açúcar.

Conforme dados da Conab (2018), os números finais da safra 2017-2018 apontam para uma área colhida de 8.729,5 mil hectares de cana-de-açúcar destinada à atividade sucroalcooleira com uma produção finalizada efetiva de 633,3 milhões de toneladas de cana.

De acordo com Rodrigues (2010), 52% da produção brasileira destina-se à produção de álcool e 48% para açúcar. O Brasil é o maior exportador mundial de açúcar, responsável por 45% do total comercializado mundialmente. Atualmente, o etanol já é reconhecido mundialmente pelas suas vantagens ambientais, sociais e econômicas, atraindo um crescente interesse na produção brasileira, o que vem refletindo em um considerável investimento nas lavouras de cana-de-açúcar nacionais nos últimos anos (RODRIGUES, 2010).

De acordo com a Conab (2019), São Paulo, sendo o maior produtor nacional, deverá ter uma redução na área de 181,5 mil hectares, assim como para os Estados do Paraná e Minas Gerais, que devem apresentar um decréscimo na área em produção de 5,4% e 1,2% respectivamente, quando comparada à safra anterior. No entanto, para o Estado de Goiás há perspectiva de incremento na área de produção, com 949,2 mil hectares de área de cana-de-açúcar nessa temporada (3,5% maior que 2018/19), da mesma maneira em que no Mato Grosso do Sul a estimativa é de um incremento na área, prevendo cerca de 653,2 mil hectares.

Apesar da importância da cultura da cana-de-açúcar para o Brasil, o rendimento nacional é baixo, com média de 75 toneladas/ha, principalmente o país tem passado por uma fase de estagnação na sua produtividade agrícola, muito influenciada pelo clima, que tem se mostrado cada vez mais errático. Outros diversos tipos de estresses têm ainda afetado sua indústria de maneira geral, podendo mudar o grau de sua importância, contudo as pragas e doenças sempre estão entre aqueles que causam as maiores perdas (RODRIGUES, 2010; UNICA, 2018).

A queima da cana em pré-colheita foi uma prática muito comum no cultivo de cana-de-açúcar, realizada com o objetivo de facilitar a operação de corte e de reduzir o volume de materiais alheios transportados à usina (MENDONÇA, 2005). Atualmente, a colheita mecanizada da cana-de-açúcar é utilizada nos sistemas de produção no Brasil, sem a queima. As folhas, bainhas, ponteiro, além de quantidade variável de pedaços de colmo são cortados, triturados e lançados sobre a superfície do solo, formando uma cobertura de resíduo vegetal denominada palha ou palhada, contribuindo com a conservação do solo e da lavoura. Outras vantagens incluem a redução da erosão e o aumento do teor de matéria orgânica (SOUZA et al., 2005).

As mudanças do sistema de produção, preservando a palha no canavial pela colheita de cana crua (antigamente queimada), mesmo contribuindo com a sua conservação, propiciaram uma reorganização de todo o ecossistema e aumentaram as populações de pragas que se abrigam e multiplicam-se sob a palhada. Apesar de também aumentar o número de inimigos naturais, ainda assim as desvantagens advindas desse novo sistema consistem em um fator limitante para a produção de cana-de-açúcar em todo território brasileiro (SOUZA et al., 2005).

3.2. Pragas da cana-de-açúcar

Neste contexto, muitos elementos são responsáveis pela redução dos rendimentos agroindustriais da cultura da cana-de-açúcar, dentre os quais incluem-se os insetos considerados pragas, que causam significativas perdas por unidade de área, acarretando prejuízo econômico para os produtores (PEREIRA; FERNANDES; VELOSO, 2010).

Dentre as pragas para essa cultura, algumas das que podem acarretar danos mais graves são aquelas de hábito subterrâneo, já que o controle desse tipo de organismo pode ser considerado como o mais dificultoso, tendo em vista que foram pouco estudados.

As informações sobre pragas subterrâneas no Brasil são restritas, podendo-se afirmar que é uma das áreas de maior necessidade de pesquisa e de grande preocupação para agricultura. Além disso, o controle de pragas de solo é muito ineficiente, pois os inseticidas atualmente utilizados possuem curto período residual, diminuindo assim sua eficiência (GASSEN, 1989; VIANA et al., 2001).

De acordo com Viana et al. (2001), pragas de solo atacam e danificam o sistema radicular, acarretando falhas nas lavouras e as plantas sobreviventes tornam-se improdutivas ou aumentam suas perdas na colheita, devido ao tombamento ou pelos danos causados às raízes. Entre algumas das principais pragas subterrâneas para essa cultura encontram-se os corós, cigarrinhas das raízes, o besouro *Migdolus fryanus*, cupins e as brocas encontradas nos rizomas (*Metamasius hemipterus* e *Sphenophorus levis*) (ZUCCHI, 1992).

A mariposa *Hyponeuma taltula*, conhecida popularmente como broca-peluda da cana-de-açúcar teve sua ocorrência relatada pela primeira vez em canaviais no ano de 1973, nos Estados de São Paulo e Pernambuco, espalhando-se para todas as regiões do país desde então (FERNANDEZ TRIANA, 2015).

As fêmeas desta espécie depositam os ovos na base da cana-de-açúcar, onde as larvas penetram no rizoma e dele se alimentam, juntamente com os nós inferiores da planta, levando a destruição do caule e de alguns tecidos de crescimento (TRIANA et al., 2020). Ao se alimentarem de plantas novas, *H. taltula* causa a morte da gema apical, ocasionando sintoma conhecido como coração morto, enquanto que o ataque na cana adulta pode causar perda de peso e enfraquecimento da planta, além de possibilitar a entrada de patógenos, diminuindo drasticamente o rendimento do canavial (ZENKER et al., 2007).

No Brasil, alguns insetos escarabeídeos são considerados pragas de raízes de plantas, dentre estes algumas espécies pertencem ao gênero *Leucothyreus* (RODRIGUES; PUKER; TIAGO, 2010), consideradas pragas de importância pois suas larvas alimentam-se de raízes de vários tipos de gramíneas, incluindo a cana-de-açúcar (COUTINHO et al., 2011). Existem poucas informações sobre este grupo de inseto praga. No entanto sabe-se que algumas espécies possuem ciclo de vida em menos de um ano, aproximadamente 275 dias, proporcionando a emergência de adultos no início da estação chuvosa (RODRIGUES; FERREIRA; GOMES, 2016).

3.3. O bicudo-da-cana-de-açúcar

O gênero *Sphenophorus* (Coleoptera: Curculionidae) compreende um complexo de espécies que danificam gramíneas em diversas regiões do globo, compreendendo uma gama de insetos que podem acarretar prejuízos a diversas culturas de importância agrícola. Nos EUA ocorrem mais de 64 espécies desse gênero, onde 20 foram registradas apenas na Flórida (TAVARES et al., 2009; CANASSA, 2014). De acordo com Canassa (2014), existem ao todo 75 espécies descritas na América do Norte e na Ásia; 26 em certas regiões da África e América do Sul, sendo que dessas, 14 podem ser encontradas no Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai.

No Brasil, o bicudo-da-cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis*, é uma das pragas agrícolas economicamente mais importantes da família Curculionidae. As larvas deste besouro se alimentam do rizoma da cana e da base do colmo, construindo galerias que eventualmente causam a morte da planta. Isso acarreta uma redução na produtividade de uma das mais importantes culturas agrícolas do país (EVANGELISTA et al., 2015).

Os primeiros relatos de incidência de *S. levis* como praga da cana-de-açúcar aconteceram em Santa Bárbara d'Oeste – São Paulo, no ano de 1978. Na região de Piracicaba – São Paulo, a praga causou danos em perfilhos da cana com cinco a sete meses de crescimento. Desde então assumiram grande importância, principalmente por estar se disseminando em áreas onde sua incidência ainda não havia sido registrada, tendo em vista que na última década foram descritos em 124 municípios do estado de São Paulo, além de Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás (TAVARES et al., 2009; GIOMETTI et al., 2011; CANASSA, 2014).

3.4. Danos causados

As lesões causadas pelo bicudo-da-cana-de-açúcar (*S. levis*) se dão abaixo do nível do solo, no estágio larval do inseto que busca abrigo e alimento justamente no rizoma da planta. Seu ataque dá origem a galerias na base da brotação, bloqueando o fluxo de nutrientes e ocasionando sintomas característicos (normalmente nas épocas secas do ano) como amarelecimento e secamento das folhas, morte dos perfilhos e por fim prejudicando a rebrota da cultura para os anos seguintes (DEGASPARI et al., 1987; GIOMETTI et al., 2011; RINKE et al., 2011).

Pode-se complementar ainda expondo as características comuns das galerias deixadas pelas larvas do bicudo, que normalmente são circulares ou longitudinais, com altura

média de 7,5 cm de comprimento no interior dos colmos. A altura máxima em que podem ser encontradas acima do nível do solo é de 21 cm de comprimento (PAVLÚ, 2013; CANASSA, 2014).

Os prejuízos causados por essa praga são graves. Girón-Pérez et al. (2009), citaram alguns locais do estado de São Paulo onde 50% a 60% de perfilhos foram atacados ainda no estágio de cana-planta, estimando perdas de 20 a 30 t de cana-de-açúcar ha/ano.

Devido ao hábito críptico das larvas, diversas das técnicas ou estratégias convencionalmente aplicadas no controle de pragas têm obtido pouco ou nenhum sucesso (RINKE et al., 2011), incluindo o uso de inseticidas sintéticos que falham por não atingirem a praga em seu momento de maior susceptibilidade (ZARBIN et al., 2003).

Outro fator que contribui para a continuidade desse inseto no campo é a constante deposição de restos culturais proporcionada pela colheita da cana crua, tendo em vista que as larvas são capazes de aproveitar os tecidos vegetais e os adultos, quando emergidos, podem encontrar abrigo e alimentação suficiente para sobreviver até o surgimento de novos brotos (WADT, 2016).

3.5. Bioecologia de *S. levis*

As fêmeas do bicudo são capazes de colocar de 60 a 70 ovos ao longo de toda sua vida, depositando-os na base das touceiras de cana (TAVARES et al., 2009). Para isso, a fêmea faz uma abertura na planta e coloca cada ovo separadamente, isolando-os uns dos outros. Os ovos possuem formato elíptico, com aproximadamente $0,27 \text{ mm} \pm 0,004 \text{ mm}$ de comprimento e $0,10 \text{ mm} \pm 0,012 \text{ mm}$ de largura (Fig 3). Quando o ovo é posto, imediatamente possui uma coloração mais clara, branco-leitosa, que passa a escurecer conforme o momento da eclosão se aproxima (DEGASPARI et al., 1987). O período de incubação é de aproximadamente 7 a 12 dias (CÍCERO, 2007).

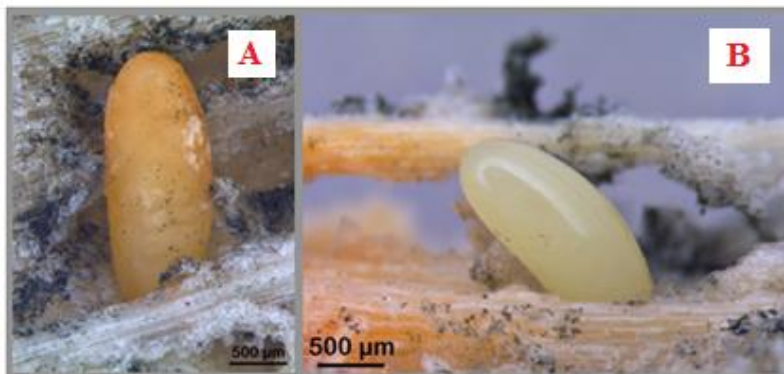


Figura 3. Ovos de *Sphenophorus levis*. A – Ovo próximo da eclosão da larva; B – Ovo recém colocado no colmo.

Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.

Após a eclosão dos ovos, as larvas se mantêm no interior do colmo por aproximadamente 50 dias, principalmente nos períodos mais secos do ano, apresentando um pico populacional em junho e julho. No interior da planta, a larva alimenta-se e obtém proteção contra predadores ou doenças. São ápodas e possuem a cabeça avermelhada, com corpo de coloração branca, passando gradualmente para amarelo à medida que se desenvolvem até atingirem aproximadamente 15 mm (Fig 4), quando devem seguir ao estágio de pupa (ALENCAR, 2016; SOARES-COSTA et al., 2011).



Figura 4. Larva de *Sphenophorus levis* em galeria no interior do colmo.

Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.

No momento em que a larva deve iniciar o estágio de pupa, prepara uma galeria para acomodar o que será a câmara pupal, aumentando-a e suspendendo qualquer atividade após isso, interrompendo até mesmo a alimentação. Imediatamente após passar para estado de pupa, sua coloração é branco-leitosa (Fig 5), mas passa a escurecer ao longo do tempo, até o momento da emergência do adulto. É do tipo exarada e pode ser encontrada

envolta em serragem, podendo permanecer nesse estágio de desenvolvimento por aproximadamente 10 dias (PAVLÚ, 2013).



Figura 5. Pupa de *Sphenophorus levis* em câmara pupal no interior do colmo.
Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.

Os adultos de *S. levis* encontram abrigo no subsolo junto ao rizoma e algumas vezes podem ser vistos caminhando sobre o solo, mas muito raramente voando, pois tem comportamento pouco ágil, podendo até mesmo simular morte ao serem manuseados. A fêmea possui tamanho aproximado de 15 mm de comprimento, enquanto o macho apresenta aproximadamente 10 mm, além disso o macho diferencia-se por dispor na região ventral uma área mais pilosa. Possuem coloração marrom escura, com manchas pretas no dorso e tórax e ainda listras longitudinais sobre os élitros (Fig 6) (IZEPPI, 2015).

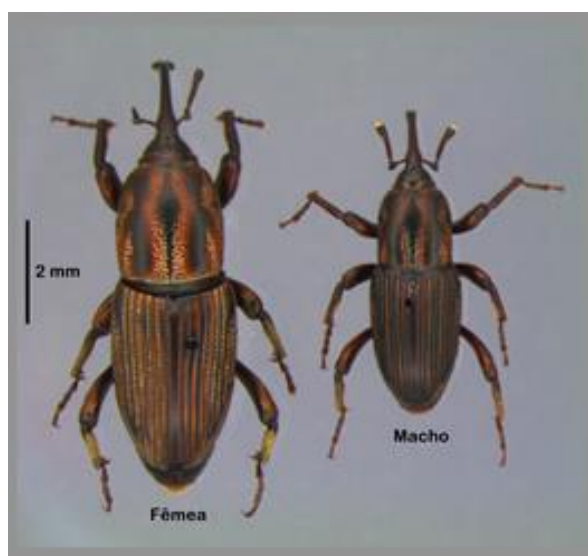


Figura 6. Adultos fêmea e macho de *Sphenophorus levis*.
Fonte: Valmir Antonio Costa – Instituto Biológico, 2018.

Existem duas épocas do ano em que ocorrem picos populacionais de adultos do bicudo-da-cana, sendo um de maior incidência de fevereiro a março e outro menos expressivo entre outubro e dezembro. Devido a sua baixa mobilidade, possuem quase nenhum índice de migração, limitando-se normalmente a uma média de 6 a 11 m ao redor da touceira atacada, vivendo majoritariamente de maneira agregada. O ciclo biológico completo tem em média 173,2 dias, mas o período reprodutivo ocorre relativamente cedo, de 21 a 35 dias após a emergência dos adultos (GRANSO, 2017).

3.6. Monitoramento de *S. levis*

Durante muito tempo, a aplicação de produtos químicos de maneira irresponsável era feita para as grandes culturas de maneira geral. As aplicações eram conduzidas com base em calendários, que levavam em conta apenas os momentos em que ocorrem os picos populacionais das pragas, mas não se considerava se essas populações eram de fato causadoras de danos que realmente trouxessem prejuízos à cultura, ou seja, se o nível populacional acarretaria um nível de dano que exigisse controle (ZUCCHI, 1992).

As consequências advindas desse tipo de prática podem ser desastrosas, como por exemplo o surgimento de resistência de pragas a diversos tipos de inseticidas (ARAÚJO et al., 2000); efeitos danosos sobre outros insetos que agem como inimigos naturais (CZEPAK et al., 2005) e polinizadores (PINHEIRO; FREITAS, 2010), da mesma maneira para outros animais silvestres; efeitos tóxicos ao homem no momento da aplicação ou através de resíduos, além é claro dos impactos ambientais nas áreas ao redor da cultura (CASSAL et al., 2014).

Atualmente é sabido que antes de se realizar o controle de pragas propriamente dito, é necessário primeiramente aferir o nível de controle (NC) e o nível de dano econômico (NDE), onde o NC define o momento em que a população de uma praga deve ser controlada e NDE define o momento em que esta praga é realmente prejudicial do ponto de vista econômico e o momento em que é viável fazer o controle (GARCIA, 2006).

Visando a preservar a cultura por meio da manutenção do nível populacional das pragas para um patamar abaixo do nível de dano econômico, Zucchi (1992) cita o manejo de pragas como alternativa para o uso incorreto de produtos químicos, sendo que o passo

inicial deve ser a avaliação populacional dos insetos, para se conhecer o nível de infestação das pragas e orientar o seu controle. No entanto, isso exige um levantamento populacional realizado através de amostragens.

As medidas de controle de *S. levis* também devem ser realizadas mediante o monitoramento prévio, principalmente antes da implantação ou reforma da lavoura, realizando o levantamento após o último corte do canavial e antes da destruição das antigas soqueiras (IZEPPI, 2015).

O monitoramento do bicudo-da-cana é realizado com base no número de adultos encontrados em campo, utilizando-se iscas fabricadas com toletes de cana de aproximadamente 30 cm, cortados ao meio verticalmente e imersos por 24 horas em solução inseticida e distribuídos em número de 100 iscas por hectare. Em seguida deve-se posicionar as iscas o mais próximo possível da base das touceiras, cobrindo com palha para preservar o ambiente favorável ao inseto e renovar as armadilhas a cada 20 dias (ALENCAR, 2016).

Outro método de amostragem frequentemente utilizado é realizado para levantamento da população de larvas e pupas, com base na abertura de trincheiras no solo, em dois pontos por hectare, com dimensões de 50 cm de largura por 50 cm de comprimento e 30cm de profundidade, sendo que o solo e a touceira coletados devem ser verificados, contando as formas biológicas e ocorrência de danos em cada ponto de amostragem (IZEPPI, 2015).

Para o bicudo-da-cana, ainda não existe um nível de dano econômico bem definido, em razão do alto dano causado. Por isso, entre os produtores há consenso em que o controle deve ser realizado em quase todas as áreas que apresentam algum histórico do ataque desta praga (DINARDO-MIRANDA, 2014).

Apesar de não haver até o momento nenhum método totalmente efetivo, tendo em vista que a população do bicudo continua crescendo, Canassa (2014) descreve os seguintes métodos que, quando utilizados de maneira integrada, podem contribuir para a diminuição dos danos: controle cultural, controle químico, plantas resistentes, feromônios de agregação e controle biológico.

3.7. Controle de *S. levis*

O controle cultural consiste na destruição das soqueiras com uso de equipamento mecanizado, principalmente nas áreas devastadas a serem reformadas, mantendo-se ainda um controle sobre plantas que possam ser hospedeiras do bicudo,

sobretudo as gramíneas (BARRETO-TRIANA, 2009). Este é o método mais utilizado de controle, pois proporciona a exposição das larvas a fatores externos, como temperatura desfavorável e predadores, além do secamento dos rizomas (CANASSA, 2014). No entanto, essa costuma ser uma técnica satisfatória somente no primeiro corte, pois as larvas podem alimentar-se da matéria orgânica advinda do plantio, mantendo sua viabilidade e potencialidade de causar danos no próximo cultivo (RINKE, 2009).

O controle químico realizado para *S. levis*, além das iscas tóxicas já citadas, inclui a aplicação de produtos registrados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), tais como: Fipronil (Albatross®), clorantraniliprole (Altacor®), bifentrina (Capture 400 EC®), lambda-cialotrina + tiametoxam (Engeo Pleno S®), imidacloprido (Imidacloprid Nortox®), alfa-cipermetrina + fipronil + piraclostrobina (Muneo®), alfa-cipermetrina + fipronil (Regent Duo®), bifentrina + carbossulfano (Talisman®) e imidacloprido (Warrant 700 WG®) (AGROFIT, 2019). O controle químico é uma boa alternativa apenas para diminuir a incidência de *S. levis*, tendo em vista que apesar de todas estas medidas, ainda tem ocorrido aumento nas populações da praga devido a sua resistência e dificuldade de alcance (LEITE et al., 2012).

A classe Insecta de maneira geral, é o grupo de seres vivos conhecidos por utilizar odores na execução de suas funções vitais, tais como: localização, comunicação, defesa e etc. Para isso, os insetos emitem certas substâncias que quando usadas na comunicação entre espécies diferentes são chamadas de cairomônios, alomônios ou sinomônios. Já a comunicação efetuada entre indivíduos da mesma espécie é realizada por substâncias chamadas de feromônios, que estão envolvidos em determinadas atividades fisiológicas (CERUTI, 2007).

Os chamados feromônios de agregação foram encontrados em diversas espécies de curculionídeos, sendo produzidos por machos com finalidade sexual. Este tipo de substância tem potencial no controle de adultos de *S. levis*, como demonstra o estudo realizado por Zarbin et al. (2003) que identificaram um composto produzido pelo bicudo-da-cana, possibilitando a fabricação de um atrativo com base no feromônio de agregação dessa espécie. Ao misturá-lo a inseticidas, existe possibilidade de aumento na eficiência no controle dessa praga.

3.8. O controle biológico

O controle biológico pode ser definido como a regulação de determinado organismo, através de um inimigo natural, sendo este um fenômeno que ocorre de maneira espontânea na natureza, podendo ser influenciado por diversos fatores, como clima, densidade populacional do organismo ou de seu inimigo natural e competição entre espécies (PARRA et al., 2002).

Mediado pelo homem, este tipo de controle foi usado em primeiro lugar para combater invertebrados, como insetos e ácaros. Este recurso é empregado desde muito antigamente, quando chineses utilizavam uma espécie de formigas para combater pragas de citros no século III a.C. Com o progresso da agricultura, foi possível o desenvolvimento de métodos de controle biológico para outros tipos de invertebrados, patógenos de plantas e até mesmo para alguns vertebrados (PARRA et al., 2002).

Apesar do controle biológico ocorrer de maneira natural e ser favorecido pela atividade humana através do incremento de condições para tal, como conservação do solo e da mata ao redor da lavoura, esta atividade pode ser inteiramente proporcionada pela interferência humana, podendo ser denominado como controle biológico clássico ou aplicado. O controle biológico clássico fundamenta-se na importação de um agente de controle de uma região para outra, para o combate de determinada praga, sendo que usualmente este agente é trazido da área de origem do inseto alvo (SIMONATO, 2014).

Simonato (2014) sugere ainda um bom exemplo de controle biológico clássico, quando no ano de 1888, foi importada e introduzida na Califórnia (EUA) a joaninha da espécie *Rodolia cardinalis* para predação e controlar o pulgão-branco-do-citros (*Icerya purchasi*). Dois anos depois, a praga podia ser encontrada em níveis populacionais totalmente aceitáveis.

O controle biológico aplicado consiste na produção de inimigos naturais, criados em escala massal e sua liberação no local em que se deseja controlar uma determinada praga. Este é um método muito eficiente para o controle de muitos invertebrados e normalmente é a melhor opção quando se deseja um efeito rápido (BARBOSA et al., 2017).

Barbosa et al. (2017) citam também os agentes de controle biológico disponíveis para insetos, sendo predadores, parasitoides e entomopatógenos. Os predadores são aqueles agentes que desempenham controle por possuírem hábitos alimentares

predatórios em qualquer fase de desenvolvimento, podendo alimentar-se de mais de um inseto, conferindo maior eficiência na destruição das pragas.

Os parasitoides são aqueles agentes de controle em que as fases imaturas necessitam de algum outro organismo para completar seu ciclo de vida, terminando por matar seu hospedeiro no final do processo, logo somente as fases imaturas podem desempenhar o controle para este tipo de agente, tendo em vista que os adultos são de vida livre (PARRA et al., 2002).

Outros tipos de agentes de controle biológico são os microrganismos entomopatogênicos ou entomopatógenos, que podem causar a morte de insetos através de infecção, como bactérias e fungos por exemplo. O uso desses microrganismos por parte do homem para controlar pragas data do século XIX, quando se observou o potencial de fungos da espécie *Beauveria bassiana* causando patogenicidade em bichos-da-seda (FINKLER, 2013).

Como alguns destaques para microrganismos importantes no controle de pragas, podemos citar *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Verticillium lecanii*, fungos que ocorrem naturalmente e são importantes no combate a pragas de diversos tipos de culturas (ALMEIDA et al., 2003). Esses organismos possuem uma característica eficiente no combate de insetos, pois podem efetuar a infecção através do contato com o tegumento, sendo assim funcionam basicamente como inseticidas de contato (XIAO et al., 2012).

Os fungos são particularmente adequados para o desenvolvimento como biopesticidas porque infectam os insetos pela penetração direta da cutícula, funcionando como inseticidas de contato. Outro destaque se dá para *Bacillus thuringiensis*, uma bactéria de solo, que durante sua esporulação, é capaz de fabricar certos cristais que tem ação nociva ao organismo de insetos. Por isso tem um grande potencial de controle de pragas não somente através da ação direta da bactéria, mas também no melhoramento genético de plantas (HÖFTE; WHITELEY, 1989).

3.9. Uso de nematoides entomopatogênicos

Os nematoides entomopatogênicos são também agentes de controle biológico muito promissores, já que, apesar da relativa escassez de estudos, nematoides dos gêneros *Heterorhabdits* e *Steinernema* têm demonstrado ótimos resultados contra pragas de solo, como exemplo a cigarrinha das raízes (*Mahanarva fimbriolata*), o besouro *Migdolus frianus* e o próprio *Sphenophorus levis* (CONCEIÇÃO; DA SILVA, 2011).

Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) possuem particular eficiência, tendo em conta que a fase juvenil J3 (Juvenil infectivo ou JI) são capazes de movimentar-se no solo em busca de hospedeiros, guiados por sensores químicos, infectando insetos através de qualquer orifício (boca, ânus e espiráculos) e em seguida translocando-se até o intestino e lá liberando bactérias nocivas ao organismo (DOLINSKI; MOINO, 2006).

As bactérias encontradas desempenhando essa simbiose com NEPs são bem específicas, sendo bactérias dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus* para *Heterorhabditis* e *Steinernema* respectivamente. Quando dispensados no intestino do hospedeiro, liberam toxinas que acabam por matá-lo (em 24-48 horas), possibilitando a colonização e ao mesmo tempo o impedimento da entrada de novos microrganismos competidores. Ao final deste processo, os nematoides voltam a alimentar-se dessas bactérias e dos tecidos do inseto, podendo então prosseguir com seu desenvolvimento até o estágio adulto, quando irão se reproduzir. Os novos indivíduos que devem então sair em busca de um novo hospedeiro e reiniciar o ciclo (ALMENARA et al., 2012; DOLINSKI; MOINO, 2006).

Batista et al. (2011) demonstram a eficiência de NEPs para o controle de pragas de solo através do teste realizado no controle de cigarrinha-da-cana-de-açúcar (*M. fimbriolata*). Para isso foram aplicadas diferentes concentrações de diversas linhagens de nematoides, dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, em ninfas da cigarrinha (estágio de vida em que o inseto causa danos às raízes da cana), chegando à conclusão de que o controle foi efetivo tanto para ninfas em laboratório quanto para ninfas em estufa, independente da dose aplicada, mesmo quando realizado em estufa, evidenciando assim a potencialidade deste método para o controle biológico e para o manejo integrado de pragas.

O combate de *S. levis* com uso de NEPs já vem sendo estudado e apresenta resultados favoráveis ao desenvolvimento de um controle eficaz para esta praga, como demonstra Giometti et al. (2011). No estudo, avaliou-se a virulência de isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis* contra adultos do inseto em diferentes dosagens, para encontrar aquela que fosse mais viável. Constatou-se que todos os isolados avaliados causaram patogenicidade. No entanto, houve um destaque positivo para aqueles do gênero *Heterorhabditis*, sendo que a infecção pôde ser observada mesmo em adultos (que possuem um tegumento mais rígido), pois os NEPs desse grupo possuem tamanho menor, o que facilita sua entrada no corpo do inseto, além disso apresentam apêndices na região cefálica especializados na abertura de entradas no tegumento.

Leite et al. (2012) demonstraram ainda a eficácia deste agente de controle com um trabalho em campo, realizado em três diferentes áreas de cultivo de cana-de-açúcar com ataque de *S. levis*, utilizando nematoides das espécies *Heterorhabditis indica* e *Steinernema brazilense*. Para este experimento, foram aplicados NEPs juntamente com um controle químico, com os inseticidas tiametoxam (Actara 250WG®) e o fipronil (Regente 800 WG®).

Este último trabalho apresentou resultados interessantes, salientando que a aplicação química não afetou negativamente a atividade dos NEPs. Para esse caso, o nematoide *S. brazilense* foi o mais eficiente no controle do bicudo, proporcionando aumento na produção de 4 a 17 t/ha nas áreas testadas. Isso evidencia que o controle biológico com uso de nematoides entomopatogênicos pode contribuir no combate desta praga e pode ainda ser utilizado em conjunto com outros métodos, num programa de manejo integrado.

3.10. A vinhaça

Segundo Da Silva, Griebeler e Borges (2007), a vinhaça, restilo ou vinhoto, é um subproduto da fabricação de álcool, obtido a partir da calda na destilação do licor de fermentação de cana-de-açúcar. Esta substância apresenta elevada concentração de nutrientes, sendo composta principalmente por matéria orgânica, contendo ácidos orgânicos e nutrientes como Ca, Mg e principalmente K (DA SILVA; GRIEBELER; BORGES, 2007; BARROS et al., 2010).

Os estudos relacionados ao potencial poluidor da vinhaça começaram a partir da década de 1950, quando ALMEIDA (1955) destacou a vinhaça como agente causador de decomposição anaeróbia e conseqüentemente ocasionando danos à macro e micro flora e fauna, mau cheiro à água assim como mau gosto e turbidez, trazendo riscos também à saúde humana (LUDOVICE et al., 1997).

No entanto, o descarte deste resíduo em corpos d'água foi realizada de maneira indiscriminada até meados da década de 1970, até que no ano de 1978, a disposição desse tipo de material em rios e lagos foi definitivamente proibida de maneira direta ou indireta, exigindo assim outros tipos de descarte ou utilização (SANTA CRUZ et al., 2013).

A vinhaça destaca-se dos demais resíduos da indústria sucroalcooleira, pois a produção de um litro de álcool produz também cerca de 13 litros de vinhaça (BARROS et al., 2010). A fabricação deste tipo de resíduo torna-se um problema, pois a vinhaça possui um certo fator de corrosividade, pH ácido e quando produzida em altas quantidades, deixa a

destilaria com uma temperatura de 80°C, dificultando o descarte ou armazenamento (LUDOVICE et al., 1997), além disso a deposição desse tipo de material em corpos d'água, pode acarretar a destruição do plâncton local e poluição geral das águas, causando enorme impacto ambiental e sanitário (NUNES; VELLOSO; LEAL, 1981).

No entanto, devido a sua composição, a vinhaça pode ser reutilizada no meio agrícola como adubo mineral da cana-de-açúcar e também em alguns casos, como agente de elevação de pH do solo (LUDOVICE et al., 1997; JUNQUEIRA et al., 2009). Como agente influenciador de pH do solo, a vinhaça é conhecida desde a década de 1950, quando se observou seu efeito no aumento da população e ação microbiana, devido ao enriquecimento da matéria orgânica do solo, levando assim ao aumento do pH (ANDRIOLI, 1986). A aplicação de vinhaça no solo através da fertirrigação é muito conveniente, tendo em vista que essa técnica pode suprir grande parte dos nutrientes provenientes de uma adubação mineral, contribuindo para a produtividade de maneira geral (JUNQUEIRA et al., 2009).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Seleção de isolado de nematoides entomopatogênicos

No presente estudo, o NEP *Steinernema carpocapse*. IL 1 isolado de população de larvas e pupas do bicudo naturalmente em campo (CASTELIANI et al., 2020) foi comparado com os nematoides *S. rarum* (Pam 25) e *H. bacteriophora* (Hb) quanto as suas habilidades de busca do inseto hospedeiro dentro do colmo de cana. O nematoide *S. rarum* foi isolado do pampa gaúcho, enquanto que o *H. bacteriophora* foi introduzido no Brasil pelas empresas Bio Controle e e-nema, e vem sendo registrado para o controle do bicudo da cana.

Tabela 1. Nomes dos isolados, espécies e origens

Nome do isolado	Espécie	Origem
HBEN01	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Alemanha
PAM25	<i>Steinernema rarum</i>	Pampa Gaúcho
IL1	<i>Steinernema carpocapse</i>	São João da Boa Vista - SP

Para esse estudo foram usadas larvas de *Galleria mellonella* simulando o mesmo comportamento das larvas do bicudo dentro do colmo da cana. Foram estabelecidos 8 tratamentos representados pelos três nematoides testados sobre as larvas do inseto aprisionadas individualmente em gaiolas de metal e inseridas dentro do colmo (10 cm) de cana parcialmente enterrado no solo (15% de umidade); sobre as larvas do inseto aprisionadas individualmente nas gaiolas e enterradas no solo; e pelas respectivas testemunhas (larvas na cana e larvas no solo). Para cada tratamento foram estabelecidas 4 repetições sendo cada repetição representada por um pote plástico (1 Litro) contendo 500 mL de areia fina (15% de umidade) mais 4 larvas do inseto (Fig 7).



Figura 7. Recipiente com areia inoculada com nematoides entomopatogênicos contendo colmos que devem conter as larvas de *Galleria mellonella*. A – Visão do interior do recipiente; B – Recipiente tampado para evitar a entrada de impurezas ou insetos oportunistas (LEITE, L. G.).

Para os tratamentos com colmo de cana, as larvas de *Galleria mellonella* foram aprisionadas em pequenas gaiolas de metal e introduzidas individualmente dentro de colmos de cana (10 cm) através de um orifício de 7 cm de profundidade por 1,5 cm de diâmetro, feito em uma das secções do colmo. Após a inserção das larvas, os furos foram tampados com bagacilho (simulando a serragem deixada pelas larvas de *S. levis*) e parcialmente enterrados na areia (Fig 8). Essa metodologia foi idealizada após ser constatado que *S. levis* deixa orifícios no rizoma da cana, os quais permitem a entrada de NEPs nas galerias causadas pelas larvas do inseto, e alcance do hospedeiro (CASTELIANI et al., 2020).

Para os tratamentos sem colmo (larvas enterradas), as larvas do inseto foram aprisionadas individualmente nas gaiolas e enterradas no solo. Os nematoides foram testados na dose de 100 JIs/inseto, sendo aplicados com o auxílio de uma pipeta no volume de 5 mL. A avaliação foi feita uma semana após a aplicação, com base na mortalidade das larvas do inseto. O experimento foi conduzido duas vezes no tempo.



Figura 8. Esquema de acomodação das larvas de *Galleria mellonella* no interior dos colmos para aplicação de nematoides entomopatogênicos (LEITE, L. G.).

4.2. Seleção de dose ideal de NEPs

Este estudo objetivou avaliar o nematoide *S. rorum* PAM 25 em 5 doses diferentes, procurando estimar as melhores doses para uso no controle do bicudo da cana localizado dentro do rizoma da planta. Para esse estudo, como para o anterior, foram usadas larvas de *Galleria mellonella* simulando o mesmo comportamento das larvas do bicudo dentro do colmo da cana. Foram estabelecidos 12 tratamentos representados pelas cinco doses do nematoide (125,6; 502,4; 2009,6; 8038,4 e 32153,6 JIs/40 cm de linha) testadas sobre as larvas do inseto aprisionadas individualmente em gaiolas de metal e inseridas dentro do colmo (10 cm) de cana parcialmente enterrado no solo (15% de umidade); sobre as larvas do inseto aprisionadas individualmente nas gaiolas e enterradas no solo; e pelas respectivas testemunhas (larvas na cana e larvas no solo). Para cada tratamento foram estabelecidas 4 repetições sendo cada repetição representada por uma bacia de plástico (40 cm de diâmetro x 20 cm de profundidade) contendo 8 Kg de areia fina (14% de umidade) mais 5 larvas do inseto.

O restante da metodologia foi a mesma usada no estudo anterior, exceto que os rizomas foram dispostos enfileirados no centro da bacia, distantes em 5 cm um do outro, o nematoide foi aplicado no volume de 10 mL e o solo foi coberto com palha da cana (10 cm de espessura) procurando simular as mesmas condições da cultura da cana. O experimento foi conduzido duas vezes no tempo.



Figura 9. Bacias contendo areia e palhada, inoculada com nematoides entomopatogênicos da espécie *Steinernema rorum*, contendo colmos que devem encerrar as larvas de *Galleria mellonella*. A – Visão do interior da bacia; B – Esquema de delineamento do teste, mostrando tratamentos + repetições (LEITE, L. G.).

4.3. Viabilidade de NEPs em vinhaça

Este estudo objetivou avaliar a compatibilidade de vinhaça para o nematoide *S. rarum*. Foram estabelecidos quatro tratamentos: vinhaça, palha de cana umedecida com vinhaça, palha de cana umedecida com água e água (Fig 10). A vinhaça foi obtida na Usina Abengoa, São João da Boa Vista, SP.

Para cada tratamento foram feitas três repetições, sendo cada repetição representada por um recipiente plástico cilíndrico (500 ml) contendo o nematoide mais o substrato. Para os tratamentos com palha, 20 g de palha foi mergulhada em 500 ml de água ou vinhaça e mantido até ocorrer absorção do líquido. Posteriormente o líquido excedente foi descartado e a palha umedecida foi transferida para o interior do recipiente (Fig 11). Para os tratamentos sem palha, 50 ml de água ou vinhaça foi adicionado no interior do recipiente.

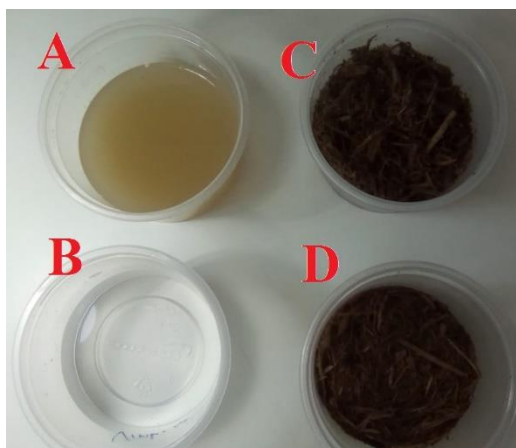


Figura 10. Substratos preparados para teste de sobrevivência de nematoides: A - Vinhaça; B - Água; C - Palha mais vinhaça; D - Palha mais água.

Em seguida o nematoide *S. rarum* (PAM 25) foi aplicado em cada substrato, adicionando-se 10 ml de suspensão contendo 10.000 JIs. Os potes foram tampados e acondicionados em câmara com temperatura controlada (25°C). As avaliações foram realizadas após 3h; 6h; 12h; 24h; 48h; 4 dias; 8 dias; 15 dias e 30 dias com base em amostras retiradas de cada substrato mediante contagem de indivíduos vivos e mortos, sendo retiradas para cada repetição três amostras (30 ml cada) e feita média entre essas. Para avaliação nos recipientes com palha, o substrato foi mergulhado em 800 ml de água, agitado e peneirado, procurando extrair os nematoides da palha juntamente com a água.

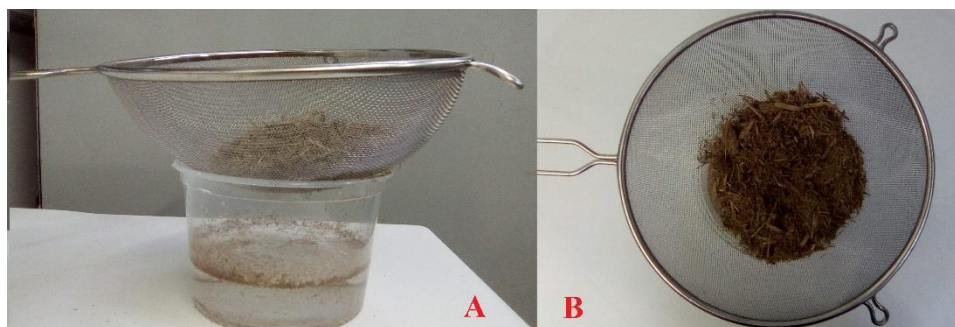


Figura 11. Método de molhamento da palha e peneiramento para retirada do excesso de líquido: Figura A (Vista de perfil) e Figura B (Vista de cima).

4.4. Teste de campo I - Combinação de nematoides

O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito de combinações dos nematoides *S. brazilense* e *S. rarum* no controle do bicudo-da-cana, *S. levis*, e da lagarta *H. taltula* na cultura da cana-de-açúcar. O experimento foi realizado em campo de cana-de-açúcar (CTC 20) para descarte de vinhaça, da Usina Abengoa, São João da Boa Vista, SP, sendo instalado no dia 1 de setembro de 2017, três dias após a irrigação com vinhaça e quando a cana se apresentava com 0,5 m de altura, após o segundo corte.

Foram estabelecidos 4 tratamentos: *S. brazilense*, *S. rarum*, mistura dos dois nematoides e testemunha. Para cada tratamento foram estabelecidas 6 repetições, sendo cada repetição representada por uma parcela de 100 m com três linhas de cana espaçadas em 1,5 m entre si.

Os nematoides foram aplicados com o auxílio de um cortador de soqueira para três linhas, acoplado a um trator, cobrindo toda a parcela em cada passada do trator. Os nematoides foram aplicados na dose de 2×10^8 JIs/ha, sendo que para a mistura das duas espécies, cada espécie foi usada na metade da dose para totalizar 2×10^8 JIs/ha. A avaliação foi feita 12 dias após a instalação do experimento, mediante a contagem de insetos vivos e mortos de *S. levis* e *H. taltula*. Foi também avaliado o número de larvas de *H. taltula* encontradas dentro dos rizomas ou no solo ao redor das raízes das plantas.

4.5. Teste de campo II - Eficácia de doses

Esse estudo teve o objetivo de avaliar o efeito de duas doses do nematoide *S. rarum* no controle do bicudo-da-cana (*S. levis*) e do escarabeídeo *Leucothyreus* sp. (família Scarabaeidae, tribo Geniatini, subfamília Rutelinae) em campo de cana-de-açúcar. Este teste foi realizado em duas diferentes áreas de campo de cana-de-açúcar (CTC 20) localizadas na

Usina Abengoa em São João da Boa Vista, SP, sendo a primeira área instalada no dia 25 de setembro e a segunda no dia 16 de outubro de 2019, quando a cana se apresentava com 0,3 m de altura após o terceiro corte, três meses após a última colheita.

Foram estabelecidos 4 tratamentos: duas doses de nematoides da espécie *S. rarum* (1×10^8 juvenis/ha e 3×10^8 juvenis/ha); tratamento químico com Fipronil (Regente 800WG) na dose de 1,2 L/ha e testemunha. Para cada tratamento foram estabelecidas 4 repetições, sendo que cada repetição consistiu em uma parcela de 100 m por três linhas de cana espaçadas entre si por outras três linhas de plantio.

Os nematoides foram aplicados com o auxílio de um cortador de soqueira para três linhas, acoplado a um trator, cobrindo toda a parcela em cada passada do trator. As avaliações foram feitas retirando-se quatro rizomas de cana por parcela 21 dias após a instalação do experimento, com base na contagem de insetos vivos encontrados dentro dos rizomas ou no solo ao redor das raízes das plantas.

4.6. Análise estatística

As médias para cada experimento foram comparadas através de teste de Tukey ($p \leq 0,05$) pelo software SPSS 16.0 e foi ainda regressão linear para os testes de seleção de dose. Exclusivamente para os dados de teste de campo II foi utilizado teste de Duncan ($p \leq 0,05$) com o mesmo software. Todas as médias foram corrigidas através da transformação ArcCos ($\sqrt{x/100}$), com exceção dos dados obtidos em teste de campo II, que foram corrigidos pelas transformações $\sqrt{x+0,5}$ e $\log(x+1)$ para dados de *Leucothyreus* e *S.levis* respectivamente. Para avaliar se houve interação entre as duas espécies de nematoides testadas em teste de campo I, foi realizado teste de qui-quadrado (X^2) através das formulas $M_E = M_R + M_B (1 - M_R)$ e $X^2 = ((M_O - M_E)^2) / M_E$, onde M_E é a mortalidade esperada, M_R e M_B são mortalidades por *S. rarum* e *S. brazilense* respectivamente, M_O é a mortalidade real observada causada pela combinação de espécies (FINNEY, 1964).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação de nematoides entomopatogênico

Após uma semana da aplicação, todos os nematoides proporcionaram mais de 90% de mortalidade das larvas enterradas no solo, fora dos colmos, não diferindo significativamente entre si (Fig. 12), o que já era esperado já que a *G. mellonella* é um inseto bastante susceptível a esses agentes. Para os tratamentos com o inseto dentro do colmo, o nematoide *S. rarum* apresentou o melhor desempenho, proporcionando 75% de mortalidade do inseto, não diferindo significativamente dos nematoides testados sobre os insetos enterrados, mas diferindo dos outros nematoides testados sobre os insetos inseridos no colmo, e das testemunhas. Interessantemente, *S. rarum* é um nematoide originado de solos do bioma pampa, mas mesmo assim apresentou melhor desempenho que *S. carpocapsae* encontrado causando infecção natural na população do bicudo dentro do rizoma da cana (CASTELIANI et al., 2020). Isso ressalta a importância da busca constante por novas espécies e isolados com potencial cada vez maior para uso no controle biológico.

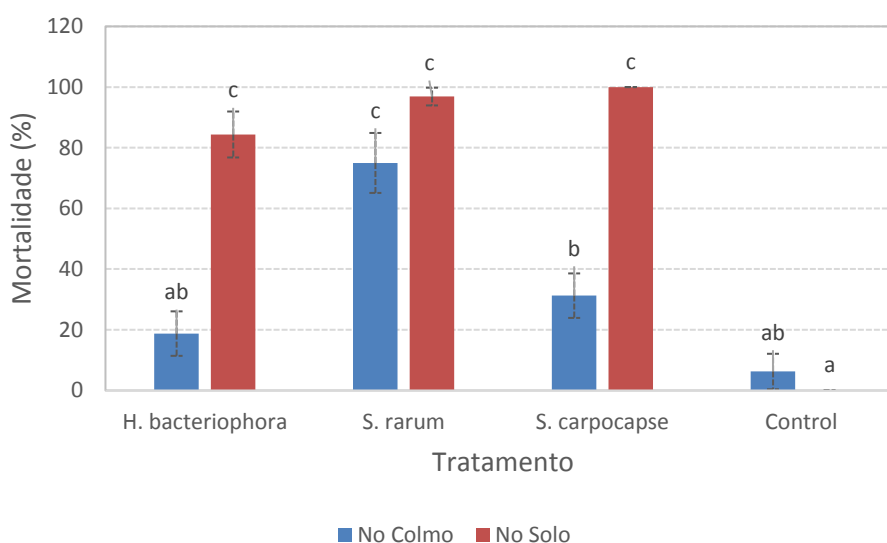


Figura 12. Mortalidade de larvas de *Galleria mellonella* por nematoides entomopatogênicos sete dias após a aplicação. No colmo = larvas aprisionadas dentro do colmo da cana. No solo = larvas enterradas no solo, fora do colmo da cana. Medias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,005$).

O nematoide *S. rarum* já foi estudado por Koppenhofer e Kaya (1999) quanto ao seu tipo de comportamento, apresentando um comportamento intermediário entre o de emboscada e cruzador. Assim, esta espécie pode buscar um inseto tanto na superfície do solo como também enterrado, incluindo aqueles dentro da raiz como no caso do presente estudo.

Segundo Koppenhofer e Kaya (1999), *S. rarum* tem atuação preferencial na profundidade de 0-2 cm abaixo da superfície do solo. Essa característica é de grande importância para o controle do bicudo-da-cana, já que a maioria dos orifícios deixados pelo bicudo no rizoma da cana, que servem para entrada do nematoide, estão localizados abaixo da superfície do solo (90%), principalmente na profundidade de 0-2cm (35,23%) como observado por Casteliani et al. (2020).

Outro aspecto que pode explicar o melhor desempenho de *S. rarum* é seu menor tamanho (410-490µm) quando comparado às outras duas espécies testadas no presente ensaio (530-700 µm), permitindo que o nematoide entre em aberturas mais estreitas no caule para alcançar o inseto (NGUYEN; SMART JR, 1995; CAGNOLO; DONARI; DI RIENZO, 2004; NGUYEN et al., 2006; THERESE; BASHEY, 2012; SOMWONG; PETCHARAT, 2012).

S. rarum vem sendo estudado a mais de 3 décadas, sendo bem conhecido seu potencial para controlar insetos de diferentes ordens, de lepidópteros até coleópteros, incluindo curculionídeos (NGUYEN et al., 2006). Doucet et al. (1999) comparam a virulência de *S. rarum*, *S. feltiae* e *H. Bacteriophora* sobre 33 diferentes espécies de insetos distribuídos nas ordens Anoplura, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepdotera e Orthoptera, usando a dose de 100 IJs/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.

Del Valle et al. (2016) compararam a virulência de *H. bacteriophora* e *S. rarum* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) acondicionados em placas contendo papel filtro e cascas de arroz úmido, na dose de 100 IJs/inseto. *S. rarum* foi mais virulento para as larvas em ambos os substratos, causando até 72% e 64% de mortalidade no papel filtro e na casca de arroz úmida, respectivamente. *S. rarum* também demonstrou maior potencial reprodutivo, gerando 1200 IJs por larva comparado aos 500 IJs por larva gerados pelo *H. bacteriophora*.

5.2. Avaliação de doses

As doses testadas de 125,6 a 32153,6 JIs/40 cm de linha geraram níveis de mortalidade das larvas variáveis de 30 a 95% para os insetos enterrados e expostos ao solo, e de 12 a 72% para aqueles enterrados mas inseridos dentro do colmo, apresentando uma tendência logarítmica em ambas as situações ($R= 0,9796$ e $0,9473$, respectivamente). Com base nas equações lineares (Fig 13 e 14) a dose para matar 50% dos insetos enterrados no solo foi de 979 JIs/40 cm linear, enquanto que para matar 50% dos insetos inseridos no rizoma foi de 3082 JIs/40 cm de linha.

Esses resultados evidenciam a habilidade do nematoide *S. rarum* para localizar e alcançar o inseto dentro da raiz, podendo serem extrapolados para as condições de campo onde *S. levis* deixa as mesmas aberturas no rizoma da cana (CASTELIANI et al., 2020), sendo bastante susceptível a esses agentes nas suas fases presentes dentro da raiz da cana (SMITH 1994; TAVARES et al., 2007; CASTELIANI et al., 2020). No presente estudo, a dose para matar 50% dos insetos dentro do colmo (3082 JIs/40 cm), embora seja três vezes maior que aquela para matar o inseto enterrado (979 JIs/40 cm), pode ser considerada ainda baixa se extrapolada por hectare ($1,6 \times 10^7$ JIs/ha) e comparada com as doses de 1×10^8 /ha que vem sendo testada em campo de cana para o controle de *S. levis*, gerando ganhos de produção de até 17 ton/ha (LEITE et al., 2012). Pela equação linear, essa dose de 1×10^8 JIs/ha (6000 JIs/40 cm) resultaria em 57 % de controle, enquanto que a dose de 2×10^8 JIs/ha (12000 JIs/40 cm) resultaria em 65%, resultados bastante satisfatórios para o controle biológico. Testando *S. brazilense* contra larvas do bicudo dentro da raiz da cana em casa de vegetação, Tavares et al. (2007) obtiveram resultados ainda melhores com mais de 65% de mortalidade do inseto em dose ainda menor, de 1583 JIs/40 cm de linha.

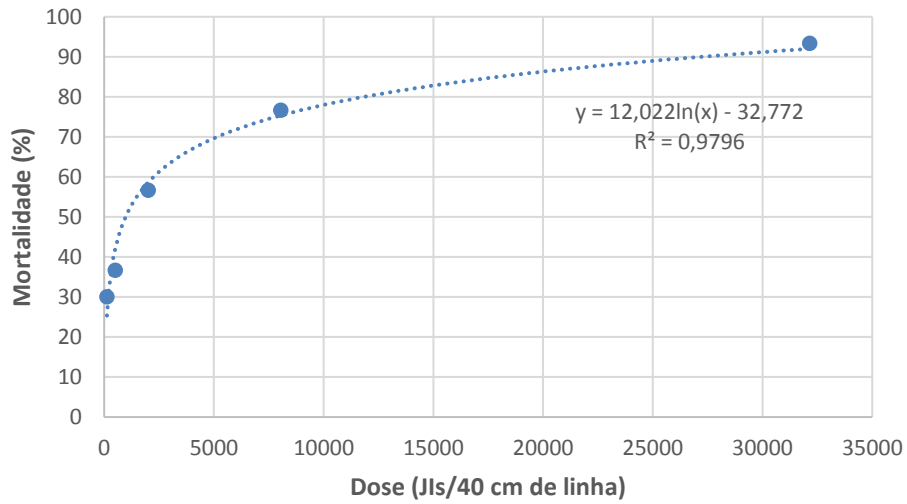


Figura 13. Mortalidade de larvas de *Galleria mellonella* enterradas, por nematoides entomopatogenicos da espécie *Steinernema rarum*, nas diferentes concentrações de 125,6; 502,4; 2009,6; 8038,4 e 32153,6 JIs/40 cm de linha após duas semanas da aplicação.

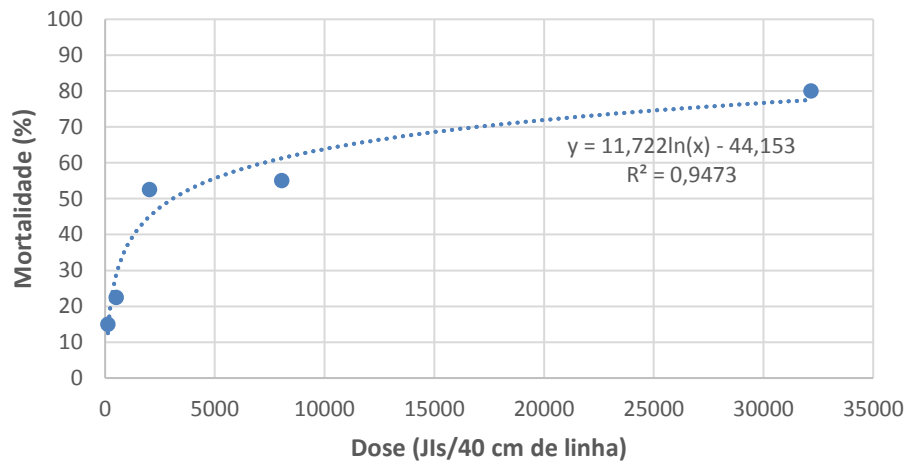


Figura 14. Mortalidade de larvas de *Galleria mellonella* dentro dos colmos, por nematoides entomopatogenicos da espécie *Steinernema rarum*, nas diferentes concentrações de 125,6; 502,4; 2009,6; 8038,4 e 32153,6 JIs/40 cm de linha após duas semanas da aplicação.

5.3. Efeito da vinhaça

Após trinta dias exposto nas diferentes condições, o nematoide apresentou viabilidade acima de 75%, exceto quando suspenso na vinhaça pura, onde a viabilidade caiu para menos de 80% após 6 horas de exposição, e menos de 5% após 4 dias. Dessa forma, a vinhaça apresentou-se tóxica ao nematoide quando mergulhado no composto e mantido por mais de 6 horas, mas não quando em contato com a palha umedecida com a vinhaça.

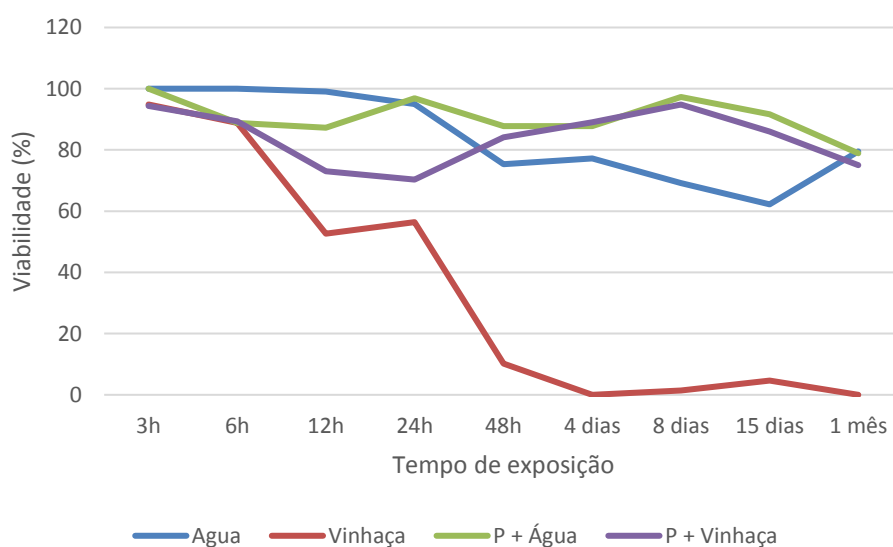


Figura 15. Viabilidade de nematoides da espécie *Steinernema rarum* (PAM 25) na fase de Juvenil Infectivo nos diferentes tratamentos composto por: água (Controle), vinhaça, palha mais água e palha mais vinhaça; durante os intervalos de tempo no período de exposição de 30 dias.

Tabela 2. Valores de média geral, erro padrão, teste de Tukey ($P < 0,005$) e viabilidade final para cada tratamento.

Tratamento	Médias tratamentos (%)	Erro Padrão	Teste Tukey	Viabilidade após 1 mês (%)
Água	84	4,58	b	79
Vinhaça	34	12,35	a	0
P + H ₂ O	91	2,05	b	79
P+Vin	84	2,88	b	75

A vinhaça já é conhecida por afetar o ciclo de vida e reprodução de nematoides fitoparastos, sendo que esses efeitos adversos podem ser observados em vários estudos. Em Pedrosa et al. (2005) duas espécies de nematoides fitopatogênicos, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*, foram expostas à solos contendo diferentes concentrações

de vinhaça durante noventa dias, sendo 0, 50, 100, 500, 1000 e 2000 m³/ha para *M. javanica* e 0, 250, 500, 1000 e 1500 m³/ha para *M. incognita*. Após esse período houve drástica diminuição na atividade reprodutiva e no número de ovos para ambos em função do aumento da dosagem, especialmente para *M. incognita*, que foi quase inibido completamente.

Leite (2017) avaliou a resposta de três espécies de nematoides fitopatogênicos, *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica*, expostos à vinhaça durante 60 dias em solos contendo plantas de soja onde foi aplicada a vinhaça em diferentes diluições (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%) de maneira única na dose de 100 ml e parcelada duas vezes, em doses de 50 ml com intervalos de 15 dias entre as duas aplicações. Este estudo apresenta resultados interessantes que demonstram que as diluições a partir 20% de vinhaça já são suficientes para reduzir o número desses nematoides à 50% na raiz e no solo, sem interferir negativamente no crescimento da planta, além disso a aplicação em doses parceladas de vinhaça proporcionou redução drástica no número de ovos da espécie *P. brachyurus* (87% de redução) mesmo com baixas diluições (20%).

A ação nematicida provocada pela vinhaça é causada pelo aumento da matéria orgânica que este subproduto proporciona no solo. Isso ocasiona a liberação de compostos que favorecem o surgimento de diversas espécies de organismos antagônicos aos nematoides (PEDROSA et al., 2005). Além disso, a decomposição da matéria orgânica promove a liberação de ácidos orgânicos que influenciam negativamente a ação dos nematoides (KATASE et al., 2009).

Apesar da referida ação nematicida causada pela vinhaça, sua aplicação na palhada não afetou o nematoide *S. rarum*. Na fase de juvenil infectivo, os nematoides entomopatogênicos que estão no solo ficam expostos a diversos tipos de fatores e inimigos naturais, o que requer suas adaptações a condições adversas (GLAZER, 1996).

Segundo Sáenz e Luque (2000), os nematoides do gênero *Steinernema* possuem uma adaptação que lhes permitem sobreviver em ambientes adversos. Ao se desenvolverem da fase J2 para J3 (Juvenil infectivo), o tegumento da fase anterior permanece conservada sobre o J3, protegendo os JIs das condições adversas no solo. Além disso, as bactérias simbióticas encontradas no intestino dos nematoides entomopatogênicos produzem antibióticos que inibem o crescimento e desenvolvimento de outros microrganismos, tornando o ambiente no interior do inseto mais adequado para sua alimentação e reprodução (MOLYNEUX, 1985).

Ainda que o tratamento de vinhaça sem palha tenha causado elevada mortalidade para *S. rarum* em curto período de tempo, houve boa viabilidade no intervalo de até 6 horas após a exposição, demonstrando que essa espécie de nematoides é capaz de suportar um determinado intervalo de tempo. O período de tempo suportado por *S. rarum* exposto à vinhaça no presente estudo é adequado para aplicação em campo, sendo necessárias poucas horas para aplicação da vinhaça em campo.

5.4. Teste de campo I - Combinação de nematoides

O nematoide *S. brazilense* proporcionou 55,6% de controle dos insetos *S. levis* e *H. taltula*, enquanto que *S. rarum* proporcionou 74,1% e 50,6%, respectivamente, tendo todos os tratamentos diferenciados significativamente das respectivas testemunhas (Figura 16 e 17). Já a mistura de ambos nematoides, não apresentou efeito sinérgico com 48,1% e 54,3% de controle dos insetos *S. levis* e *H. taltula*, respectivamente, diferenciando-se apenas das respectivas testemunhas. O teste X^2 (FINNEY, 1964) indica que não houve sinergismo.

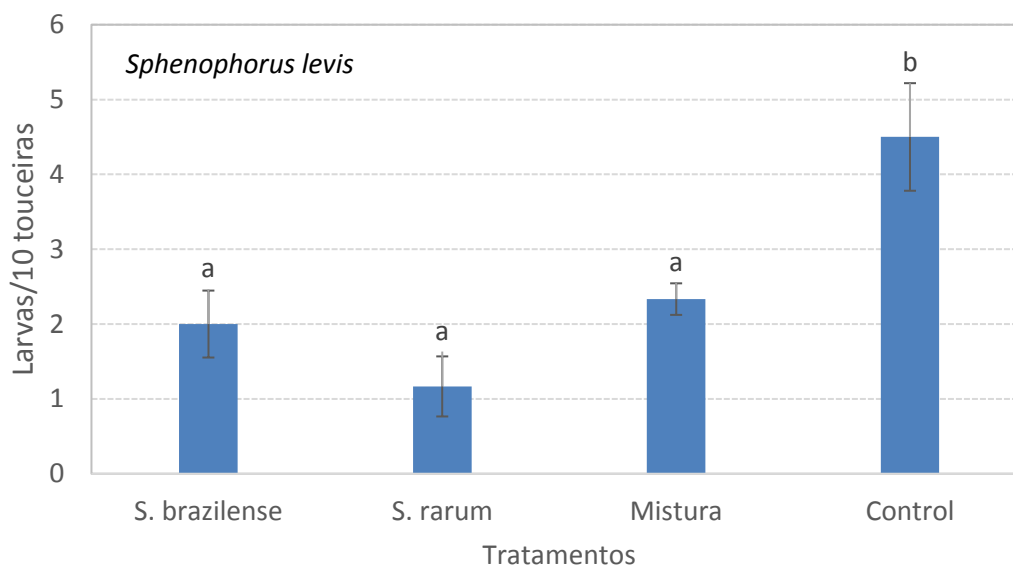


Figura 16. População de *Sphenophorus levis* (larvas + pupas) em cana-de-açúcar doze dias após a aplicação de nematoides. Medias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,005$).

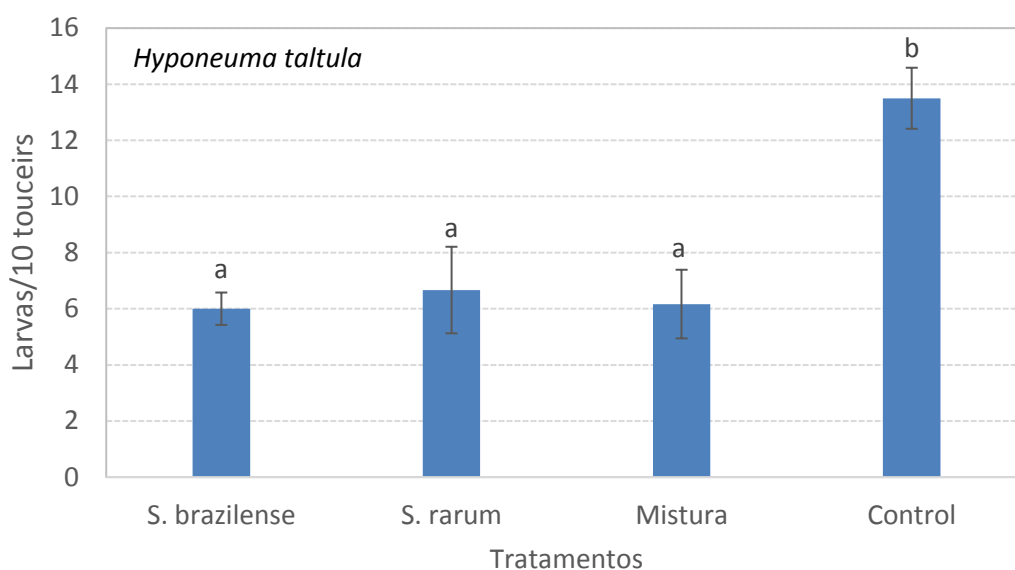


Figura 17. População de *Hyponeuma taltula* em cana-de-açúcar doze dias após a aplicação de nematoides. Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,005$).

De acordo com Choo et al. (1996), os tratamentos combinados de nematoides *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* foram sempre menos eficazes contra *Diabrotica speciosa* do que os tratamentos com essas espécies utilizadas separadamente, nas doses de 1×10^8 e $2,5 \times 10^8$ JIs/ha. Eles concluem que nenhuma vantagem foi obtida pela combinação de duas espécies de nematóides entomopatogênicos contra larvas de *D. speciosa*.

Larvas e adultos de *S. levis* apresentaram-se susceptíveis aos nematoides *H. indica* IBCB-n5 e *S. brazilense* IBCB n6 em testes de laboratório e casa de vegetação (TAVARES et al., 2007; TAVARES et al., 2009; GIOMETTI et al., 2011). Esses nematoides demonstraram habilidade para a localização e busca do inseto dentro do rizoma, locomovendo-se inicialmente pelo solo e, em seguida, pela galeria construída no rizoma, em distâncias de até 4 cm a partir do orifício de entrada da larva ou saída do adulto.

Em testes de campo, *S. brazilense* IBCB n6 (1×10^8 JI/ha) foi mais eficiente que *H. indica* IBCB n5 no controle de *S. levis*, proporcionando ganhos na produção de colmos de até 17 t/ha (LEITE et al., 2012). Os testes de laboratório, casa de vegetação e principalmente campo sugerem que *S. brazilense* é uma alternativa viável para uso no controle de *S. levis*, podendo ser recomendado na dose de 1×10^8 JI/ha, com resultados satisfatórios no ganho de produção de cana (17 t/ha) quando usados isoladamente ou em mistura com sub-doses de inseticidas químicos.

Um bom controle da população desses insetos pode ser obtido na estação seca do ano, já que o pico populacional de larvas e pupas de *S. levis* ocorre nesse período (julho-setembro). Casteliani et al. (2020) observaram mortalidade natural de até 60% para pupas de *S. levis* causada por *S. carpocapse* em campo na estação seca, sendo que os nematoides foram favorecidos pela umidade decorrente de irrigação com vinhaça, mas principalmente pela alta população desses insetos no campo.

As aplicações com NEPs podem ser realizadas através de pulverizações em barra para áreas descobertas de palha, e usando implemento com discos cortantes para aplicação em área coberta com palha. Em teste de campo (LEITE et al., 2015), *S. brazilense* persistiu por dois meses em alta população no campo, espalhando-se por toda a área experimental, principalmente nas parcelas cobertas com palha, alcançando distâncias de pelo menos 5 m em 76 dias (1 m a cada 15 dias).

Após 76 dias da aplicação, a população do nematoide *S. brazilense* IBCB n6 foi reduzida para baixas densidades em quase todos os tratamentos devido à redução na frequência de chuva, voltando a crescer após 225 dias da aplicação com o retorno do período chuvoso. A persistência do nematoide em campo é favorecida pela sua relativa tolerância à estiagem e à privação de alimento, além da sua capacidade de reciclagem (multiplicação) no hospedeiro, havendo também os benefícios da palhada que prolonga a umidade no solo (LEITE et al., 2015).

O uso dos nematoides *S. brazilense* e *S. rarum* apresenta-se como uma alternativa viável para o controle do bicudo-da-cana-de-açúcar, podendo ser recomendados isoladamente na concentração de 10^8 JIs/ha, com resultados satisfatórios no controle do inseto e sem afetar o meio ambiente. Para as misturas dos dois nematoides (*S. brazilense* e *S. rarum*), os acréscimos obtidos no controle foram pequenos e dificultam conclusões, quanto às vantagens econômicas com o uso destas combinações no controle do bicudo.

Nematoides entomopatogênicos vêm sendo utilizados nos EUA e Japão para o controle de *Sphenophorus* spp. que são pragas de gramados e pastagens, conhecidas como bicudos-das-gramíneas (GEORGIS; POINAR, 1989; KLEIN, 1990, WATSCHKE; DERNOEDEN; SHETLAR, 2013). As larvas dos primeiros ínstares destes insetos cavam galerias no caule e rizoma das plantas, enquanto as dos últimos ínstares alimentam-se, externamente, dos órgãos subterrâneos, tornando-se mais expostos aos NEPs (SHAPIRO-ILAN et al., 2002). Casteliani et al. (2020) encontraram sinais do bicudo *S. levis*

através de orifícios deixados pelo inseto, localizados em maior parte abaixo da superfície do solo (90%), a maioria na profundidade de 0-2cm (35,23%).

Este comportamento nas gramíneas, provavelmente deixa os insetos mais expostos à ação dos nematoides entomopatogênicos, se comparados a *S. levis*, cujas larvas penetram no rizoma da cana-de-açúcar, permanecendo no interior do colmo, em todos os estádios larvais. Consequentemente, os bicudos-das-gramíneas têm sido eficientemente controlados pelo uso dos nematoides *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae*. Este último, na concentração de $2,5 \times 10^9$ JIs/ha, proporcionou níveis de controle variáveis de 70,4-91,2%, para *S. parvulus*, em estudos realizados nos Estados Unidos, e de 77,3-96,2%, para *S. venatus vestitus*, em testes no Japão (KINOSHITA; YAMANAKA, 1998).

H. bacteriophora, na mesma concentração, foi menos eficiente para *S. parvulus*, proporcionando níveis de controle variáveis de 67,0-84,1% (GEORGIS; POINAR, 1989, SMITH 1994). Todos os estádios imaturos destes insetos são susceptíveis aos dois nematoides, o mesmo ocorrendo com os adultos de *S. venatus vestitus*, em relação a *S. carpocapsae*. No Japão, *S. carpocapsae* tem sido mais eficiente no controle de *S. venatus vestitus* do que os inseticidas padrões (média de 84% contra 69%, respectivamente) (SMITH, 1994; KINOSHITA; YAMANAKA, 1998). A concentração de 10^8 JIs/ha, utilizada para *S. brazilense* e *S. rarum*, no presente estudo, é bastante inferior, se comparada às doses dos nematoides *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* que estão sendo recomendadas para o controle dos bicudos-das-gramíneas, na ordem de $2,5 \times 10^9$ JIs/ha. Em teste com o nematoide *S. brazilense*, para o controle de larvas do bicudo-da-cana-de-açúcar, em casa-de-vegetação, a concentração de 2,4 JI cm⁻², equivalente à mesma usada no presente estudo (10^8 JIs/ha), proporcionou 69% de mortalidade do inseto, não diferindo, significativamente, das doses maiores (12 JI cm⁻² e 60 JI cm⁻², ambas com 73% de mortalidade) (TAVARES et al., 2007). Para adultos deste inseto, a menor concentração proporcionou 23% de mortalidade, em teste de laboratório (TAVARES et al., 2009).

5.5. Teste de campo II - Eficácia de doses

Vinte e um dias após a aplicação, foram encontradas médias de 2 e 1 adulto de *S. levis* para os tratamentos com dose menor e dose maior respectivamente nas avaliações de campo. Esses números apresentaram diferença significativa se comparados aos tratamentos químico e testemunha, com médias de 5 e 4 adultos respectivamente (Figura 18). Também foram encontradas médias de 7 larvas de escarabeídeo para ambos os

tratamentos com *S. rorum*, diferindo significativamente do tratamento químico e da testemunha, com médias de 22 e 17 larvas respectivamente (Figura 19).

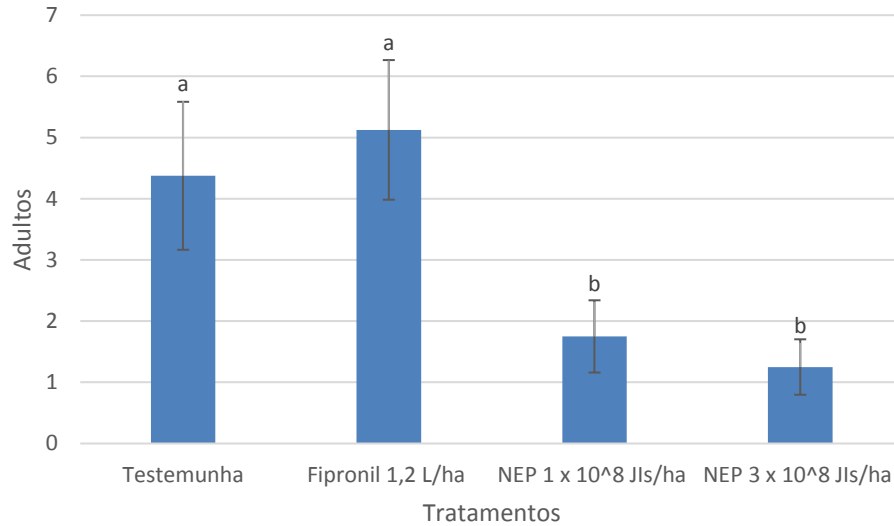


Figura 18. Número de insetos adultos da espécie *Sphenophorus levis* encontrados nos rizomas de amostras de cana-de-açúcar por tratamento: *Steinernem rorum* (1×10^8 JIs/ha e 3×10^8 JIs/ha), Fipronil (1,2 L/ha) e Testemunha vinte e um dias após aplicação do tratamento. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,005$).

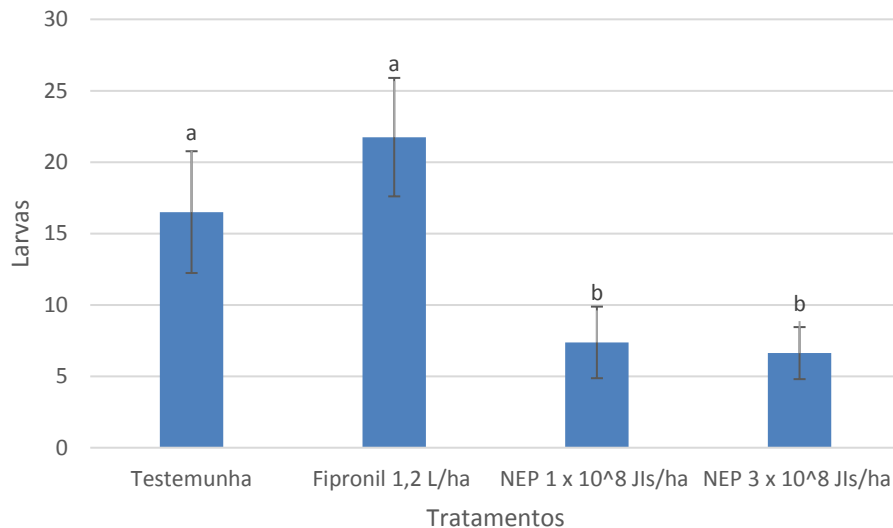


Figura 19. Número de larvas de *Leucothyreus* sp. encontrados nos rizomas de amostras de cana-de-açúcar por tratamento: *Steinernem rorum* (1×10^8 JIs/ha e 3×10^8 JIs/ha), Fipronil (1,2 L/ha) e Testemunha vinte e um dias após aplicação do tratamento. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Duncan ($P < 0,005$).

O Gênero *Sphenophorus* possui algumas espécies conhecidas por atacar gramíneas, sendo que em alguns países como EUA e Japão o uso de nematoides entomopatogênicos é recomendado para o controle destes insetos, incluindo espécies do gênero *Steinernema*, segundo Leite et al. (2012).

Testes de laboratório e casa de vegetação realizados por Tavares et al. (2007), demonstraram que o gênero *Steinernema* apresenta bom desempenho na mortalidade de larvas do bicudo, mesmo no interior de rizomas de cana, por sua capacidade de encontrar o inseto dentro da planta, destacando ainda sua ação a longo prazo, mais notável que outras espécies de NEPs devido à sua capacidade reprodutiva, proporcionando maior persistência de nematoides agindo no campo. Casteliani et al. (2020) encontraram mortalidade natural de até 60% para pupas de *S. levis* dentro do rizoma da cana, causada por *Steinernema carpocapse* em campo, devido à capacidade que nematoides desse gênero possuem para rastrear ou localizar os hospedeiros.

Da mesma maneira Koppenhöfer, Grewal e Fuzy (2006) compararam a ação patogênica de três diferentes espécies de nematoides entomopatogênicos: *Steinernema scarabaei*, *Heterorhabditis zealandica* e *Heterorhabditis bacteriophora* contra três diferentes espécies de escarabeídeos em condições de laboratório e casa de vegetação utilizando diferentes doses: 156, 313, 625, 1250 e 2500 IJs/ recipiente. Para as três últimas doses, *S. scarabaei* atingiu 90-97% de mortalidade. Ambas as outras duas espécies atingiram 70-80%.

6. CONCLUSÃO

De acordo com o estudo realizado, pode-se concluir que:

- *S. rarum* apresentou melhor desempenho e capacidade na busca do *S. levis* dentro do rizoma comparado ao *S. carpocapse* e *H. bacteriophora*;
- A metodologia utilizada no teste de seleção de doses apresentou-se ideal para a comparação da ação de nematoides em laboratório, podendo ser utilizada para testes de eficácia em campo de cana-de-açúcar;
- A vinhaça afeta o nematoide se mantido suspenso na solução por mais de 6 horas, mas não afeta o nematoide se mantido na palha tratada com vinhaça;
- *S. rarum* e *S. brazilense* são eficazes no controle de *S. levis* e *H. taltula*, não havendo efeito sinérgico quando testados em mistura;
- *S. rarum* é eficaz contra pragas de solos na cultura da cana-de-açúcar, tendo em vista seu bom desempenho no controle de *S. levis*, *H. taltula* e larvas de *Leucothyreus* sp.;
- Com base no teste de eficácia de doses, a dose de 1×10^8 pode ser indicada para controle de *S. levis* e escarabeídeos em campo de cana-de-açúcar.

7. REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 26 ago. 2019.
- ALCARDE, A. R. **Cachaça: ciência, tecnologia e arte**. Editora Blucher, 2017.
- ALENCAR, M. A. V. *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae): Caracterização macroscópica e determinação de inseticida e época de aplicação para controle. 2016.
- ALEXANDER, A. G. **Sugarcane physiology, a comprehensive study of the Saccharum source-to-sink system**. Elsevier Scientific Publishing Co., 1973.
- ALMEIDA, J. R. O problema da vinhaça. **Brasil Açucareiro**, v. 46, n. 2, p. 72-77, 1955.
- ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C.; LEITE, L. G.; TRAMA, M., SANO, A. H. Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 1, p. 79-84, 2003.
- ALMENARA, D. P.; ROSSI, C.; NEVES, C.; WINTER, C. Nematoides entomopatogênicos. SILVA NETO, MAC da; WINTER, C.; TERMIGNONI, C.(Ed.). **Tópicos avançados em entomologia molecular**. Rio de Janeiro, INCT-EM, p. 1-40, 2012.
- ANDRIOLI, I. **Efeitos da vinhaça em algumas propriedades químicas e físicas de um Latossolo Vermelho-Escuro textura média**. 1986. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 85p.
- ARAÚJO, L. H. A.; BLEICHER, E.; DE SOUSA, S. L.; DE QUEIROZ, J. C. Manejo de mosca branca *Bemisia argentifolii* bellows & perring no algodoeiro. **Embrapa Algodão-Circular Técnica** (INFOTECA-E), 2000.
- BARBOSA, M. F. C.; DEMITE, P. R.; DE MORAES, G. J.; POLETTI, M. Controle Biológico Com Ácaros Predadores. 2017.
- BARRETO-TRIANA, N. D. C. **Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

BARROS, R. P. D.; VIÉGAS, P. R. A.; SILVA, T. L. D.; SOUZA, R. M. D.; BARBOSA, L. T.; VIÉGAS, R. A.; Alterações em atributos químicos de solo cultivado com cana-de-açúcar e adição de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics)**, 2010.

BATISTA, E. S. P.; AUAD, A. M.; DE RESENDE, T. T.; DE OLIVEIRA MONTEIRO, C. M. Screening of entomopathogenic nematodes to control *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 37, n. 2, p. 198-202, 2011.

BROWN, I. M.; GAUGLER, R. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. **Nematologica**, v. 43, p. 363-375, 1997.

CAGNOLO, S. R.; DONARI, Y. M.; DI RIENZO, J. A. Existence of infective juveniles in the offspring of first-and second-generation adults of *Steinernema rarum* (OLI strain): evaluation of their virulence. **Journal of invertebrate pathology**, v. 85, n. 1, p. 33-39, 2004.

CAMPOS, P. F.; ALVES JÚNIOR J.; CASAROLI D.; FONTOURA P. R.; EVANGELISTA A. W. P. Variedades de cana-de-açúcar submetidas à irrigação suplementar no cerrado. 2013.

CANASSA, F. **Distribuição espacial, efeito do manejo da palha pós-colheita e da aplicação de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) na ocorrência de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculion.** 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

CASSAL, V. B.; DE AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; DA SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 437-445, 2014.

CASTELIANI, A.; MARTINS, L. F.; CARDOSO, J. F. M.; SILVA, M. S. O.; DA SILVA, R. S. A.; CHACON-OROZCO, J. G.; LEITE, L. G. Behavioral aspects of *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), damage to sugarcane and its natural infection by *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Rhabditidae). **Crop Protection**, p. 105262, 2020.

CAVERSAN, A. S. Modelo matemático para planejamento do plantio e colheita da cana-de-açúcar e da cana-energia. 2017.

CERUTI, F. C. Interações entre feromônios de insetos e semioquímicos de plantas. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 5, n. 1, p. 73-82, 2007.

CHOO, H. Y.; KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K. Combination of two entomopathogenic nematode species for suppression of an insect pest. **Journal of economic entomology**, v. 89, n. 1, p. 97-103, 1996.

CÍCERO, E. A. S. Caracterização molecular e seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* com potencial inseticida para *Sphenophorus levis*. 2007.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v.1. Brasília: CONAB, 2018. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_14_09_06_31_boletim_cana_a_portugues_-_4o_lev_-_15-16.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2018.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v.1. Brasília: CONAB, 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana/boletim-da-safra-de-cana-de-acucar>>. Acesso em: 15 ago. 2019.

CONCEIÇÃO, L. L.; DA SILVA, C. M. O controle biológico e suas aplicações na cultura de cana-de-açúcar. **Campo Digital**, v. 6, n. 1, 2011.

COUTINHO, G. V.; RODRIGUES, S. R.; CRUZ, E. C. D.; ABOT, A. R. Bionomic data and larval density of Scarabaeidae (Pleurosticti) in sugarcane in the central region of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, n. 3, p. 389-395, 2011.

CZEPAK, C.; FERNANDES, P. M.; ALBERNAZ, K. C.; RODRIGUES, O. D.; SILVA, L. M.; DA SILVA, E. A.; BORGES, J. D. Seletividade de inseticidas ao complexo de inimigos naturais na cultura do algodão (*Gossypium hirsutum* L.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 123-127, 2005.

DA SILVA, M. A.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 108-114, 2007.

DA SILVA, V. P. R.; BORGES, C. J. R.; DE ALBUQUERQUE, W. G. Necessidades hídricas da cana-de-açúcar cultivada em clima tropical. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 625-632, 2014.

DE CARVALHO, S. A. D.; FURTADO, A. T. O melhoramento genético de cana-de-açúcar no Brasil e o desafio das mudanças climáticas globais. **Revista Gestão & Conexões**, v. 2, n. 1, p. 22-46, 2013.

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

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.

DEL VALLE, E. E.; FRIZZO, L. S.; MALMIERCA, M.; ZBRUN, M. V.; LAX, P.; DOUCET, M. E. Biological control of *Alphitobius diaperinus* with *Steinernema rarum* CUL and *Heterorhabditis bacteriophora* SMC and feasibility of application in rice hull. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 161-170, 2016.

DINARDO MIRANDA, L. L. **Nematoides e pragas de cana-de-açúcar**. Campinas. Instituto Agronômico, 2014.

DOLINSKI, C.; MOINO JR, A. Utilização de nematoides entomopatogênicos nativos ou exóticos: o perigo das introduções. **Nematologia brasileira**, v. 30, n. 2, p. 139-149, 2006.

DOWDS, B.V. A.; PETERS, A. Virulence mechanisms. In: R. GAUGLER (ed.) **Entomopathogenic Nematology**. CABI Publishing, Wallingford, p. 79-98, 2002.

EVANGELISTA, D. E.; DE PAULA, F. F. P.; RODRIGUES, A.; HENRIQUE-SILVA, F. Pectinases from *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae): putative accessory digestive enzymes. **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 1, 2015.

FERNANDEZ TRIANA, M. Ecologia química da broca-peluda da cana-de-açúcar, *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae). 2015.

FINNEY, D. J. A statistical treatment of the sigmoid response curve. **Probit analysis**, v. 25, 1964.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 8, p. 169-189, 2013.

GARCIA, J. F. **Bioecologia e manejo da cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em cana-de-açúcar**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

GASSEN, D. N. Insetos subterrâneos prejudiciais às culturas no sul do Brasil. **Embrapa Trigo-Documentos** (INFOTECA-E), 1989.

GEORGIS, R.; POINAR JUNIOR, G. O. Field effectiveness of entomophilic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. In: LESLIE, A. R.; METCALF, R. L. (Eds.). **Integrated pest management for turfgrass and ornamentals**. Boca Raton: CRC, 1989. p. 213-224.

GIOMETTI, F. H. C.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; SCHMIT, F. S.; BATISTA FILHO, A.; DELL'ACQUA, R. Virulência de nematoides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). **Bragantia**, v. 70, p. 81-86, 2011.

GIRÓN-PÉREZ, K.; NAKANO, O.; SILVA, A. C.; ODA-SOUZA, M. Attraction of *Sphenophorus levis* Vaurie adults (Coleoptera: Curculionidae) to vegetal tissues at different conservation levels. **Neotropical entomology**, v. 38, n. 6, p. 842-846, 2009.

GLAZER, I. Survival mechanisms of entomopathogenic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 3, p. 373-378, 1996.

GRANSO, E. A. **Influência dos atributos do solo na distribuição espacial de *Sphenophorus levis* na cultura da cana-de-açúcar**. 2017. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz.

HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 53, n. 2, p. 242-255, 1989.

IZEPPI, T. S. Distribuição espacial e dinâmica populacional de *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar. 2015.

JUNQUEIRA, C. D. A. R.; JUNIOR, V. E. M.; LOSSARDO, L. F.; DA CUNHA FELICIO, B.; JUNIOR, O. M.; FOSCHINI, R. C. Identificação do potencial de contaminação de aquíferos livres por vinhaça na bacia do Ribeirão do Pântano, Descalvado (SP), Brasil. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 39, n. 3, p. 507-518, 2009.

KATASE, M.; KUBO, C.; USHIO, S.; OOTSUKA, E.; TAKEUCHI, T.; MIZUKUBO, T. Nematicidal activity of volatile fatty acids generated from wheat bran in reductive soil disinfection. **Nematol Res** 39:53–62. 2009

KINOSHITA, M.; YAMANAKA, S. Development and prevalence of entomopathogenic nematodes in Japan. **Nematological Research (Japanese Journal of Nematology)**, v. 28, n. supplement, p. 42-45, 1998.

KLEIN, M. G. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Eds.). Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton: CRC, 1990. p. 195-214.

KOPPENHÖFER, A. M.; GREWAL, P. S.; FUZY, E. M. Virulence of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Steinernema scarabaei* against five white grub species (Coleoptera: Scarabaeidae) of economic importance in turfgrass in North America. **Biological control**, v. 38, n. 3, p. 397-

404, 2006.

KOPPENHOFER, A. M.; KAYA, H. K. Ecological Characterization of *Steinernema rarum* **Journal of Invertebrate Pathology**. 73: 120-128. 1999.

LEITE, M. L. T. Supressividade de nematoides das lesões e das galhas com vinhaça na cultura da soja. 2017.

LEITE, L. G. Controle de pragas no Brasil com nematoides entomopatogênico. In: APONTE, A. S.; NÚÑES, J. C. L.; LEVA, L. A. G (eds.). **Experiencias com Nematodos Entomopatogénos. Retos y oportunidades de su uso em latinoamérica**. Bogota, p. 38-55, 2011.

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.

LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; GINARTE, C. M. A.; CARREGARI, L. C.; BATISTA FILHO, A. Nematoides entomopatogênicos no controle de pragas. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (eds.). **Controle Biológico de Pragas: na prática**. Piracicaba, p. 45-53, 2006.

LEITE, L.G.; SCHMIDT, F.S.; HAKAKAVA, R.; BATISTA FILHO; GIOMETTI, F.H.C.; PIETROBON, T.C.; CHACON-OROZCO, J. The influence of mulch on the persistence of *Steinernema brazilense* (Nematoda: Steinernematidae) in sugarcane field *Revista Colombiana de Entomología* 41 (2): 175-178. 2015.

LUDOVICE, M. T. F. Estudo do efeito poluente da vinhaça infiltrada em canal condutor de terra sobre o lençol freático. 1997.

MARIN, F.; NASSIF, D. S. P. Mudanças climáticas e a cana-de-açúcar no Brasil: Fisiologia, conjuntura e cenário futuro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 17, n. 2, 2013.

MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 2, p. 295-301, 2001.

MENDONÇA, A. F. (Ed.). Cigarrinhas da cana-de-açúcar: controle biológico. **Insecta**, 2005.

MOLYNEUX, A. S. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp., and *Steinernema* spp.(Nematoda: Rhabditida) at various temperatures and their subsequent infectivity for insects. **Revue Nematol**, v. 8, n. 1.2, p. 16.5-170, 1985.

NGUYEN, K. B.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FUXA, J. R.; WOOD, B. W.; BERTOLOTTI, M. A.; ADAMS, B. J. Taxonomic and biological characterization of *Steinernema rarum* found in the Southeastern United States. **Journal of nematology**, v. 38, n. 1, p. 28, 2006.

NGUYEN, K. B.; SMART JR, G. C. Morphometrics of infective juveniles of *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis bacteriophora* (Nemata: Rhabditida). **Journal of Nematology**, v. 27, n. 2, p. 206, 1995.

NUNES, M. R.; VELLOSO, A. C. X.; LEAL, J. R. Efeito da vinhaça nos cátions trocáveis e outros elementos químicos do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n. 2, p. 171-176, 1981.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores. **São Paulo. Manole editora**, p. 1-16, 2002.

PAVLÚ, F. A. **Plano de amostragem e distribuição espacial visando o controle localizado de *Sphenophorus levis* na cultura da cana-de-açúcar**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PEDROSA, E. M.; ROLIM, M. M.; ALBUQUERQUE, P. H.; CUNHA, A. C. Supressividade de nematóides em cana-de-açúcar por adição de vinhaça ao solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, p. 197-201, 2005.

PEREIRA, J. M.; FERNANDES, P. M.; VELOSO, V. R. S. Efeito fisiológico do inseticida thiamethoxam na cultura da cana-de-açúcar. 2010.

PINHEIRO, J. N.; FREITAS, B. M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 266-281, 2010.

PRECETTI, A. A.; ARIGONI, E. DE B. Aspectos bioecológicos do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar. **Boletim Técnico COPERSUCAR**. São Paulo, São Paulo, p. 3-15, 1990.

RINKE, R. Comparação da diversidade microbiana intestinal em larvas do campo e laboratório do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera, Cucurlionidae). 2009.

RINKE, R.; COSTA, A. S.; FONSECA, F. P. P.; ALMEIDA, L. C.; JÚNIOR, I. D.; HENRIQUE-SILVA, F. Microbial diversity in the larval gut of field and laboratory populations of the sugarcane weevil *Sphenophorus levis* (Coleoptera, Curculionidae). **Genet Mol Res**, v. 10, n. 4, p. 2679-2691, 2011.

RODRIGUES, L. D. A cana-de-açúcar como matéria-prima para a produção de biocombustíveis: impactos ambientais e o zoneamento agroecológico como ferramenta para mitigação. Juiz de Fora-MG, UFJF, 2010.

RODRIGUES, S. R.; FERREIRA, K. R.; GOMES, E. S. Biological aspects and mating behavior in *Leucothyreus albopilosus* (Coleoptera). **Revista de Biología Tropical**, v. 64, n. 2, p. 547-557, 2016.

RODRIGUES, S. R.; PUKER, A.; TIAGO, Elison Floriano. Biological aspects of *Leucothyreus dorsalis* Blanchard (Coleoptera, Scarabaeidae, Rutelinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 3, p. 431-435, 2010.

SÁENZ, A.; LUQUE, J. E. Ciclo de vida del entomonematodo nativo. **Agronomía Colombiana**, v. 17, n. 1-3, p. 17-24, 2000.

SANTA CRUZ, L. F. L.; DUARTE, C. G.; MALHEIROS, T. F.; PIRES, E. C. Análise da viabilidade técnica, econômica e ambiental das atuais formas de aproveitamento da vinhaça: fertirrigação, concentração e biodigestão. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais (Online)**, n. 29, p. 111-127, 2013.

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

SILVA, M. A.; GAVA, G. J. C.; CAPUTO, M. M.; PINCELLI, R. P.; JERÔNIMO, E. M.; CRUZ, J. C. S. Uso de reguladores de crescimento como potencializadores do perfilhamento e da produtividade em cana-soca. **Bragantia, Campinas**, v. 66, n. 4, p. 545-552, 2007.

SIMONATO, J.; GRIGOLLI, J. F. J.; DE OLIVEIRA, H. N. Controle biológico de insetos-praga na soja. **Embrapa Agropecuária Oeste-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2014.

SMITH, K. A. Control of weevils with entomopathogenic nematodes. In: SMITH, K. A.; HATSUKADE, M. (Eds.). *Control of insect pests with entomopathogenic nematodes*. Taipei: Food and Fertilizer Technology Center, 1994. p. 1-13.

SMITH, K. A. Control of insects pests with entomopathogenic nematodes. In: SMITH, K. A.; HATSUKADE, M. (eds.). *Food and Fertilizer Technology Center, Taiwan, Republic of China*, p. 1-13. 2005.

SOARES-COSTA, A.; DIAS, A. B.; DELLAMANO, M.; DE PAULA, F. F. P.; CARMONA, A. K.; TERRA, W. R.; HENRIQUE-SILVA, F. Digestive physiology and characterization of digestive cathepsin L-like proteinase from the sugarcane weevil *Sphenophorus levis*. **Journal of insect physiology**, v. 57, n. 4, p. 462-468, 2011.

SOMWONG, P.; PETCHARAT, J. Culture of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Weiser) on artificial media. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 7, n. 4, p. 229-232, 2012.

SOUZA, Z. M. D.; PRADO, R. D. M.; PAIXÃO, A. C. S.; CESARIN, L. G. Sistemas de colheita e manejo da palhada de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 271-278, 2005.

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

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

THERESE, M. O.; BASHEY, F. Natal-host environmental effects on juvenile size, transmission success, and operational sex ratio in the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. **The Journal of parasitology**, v. 98, n. 6, p. 1095-1100, 2012.

TOLEDO, A. M. A.; SPEROTTO, F. C. S.; FONTENELLI, J. V.; KOETZ, M.; SILVEIRA, M. H. D. Determinação da aptidão edafoclimática da cana-de-açúcar no pólo regional de Rondonópolis-MT. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 7, n. 13, p. 381-399, 2011.

TRIANA, M. F.; NOGUEIRA, A. S. P. C.; FRANCA, P. H. B.; COSTA, J. G.; GOULART, H. F.; SANTANA, A. E. G. Sexual Behavior of the Sugarcane Hairy Borer, *Hyponeuma taltula* (Lepidoptera: Erebididae): Evidence for a Female-Released Sex Pheromone. **Neotropical Entomology**, 2020.

UNIÃO DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA DE SÃO PAULO - UNICA, 2018. Disponível em (<http://www.unica.com.br/estatística>). Acesso em: 22 jun. 2018.

VIANA, P. A.; CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Manejo de pragas em agroecossistemas sob plantio direto. **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2001.

WADT, L. **Morfometria, amostragem populacional e reinvestigação do feromônio de *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae)**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

WATSCHKE, T. L.; DERNOEDEN, P. H.; SHETLAR, D. **Managing turfgrass pests**. CRC Press, 2013.

XIAO, G.; YING, S. H.; ZHENG, P.; WANG, Z. L.; ZHANG, S.; XIE, X. Q.; FENG, M. G. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. **Scientific reports**, v. 2, p. 483, 2012.

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

ZENKER, M. M.; LIMA, I. S.; SPECHT, A.; DUARTE, A. G. Caracterização morfológica dos imaturos de *Hyponeuma taltula* (Schaus) (Lepidoptera, Noctuidae, Herminiinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 4, p. 1101-1107, 2007.

ZUCCHI, R. A.; VENDRAMIM, J. D.; BERTI FILHO, E. Importância dos insetos e manejo de pragas. **Curso de entomologia aplicada à agricultura**, 1992.