

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

CAUANE RAEMA ANTUNES GONÇALVES

**NEMATOIDE ENTOMOPATOGÊNICO *Steinernema rarum* PARA
O CONTROLE DE *Sphenophorus levis* (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE) EM CONDIÇÃO DE CAMPO**

TAUBATÉ-SP

2022

CAUANE RAEMA ANTUNES GONÇALVES

**NEMATOIDE ENTOMOPATOGÊNICO *Steinernema rarum* PARA O CONTROLE
DE *Sphenophorus levis* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EM CONDIÇÃO DE
CAMPO**

Trabalho de graduação apresentado ao Departamento de Ciências Agrárias da Universidade de Taubaté como requisito para obtenção do título de Engenheira Agrônoma. Área de Concentração: Entomologia Agrícola Orientador: Prof. Doutora Adriana Mascarette Labinas

TAUBATÉ-SP

2022

Ao meu melhor amigo e irmão, Luiz Ramon.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pela vida e por se fazer presente na minha jornada.

À minha mãe Ana Beatriz por ter me ensinado a sonhar, a ter fé nos sonhos e em mim.

Ao meu pai Oziel por ter me mostrado a ter força para continuar independente das dificuldades, a ser gentil, a ter esperança e a sorrir para a vida.

Ao meu irmão Luiz Ramon pelo amor, carinho, alegria e nossa conexão única.

À minha avó Maria Antônia pelas conversas acompanhada de um café e um bolo de fubá.

Ao meu avô Alcílio por ter despertado a minha curiosidade e questionamentos.

Aos meus tios e tias por serem presentes, cada um à sua maneira, com as brincadeiras, passeios, momentos e conselhos.

À minha amiga Vitória, por ter sido meu ombro amigo em momentos de dificuldades e me incentivar a continuar.

À minha amiga Carolina, pelas conversas, me escutar de coração, me motivar e acreditar em mim.

À minha amiga Graziela, por ter me abraçado como uma irmã.

À minha amiga Larissa, pelas risadas, pela leveza, doçura e por ter me mostrado que está tudo bem em ser diferente.

À minha amiga Aline, pela companhia, por ter me dado um lugar para espalhar e alegria.

À minha amiga Crystal, pelas aventuras, me apoiar, por ter me mostrado que a vida não é uma luta consigo mesmo e que todo dia é um novo dia para recomeçar.

À minha professora e orientadora Adriana por ter enxergado meu potencial e me dado oportunidades para desenvolvê-lo.

Aos meus coordenadores de estágio Luís Garrigós Leite, Fernando Baldo e Julie Chacón-Orozco pela paciência em me ensinar e guiar nas atividades desenvolvidas no Instituto Biológico de Campinas.

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

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma
gota”.*

Madre Teresa de Calcuta

RESUMO

O Estado de São Paulo representa 51,57% da produção nacional de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), fruto de um esforço coletivo entre produtores, empresas e instituições de pesquisa, que aperfeiçoaram e investiram em tecnologias em diferentes áreas e fases de produção. Apesar de ser o maior produtor nacional, o estado de São Paulo está em 9º lugar no ranking de produtividade. Isso se deve a variados fatores, sendo a incidência de insetos-praga um fator de grande importância. Atualmente a principal praga da cana-de-açúcar no estado de São Paulo é o bicudo-da-cana, *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). Os danos gerados pelo ataque podem resultar na redução da produtividade agrícola, qualidade de matéria prima, longevidade dos canaviais ou até morte das touceiras. Convencionalmente é utilizado o controle químico, que tem demonstrado ser um método ineficiente. O controle biológico é considerado uma ferramenta alternativa, sendo que para o manejo populacional de *S. levis* destaca-se o controle biológico por meio do uso de nematoides entomopatogênicos (NEPs) como *Steinernema rarum*, que apresenta o comportamento de busca ativa pelo inseto hospedeiro. Esse estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do nematoide entomopatogênico *Steinernema rarum* contra larvas e pupas de bicudo-da-cana (*Sphenophorus levis*) em condição de campo. O experimento foi realizado no município de São João da Boa Vista-SP, em um canavial da usina ABENGOA, sendo feito 2 tratamentos (1 tratamento controle e 1 tratamento com NEPs com uma concentração de 2×10^9 mL). Foram feitas três avaliações: 15, 30 e 78 dias após a aplicação. Nesse estudo, foi possível verificar um aumento de 37% de controle da praga entre a primeira e a segunda avaliação, sendo possível obter acima de 60% de controle após 30 dias de aplicação do agente e mantendo esse valor na terceira avaliação. Portanto, esse NEP pode ser considerado eficiente no controle do *S. levis* na cana-de-açúcar. Todavia, é necessário o desenvolvimento de novos estudos visando a concentração e dosagem adequada de *Steinernema rarum* em condições de campo.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar, controle biológico, nematoide entomopatogênico, *Steinernema rarum*

ABSTRACT

The State of São Paulo represents 51.57% of the national production of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), the result of a collective effort between producers, companies and research institutions, which improved and invested in technologies in different areas and phases of production. Despite being the largest national producer, the state of São Paulo is in 9th place in the productivity ranking. This is due to several factors, with the incidence of insect pests being a factor of great importance. Currently, the main pest of sugarcane in the state of São Paulo is the sugarcane boll weevil, *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). The damage caused by the attack can result in the reduction of agricultural productivity, quality of raw material, longevity of the cane fields or even death of the clumps. Conventionally, chemical control is used, which has been shown to be an inefficient method. Biological control is considered an alternative tool, and for the population management of *S. levis*, biological control is highlighted through the use of entomopathogenic nematodes (EPNs) such as *Steinernema rarum*, which has an active search behavior for the host insect. This study aimed to evaluate the efficiency of the entomopathogenic nematode *Steinernema rarum* against sugarcane weevil (*Sphenophorus levis*) larvae and pupae under field conditions. The experiment was carried out in the municipality of São João da Boa Vista-SP, in a sugarcane field at the ABENGOA mill, with 2 treatments (1 control treatment and 1 treatment with EPNs with a concentration of 2×10^9 mL). Three evaluations were made: 15, 30 and 78 days after application. In this study, it was possible to verify a 37% increase in pest control between the first and second evaluations, being possible to obtain over 60% of control after 30 days of application of the agent and maintaining this value in the third evaluation. Therefore, this EPN can be considered efficient in controlling *S. levis* in sugarcane. However, it is necessary to develop new studies aiming at the adequate concentration and dosage of *Steinernema rarum* under field conditions.

Keywords: sugarcane, biological pest control, entomopathogenic nematode, *Steinernema rarum*

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Sistema radicular da cana-de açúcar (BEACLAUIR, 2016). | 16 |
| Figura 2. Colmo da cana-de-açúcar e suas partes (THOMAS, 2015). | 17 |
| Figura 3. Estágios fenológicos da cana-de-açúcar (GASCHO & SHIH, 1983). | 18 |
| Figura 4. Área colhida - Lavouras temporárias (Hectares), 1990 – 2021 (IBGE, 2022) | 19 |
| Figura 5. Valor de produção da cana-de-açúcar ao longo dos anos (IBGE, 2022). | 20 |
| Figura 6. Fluxograma Usina Canavieira (Macedo, 2005) | 21 |
| Figura 7. Ciclo biológico de <i>Sphenophorus levis</i> (CASTELIANI, 2019). | 24 |
| Figura 8. Ciclo biológico dos nematoides dos gêneros <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> (ALVES, 1998). | 30 |
| Figura 9. Embalagem utilizada para multiplicação dos NEPs. (Fotos de Julie Chacón- Orozco)..... | 33 |
| Figura 10. Imagem aérea da disposição geográfica de implantação do experimento. (Figura de Fernando Berton Baldo)..... | 34 |
| Figura 11. Imagem do entorno da área do experimento..... | 35 |
| Figura 12. Ilustração do processo de extração dos NEPs para aplicação. | 36 |
| Figura 13. Aspecto da raiz após a retirada da touceira da Cana-de-açúcar | 37 |
| Figura 14. Processo de avaliação do experimento em campo através da retirada da planta e fatiamento do colmo. | 37 |
| Figura 15. Insetos levados ao laboratório para verificação da presença dos NEPs. (Fotos de Julie Chacón-Orozco) | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Tipos de cana-de-açúcar e a duração dos ciclos (EMBRAPA, 2022)..... | 18 |
| Tabela 2. Comparativo de área, produtividade Brasil e produção- Safras 2011/2012 e 2022/2023 (CONAB, 2022)..... | 20 |
| Tabela 3. Coordenadas geográficas da área de implantação do experimento (C = controle. T = Tratamento) | 34 |
| Tabela 4. Resultados das avaliações , com 15. 30 e 78 dias após a aplicação de NEPs no campo. (NP = Número de perfilhos, NTI = Número total de insetos, %M = porcentagem de insetos mortos)..... | 40 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|----|
| 1. | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. | REVISÃO DE LITERATURA..... | 15 |
| 2.1. | Cana-de-açúcar | 15 |
| 2.1.1. | Origem e história | 15 |
| 2.1.2. | Classificação botânica da cana de açúcar | 16 |
| 2.1.3. | Composição | 17 |
| 2.1.4. | Fenologia..... | 17 |
| 2.1.5. | Clima | 18 |
| 2.1.6. | Solo | 19 |
| 2.1.7. | Levantamento de dados da produção..... | 19 |
| 2.2. | Pragas | 21 |
| 2.2.1. | Bicudo-da-cana (<i>Sphenophorus levis</i>) | 22 |
| 2.2.1.1. | Distribuição geográfica e dispersão | 22 |
| 2.2.1.2. | Bioecologia e Flutuação populacional..... | 23 |
| 2.2.1.3. | Monitoramento e medidas de controle | 24 |
| 2.3. | Controle Biológico | 25 |
| 2.4. | Mercado de Bioinsumos | 26 |
| 2.4.1. | Predadores e parasitoides | 26 |
| 2.4.2. | Vírus..... | 27 |
| 2.4.3. | Fungos | 27 |
| 2.4.4. | Bactérias | 28 |
| 2.4.5. | Nematoides entomopatogênicos..... | 29 |
| 2.4.5.1. | <i>Steinernema rarum</i> | 31 |
| 3. | Objetivos | 32 |
| 4. | Material e métodos | 33 |
| 4.1. | Nematoides entomopatogênicos <i>Steinernema rarum</i> | 33 |
| 4.2. | Localização da área experimental | 33 |

| | | |
|------|--|----|
| 4.3. | Preparo do nematoide enteropatogênico <i>Steinernema rarum</i> para aplicação..... | 35 |
| 4.4. | Aplicação..... | 36 |
| 4.5. | Avaliação..... | 36 |
| 4.6. | Análise no laboratório..... | 38 |
| 5. | Resultados..... | 39 |
| 5.1. | Confirmação de virulência..... | 40 |
| 6. | Discussão..... | 41 |
| 7. | Conclusões..... | 42 |
| 8. | Referências..... | 43 |

1. INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma das principais atividades que impulsionam a economia brasileira, representando em 2021 um valor de produção de 75.284.266 mil reais (IBGE, 2022). Tem como produtos a silagem, açúcar, álcool e como subprodutos bagaço, vinhaça, torta de filtro, levedura, melaço, pellets de cana, açúcar líquido (xarope simples), óleo fúsel e biogás (CORTEZ, 1992; AGRISHOW, 2022). Apresentando então, grande versatilidade e aproveitamento da produção. O estado de São Paulo é uma potência no cultivo da cana-de-açúcar. Na estimativa feita da safra 2021/2022, das 366.327,4 toneladas produzidas no Sudeste, 298.541,2 toneladas foram no estado de São Paulo, ou seja, 81,5% do total produzido na região. E em relação ao Brasil, São Paulo representa 51,57% da produção nacional (CONAB,2022).

Tais resultados são frutos de um esforço coletivo de produtores, empresas e instituições de pesquisa. Aperfeiçoando e investindo nas tecnologias em diferentes áreas e fases de produção. Áreas como: preparo de solo, adubação, manejos culturais, tecnologia de aplicação, colheita e beneficiamento.

Apesar de ser o maior produtor nacional e o constante investimento em tecnologias, o estado de São Paulo está em 9º lugar no ranking de produtividade dos estados. Isso se deve à variados fatores, sendo um deles a incidência de insetos-praga. Atualmente a principal praga da cana-de-açúcar no estado de São Paulo é o bicudo-da-cana, *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). Os danos gerados pelo ataque podem levar à morte das touceiras. Além da redução na produtividade agrícola, qualidade de matéria prima e longevidade dos canaviais (ALMEIDA, 2005). Em determinados locais têm-se observado cerca de 50% a 60% de perfilho atacados, provocando uma queda na produtividade na ordem de 20 a 30 toneladas ha/ano (LEITE et al., 2012; GARCIA; BOTELHO, 2016).

Para o controle da praga, convencionalmente têm-se utilizado o controle químico, que tem demonstrado ser um método ineficiente, 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 destaca-se o controle biológico por meio do uso de nematoides entomopatogênicos como *Steinernema rarum*, que apresenta um comportamento intermediário entre o de emboscada e cruzador, podendo buscar um inseto tanto na superfície do solo como também enterrado, incluindo aqueles dentro da raiz e atuando preferencialmente na profundidade de 0-2cm abaixo da superfície do solo. SILVA et al. (2021) obtiveram 75% de porcentagem de mortalidade

de *Galleria mellonella*, dentro do colmo da cana, quando aplicado o NEP, no substrato. Sendo assim, *S. rarum* tem um grande potencial como controlador de pragas do solo com comportamento críptico, já que realizam busca ativa dentro do rizoma.

Outra vantagem que apresenta esta espécie de NEPs é a sua compatibilidade com a vinhaça, sendo resistente por até 6 horas quando mantido em suspensão, mas não afeta o nematoide na palha tratada com vinhaça, tornando possível a aplicação conjunta do *S. rarum* com a vinhaça.

Apesar dos estudos indicando *S. rarum* para alternativa para o controle de *S. levis*, existe uma carência de informações e dados de campo, que irá contribuir no desenvolvimento de tecnologia de aplicação. Ao observar as estatísticas, apesar do aumento em dez anos é constatado que há uma queda de produção da safra 2020/2021 para a safra 2022/2023. Tal acontecimento é decorrente de desafios em relação ao clima, como a falta de chuva e geadas e a incidência de pragas nos canaviais (G1 GLOBO, 2021).

Para atingir níveis eficientes de produção e produtividade, tais problemas devem ser solucionados em uma ação conjunta de pesquisadores, produtores e empresas do setor.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cana-de-açúcar

2.1.1. Origem e história

A cana-de-açúcar é originária da Nova Guiné, sendo introduzida posteriormente em várias regiões, como: Índia, Egito, Chipre, Sicília, Espanha. Um processo que levou aproximadamente 1500 anos (FARMERS PORTAL, 2021).

O açúcar era consumido por reis e nobres na Europa. Por ser fonte de energia para o organismo, os médicos forneciam açúcar em grãos para a recuperação ou alívio dos moribundos (UCLA, 2002).

No início do século XIV, há registros de comercialização de açúcar por quantias que hoje seriam equivalentes R\$ 200,00/kg. Por isso, quantidades de açúcar eram registradas em testamento por reis e nobres (MACHADO, 2003).

Cristóvão Colombo, introduziu o plantio da cana na América em sua segunda viagem ao continente em 1493 onde hoje é a República Dominicana.

Oficialmente, foi Martim Affonso de Souza que em 1532 trouxe a primeira muda de cana ao Brasil e iniciou seu cultivo na Capitania de São Vicente, onde ele próprio construiu o primeiro engenho de açúcar. Mas foi no Nordeste, principalmente nas Capitanias de Pernambuco e da Bahia, que os engenhos de açúcar se multiplicaram.

Na agricultura, a busca por novas variedades de cana mais produtivas e mais resistentes às pragas e doenças, iniciada em 1926, por ocasião da infestação dos canaviais pelo mosaico, foi também intensificada e teve início o controle biológico de pragas. Entidades como Copersucar, o IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) e o IAA-Planalçucar foram responsáveis por esses avanços. Esse período de renovação culminou com a elevação dos preços do açúcar no mercado internacional que atingiram a marca histórica de mais de US\$ 1000 a tonelada (RODRIGUES; ROSS, 2020).

Com os recursos decorrentes desse aumento de preço foi criado pelo IAA o Funproçucar que financiou em 1973 a modernização das indústrias e a maioria das usinas foi totalmente remodelada. Esses fatos foram de importância fundamental para o Brasil enfrentar as crises do petróleo que se seguiram a partir de 1973, através do Proálcool. Esse programa de incentivo à produção e uso do álcool como combustível em substituição à gasolina, criado em 1975, alavancou o desenvolvimento de novas regiões produtoras como o Paraná, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Em menos de cinco anos a produção de pouco mais de 300 milhões de litros ultrapassou a cifra de 11 bilhões de litros, caracterizando o Proálcool como o maior programa de energia renovável já estabelecido em termos mundiais, economizando mais de US\$ 30 bilhões em divisas (CRUZ et al., 2016).

2.1.2. Classificação botânica da cana de açúcar

A planta de cana-de-açúcar é classificada botanicamente como pertencente a família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum* L.

O gênero *Saccharum* contém seis espécies: duas silvestres, *S. spontaneum* L. e *S. robustum* Brandes e Jeswit ex Grassl., e quatro espécies domesticadas ou cultivadas *S. officinarum* L., *S. barberi* Jeswit, *S. sinensis* Roxb, e *S. edule* Hassk. (DANIELS; ROACH, 1987).

As cultivares atuais de cana-de-açúcar são, em realidade, híbridos interespecíficos entre *Saccharum officinarum* L. e *S. spontaneum* L. (COX et al. 2000).

A planta da cana-de-açúcar é composta por sistema radicular (Figura 1), colmo (constituída de nós e entrenós, em cada nó existindo uma gema) (Figura 2), folha (dividindo-se em lâmina foliar e bainha), inflorescência (flores hermafroditas) e fruto. As raízes são fasciculadas ou em cabeleira, podendo atingir até 4 m de profundidade sendo que, 85% delas encontram-se nos primeiros 50 cm e, aproximadamente, 60% entre os primeiros 20-30 cm de profundidade, havendo diferença entre as variedades. Os rizomas são constituídos por nódios ou nós, internódios ou entrenós e gemas, as quais são responsáveis pela formação dos perfilhos da touceira. As novas touceiras da soca ou ressoca se originam dos rizomas que brotarão após a colheita. O colmo da cana é cilíndrico, ereto, fibroso e rico em açúcar. O nó contém a gema, o anel de crescimento, a cicatriz foliar e a zona radicular (SALVADOR, 2021).

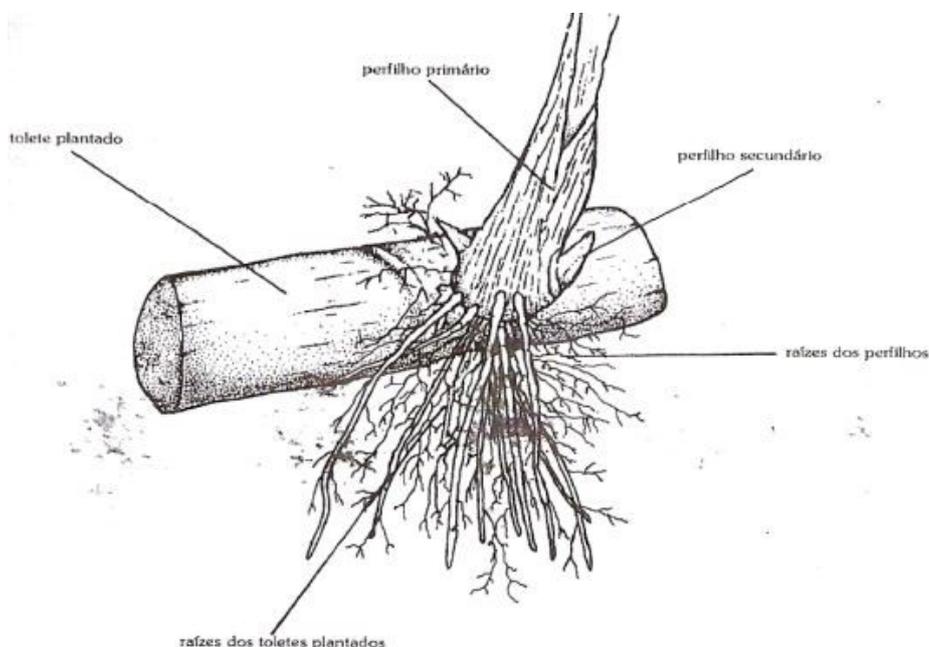


Figura 1. Sistema radicular da cana-de açúcar (BEACLAUIR, 2016).

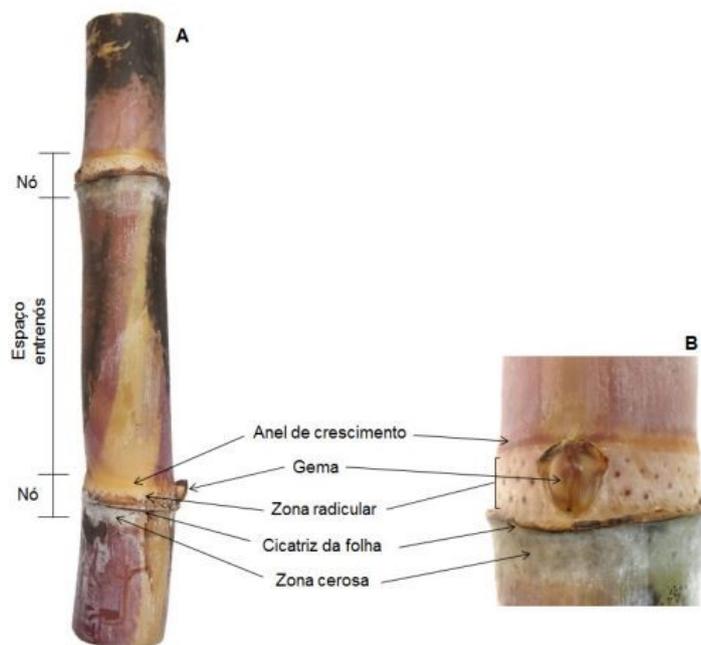


Figura 2. Colmo da cana-de-açúcar e suas partes (THOMAS, 2015).

2.1.3. Composição

A cana-de-açúcar está composta aproximadamente de 86 a 92 % de caldo e de 8 a 14 % de fibras (matéria insolúvel em água). O caldo é composto de água (75 a 82 %) e 18 a 25 % de sólidos solúveis (brix), correspondendo em maior parte aos açúcares (principalmente sacarose) e outros elementos (BEAUCLAIR, 2016).

2.1.4. Fenologia

A cana de açúcar possui quatro estágios fenológicos (Figura 3): fase de brotação e estabelecimento, fase de perfilhamento, período de crescimento dos colmos, fase de maturação.

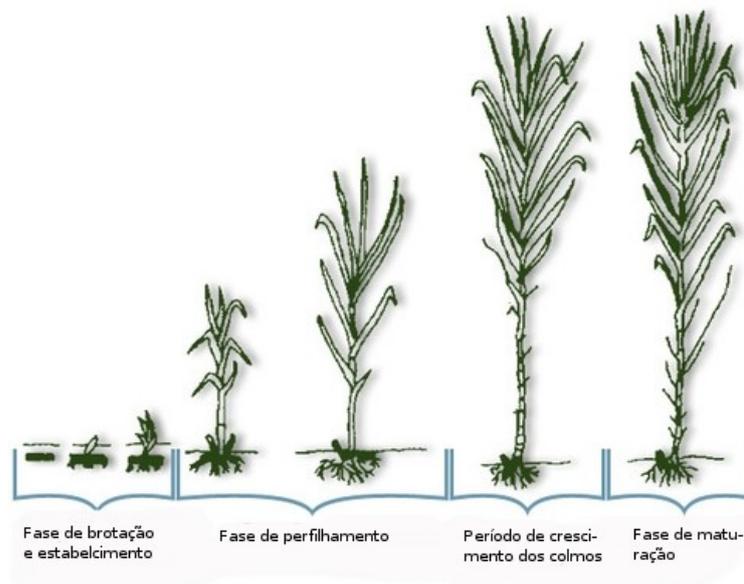


Figura 3. Estágios fenológicos da cana-de-açúcar (GASCHO & SHIH, 1983).

Existem quatro tipos de cana, se diferenciando na duração dos seus respectivos ciclos (Tabela 1).

Tabela 1. Tipos de cana-de-açúcar e a duração dos ciclos (EMBRAPA, 2022).

| Tipo de cana | Duração dos ciclos |
|---------------------|---------------------------|
| Cana de ano e meio | 14 a 22 meses |
| Cana de ano | 12 meses |
| Cana soca | 12 meses |
| Cana de inverno | 12 a 16 meses |

2.1.5. Clima

A cultura da cana-de-açúcar se adapta muito bem às regiões de clima tropical, quente e úmido, cuja temperatura predominante seja entre 19 e 32° C e onde as chuvas sejam bem distribuídas, com precipitação acumulada acima de 1000 milímetros por ano (EMBRAPA, 2022).

A cultura conta com duas fases principais de desenvolvimento: na fase de crescimento vegetativo a planta é favorecida pelo clima úmido e quente; já na fase de maturação, as temperaturas amenas e a baixa disponibilidade de água favorecem o acúmulo de sacarose (EMBRAPA, 2022).

As condições climáticas predominantes no Estado de São Paulo são consideradas excelentes para a produção de cana-de-açúcar, permitindo o crescimento vigoroso da planta durante a primavera e o verão, e oferecendo condições adequadas para a

maturação e a colheita, durante o outono e o inverno. No Centro-Oeste, apesar do clima apresentar certa semelhança, a deficiência hídrica durante o inverno é mais acentuada, exigindo, na maioria das regiões, uma pequena suplementação hídrica para viabilizar a rebrota das soqueiras e a manutenção dos níveis de produtividade (EMBRAPA, 2022).

2.1.6. Solo

Apesar de se desenvolver em solos de baixa fertilidade ou com condições físicas desfavoráveis, a cana-de-açúcar é uma cultura que responde aos solos férteis e fisicamente adequados, atingindo altas produtividades nestas condições. Os solos ideais para o desenvolvimento da cana são bem arejados e profundos, com boa retenção de umidade e alta fertilidade. O valor do pH em cloreto de cálcio deve ser de aproximadamente seis (EMBRAPA, 2022).

2.1.7. Levantamento de dados da produção

O Estado de São Paulo, que lidera a produção no país, respondeu por 54,1% da quantidade produzida na safra 2020/21, e foi responsável pela produção de 48,4% de etanol (14,3 bilhões de litros) e 63,2% do açúcar (26,0 milhões de toneladas). É previsto que a produção nacional seja cerca de 572.874.900 toneladas na safra 2022/2023, que vão resultar em 33,9 milhões de toneladas de açúcar e 25,9 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2022).

Desde 2012 observa-se pouca variação na quantidade de área colhida, se mantendo ao redor de 9 milhões de hectares (Figura 4).

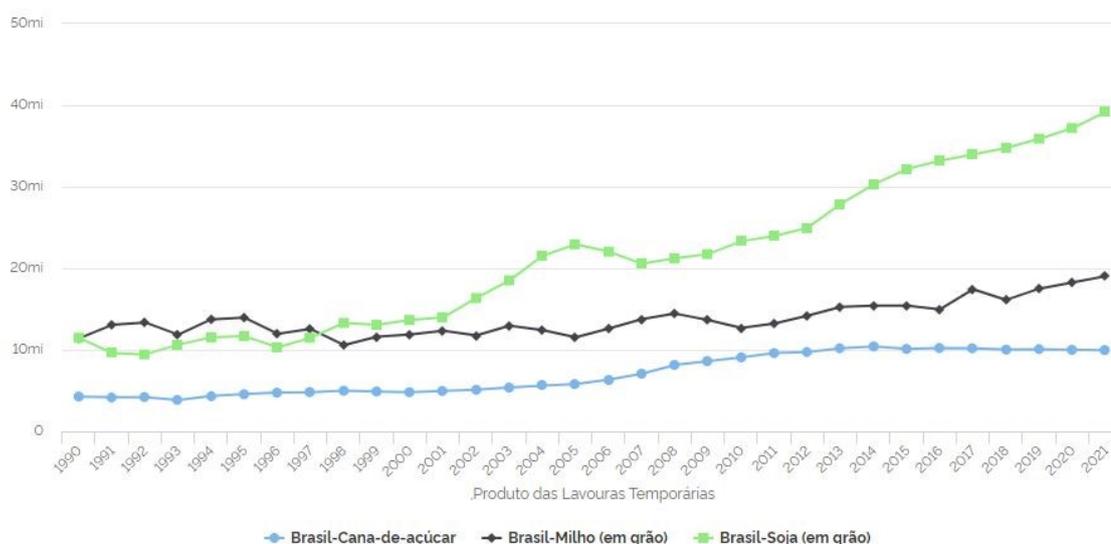


Figura 4. Área colhida - Lavouras temporárias (Hectares), 1990 – 2021 (IBGE, 2022)

Tabela 2. Comparativo de área, produtividade Brasil e produção - Safras 2011/2012 e 2022/2023 (CONAB, 2022)

| Área (em mil ha) | | Produtividade (em kg/ha) | | Produção (em mil t) | |
|------------------|-----------|--------------------------|-----------|---------------------|-----------|
| Safra | Safra | Safra | Safra | Safra | Safra |
| 2011/2012 | 2022/2023 | 2011/2012 | 2022/2023 | 2011/2012 | 2022/2023 |
| 8.356,100 | 8.127,7 | 67.060 | 70.484 | 560.363,8 | 572.874,9 |

Ou seja, de acordo com as estatísticas a produtividade aumentou 3.424 kg/ha e a produção 12.511,1 mil toneladas. Havendo uma redução de 228,4 mil hectares (Tabela 2). Desde 2019 é constatado um aumento no valor de produção (Figura 5).

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



Figura 5. Valor de produção da cana-de-açúcar ao longo dos anos (IBGE, 2022).

Sendo o maior produtor mundial e com grandes áreas, produção, que resultam em variados produtos e subprodutos (Figura 6), fica evidente a grande importância da cultura no cenário da agricultura do Brasil e seu impacto econômico.

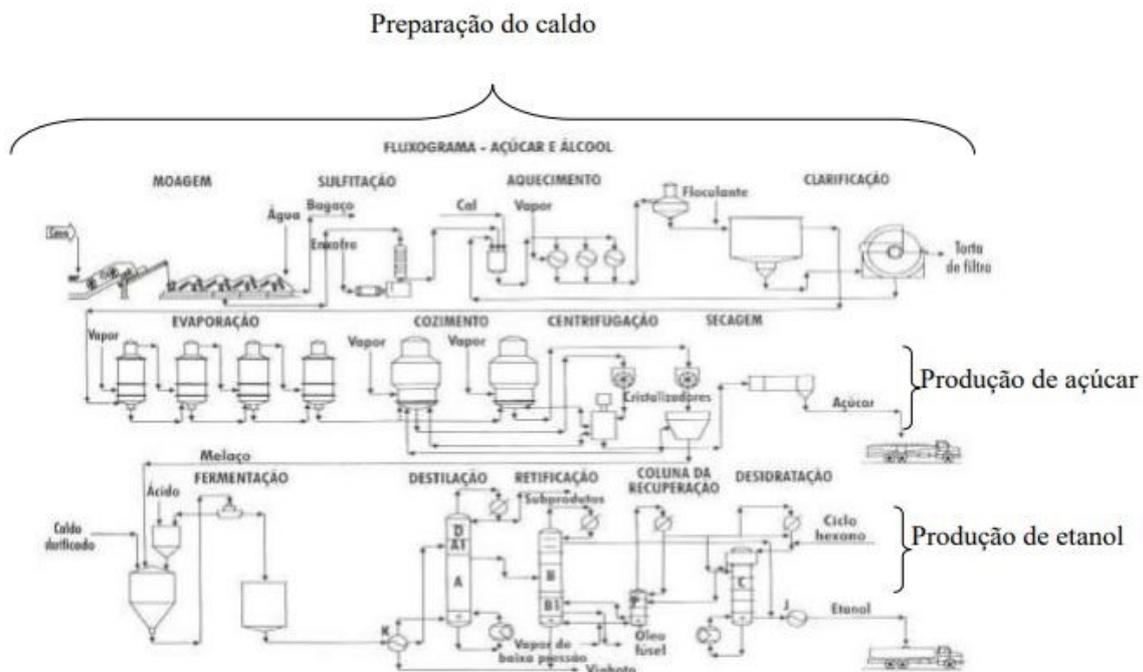


Figura 6. Fluxograma Usina Canavieira (Macedo, 2005)

2.2. Pragas

São organismos que reduzem a produção das culturas ao atacá-las, são transmissores de doenças (principalmente viroses) e reduzem a qualidade dos produtos agrícolas. Convencionalmente um organismo é considerado praga, quando é constatado sua presença na cultura. No manejo integrado de pragas (MIP) um organismo só é considerado praga quando causa danos econômicos (PICANÇO, 2010).

As principais pragas da cana de açúcar são: broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*), bicudo da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*), cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*), broca dos rizomas (*Migdolus fryanus*), broca gigante (*Telchin licus*), cupins (*Heterotermes tenuis*, *Cornitermes cumulans*, *Neocapritermes opacus*, *Embiratermes* sp, *Procornitermes triacifer*), lagarta desfolhadora, lagarta elasmó (*Elasmopalpus lignosellus*) e formigas saúva (*Atta* sp.) Há dezenas de insetos que podem ser classificados como pragas secundárias ou que apresentam menor importância quando se menciona o potencial de causar prejuízos à cana, merecendo destaque, entre essas, o pão-de-galinha (*Diloboderus abderus*), os elaterídeos, os crisomelídeos, percevejo castanho (*Scaptocoris castanea*), pérola-da-terra (*Eurizococcus brasiliensis*), broca peluda (*Hyponeuma taltula*) e outros curculionídeos (CTC, 2018).

2.2.1. Bicudo-da-cana (*Sphenophorus levis*)

O gênero *Sphenophorus* ocorre em diversos países, de vários continentes, compreendendo um complexo de espécies que danificam culturas de importância econômica do grupo das gramíneas. Somente nos EUA ocorrem mais de 64 espécies desse gênero, sendo que 20 já foram registradas na Flórida. Diversas espécies são encontradas também em países da América do Sul, tendo sido descritas 14 espécies no Brasil, incluindo *S. levis* que foi descrita como espécie nova em 1978 (LEITE et al., 2006). Originário da América do Norte, o gênero está inserido na ordem dos coleópteros, a maior e mais diversificada da Classe Insecta com 357.899 espécies descritas, que equivalem aproximadamente a 70% desses organismos (LAWRENCE; BRITTON, 1991).

2.2.1.1. Distribuição geográfica e dispersão

Aproximadamente 80 pragas já são descritas para cultura da cana-de-açúcar, com destaque para o *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) (GALLO et al., 1978) popularmente chamado de bicudo da cana-de-açúcar.

A espécie ocorre no Brasil, Paraguai e norte da Argentina (ZARBIN et al., 2003), sendo uma das mais importantes pragas no Brasil, que pode provocar perdas de até 33% na produtividade da safra (Dinardo-Miranda; Fracasso, 2010). Segundo GALLO et al. (1978), a presença de *S. levis* já havia sido registrada em mais de 40 municípios do estado de São Paulo. Estudos conduzidos por Stingel et al. (2010) em canaviais de diversas usinas paulistas, indicaram que a presença do bicudo em 124 municípios do estado de São Paulo, ou seja, a área de maior produção de cana-de-açúcar do país ocorre nas áreas infestadas pela praga, além disso, estimou-se que no ano de 2014 a ocorrência da praga tenha se expandido para mais 60 municípios.

Apesar da vasta distribuição pela América Latina, incluindo os estados de São Paulo, Paraná (PRECETTI; ARIGONI, 1990), Santa Catarina e Minas Gerais (GIOMETTI et al., 2011) e mais recentemente Mato Grosso do Sul (MORAES; ÁVILA, 2013), Mato Grosso e Goiás (GARCIA, 2013), a capacidade de dispersão de *S. levis* é muito baixa, seu deslocamento é realizado basicamente por caminamento, já que sua capacidade de vôo é restrita e pouco comum (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

A dispersão do inseto é de aproximadamente 3 a 5 m por dia, tanto para macho quanto para fêmea (PRECETTI; TERÁN, 1983). Tais relatos comprovam que para distribuição geográfica em larga escala, o transporte de mudas juntamente com as formas biológicas da praga, é de grande relevância pois, segundo Dinardo-Miranda (2000), os insetos podem ser transportados dentro de colmos e depositados no solo, quando o corte e formação de galerias nos primeiro internódios basais. Ainda segundo

a autora um fator importante para o controle e diminuição dos problemas fitossanitários da cultura, seria a sanidade dentro dos viveiros de mudas pré-brotadas.

2.2.1.2. Bioecologia e Flutuação populacional

Para Degaspari et al. (1987), o ciclo biológico de *S. levis* (Figura 7) varia de 58 a 307 dias, com média de 173,4 dias em condições de laboratório. Entre machos e fêmeas a longevidade pode chegar da 247 e 249 dias respectivamente apresentando até 5 gerações em 12 meses. Após acasalamento as fêmeas perfuram com as mandíbulas os tecidos sadios do rizoma, na base das brotações, abaixo do nível do solo inserem os ovos individualmente, a até 4 mm no interior dos colmos, ovipositando em torno de 60 a 70 ovos ao longo do ciclo biológico (PRECETTI; TERÁN, 1983).

Os ovos possuem uma coloração branco-leitosa no momento da postura e quando estão próximos à eclosão das larvas tornam-se amarelo-escuros. O período de incubação está entre 7 e 12 dias (DEGASPARI et al., 1987; PRECETTI; ARIGONI, 1990).

A larva apresenta um período de 30 a 60 dias, com aspecto branco leitoso ao eclodir e amarelado com o seu desenvolvimento, cabeça castanho avermelhada, ápoda e enrugada, apresenta mancha marrom no primeiro segmento torácico, possui mandíbulas desenvolvidas e se locomove apoiando nas galerias abertas para se alimentar. São mais abundantes na época seca do ano, com pico populacional em junho-julho (PRECETTI; TERAN, 1983; PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Próximo da fase de pupa, a larva amplia a galeria e prepara uma câmara pupal, interrompe seus movimentos e a alimentação (DEGASPARI et al., 1987).

No estágio pupal, logo após sua formação, a coloração é branco-leitosa e torna-se castanha à medida que se aproxima da emergência do adulto, quando adquire uma coloração castanha, podendo ser encontrada em um casulo friável feito com serragem fina. Em condições de laboratório, o período pupal de *S. levis* pode ter uma duração de 5 a 13 dias, com média de 10,5 dias e pico populacional de pupas ocorre em dezembro (DEGASPARI et al., 1987).

Os adultos de *S. levis* apresentam dois picos populacionais no ano, um entre os meses de fevereiro e março, e outro entre os meses de outubro e novembro. Medem de 12 a 15 mm, possuem coloração marrom escuro com manchas pretas sobre o dorso e com a face ventral preta. Porém com hábito noturno, são pouco ágeis e quando tocados, simulam estar mortos (tanatose). Apresentam dimorfismo sexual caracterizado pela diferença de tamanho corporal e do rosto. Além de menor, os machos possuem a região ventral mais pilosa do que a das fêmeas (PRECETTI; TERAN, 1983).

Em campo, os adultos se encontram abaixo do nível do solo, podendo também permanecer nos restos vegetais ou entre os perfilhos na base da touceira; têm preferência por solos claros, argilosos e com boa umidade (PINTO; et.al, 2006).

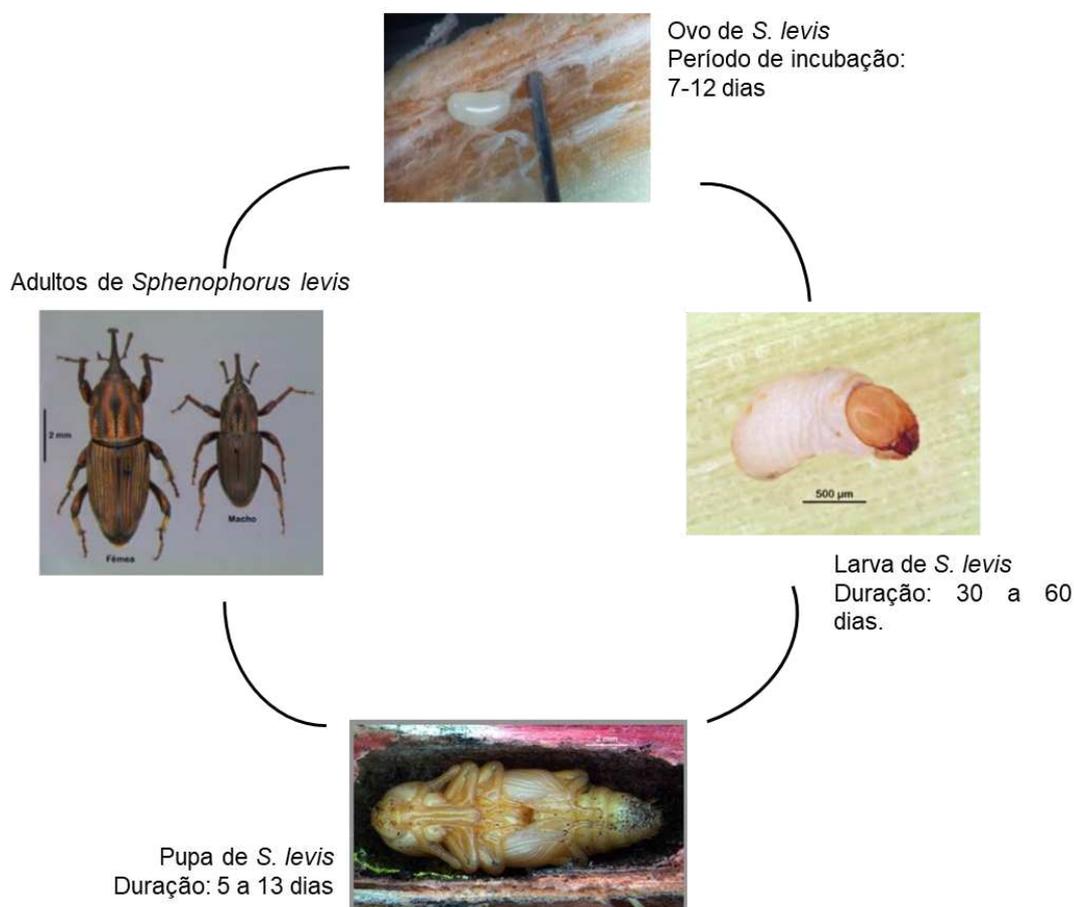


Figura 7. Ciclo biológico de *Sphenophorus levis* (CASTELIANI, 2019).

2.2.1.3. Monitoramento e medidas de controle

Para o levantamento populacional de larvas, pupas e adultos em uma área com ocorrência da praga, utilizam-se trincheiras de 50 cm² em dois pontos por hectare (ALMEIDA; STINGEL, 2008). O uso de iscas tóxicas, confeccionadas com toletes de cana de 30 cm, rachados ao meio e imersos por 24 horas em solução de inseticida, distribuindo 100 iscas/ha, pode ser empregado para controle de adultos (DEGASPARI et al., 1987; PRECETTI; ARRIGONI, 1990). Porém, devido ao alto custo relacionado a mão de obra (preparo, distribuição em campo e posterior revisão) as iscas tóxicas com inseticida, muito utilizadas nas décadas de 80 e 90, deixaram de ser usadas e atualmente essa técnica tem sido substituída pelo uso de toletes sem inseticida e empregado para monitoramento da praga (PAVLU, 2012).

O controle da praga é feito principalmente de duas formas: através do manejo cultural, como a destruição mecânica da soqueira na época apropriada e a manutenção da área livre de vegetação hospedeira por um período prolongado; e através do controle químico, realizando aplicação preventiva nos sulcos de plantio com inseticida registrado (DINARDO-MIRANDA, 2005; DINARDO MIRANDA, 2014). O aumento de novos registros de áreas infestadas, apesar de todas as medidas adotadas, torna visível a dificuldade de controle desse inseto, o que demonstra a importância de pesquisas na busca das alternativas mais eficazes (LEITE et al., 2006). A destruição mecânica da soqueira é o método mais utilizado, medida já adotada e relatada por Precetti e Arrigoni (1990), utilizada em áreas destinadas a reforma do canavial com histórico de infestação e a sua finalidade é destruir larvas e pupas presentes no solo, expor a seus predadores e causar o secamento dos rizomas.

Apesar do alto custo da operação e aumento do risco de erosão do solo, esta tática de controle é de grande eficiência na redução populacional da praga e deve ser usada sempre que possível (DINARDO-MIRANDA, 2014). O uso de mudas sadias, a rotação de culturas, evitando gramíneas e em especial milho, manutenção da área livre de plantas hospedeiras e a realização do plantio tardio - ciclo de cana de ano e meio, também são recomendadas (BARRETO-TRIANA, 2009).

2.3. Controle Biológico

A premissa básica do controle biológico é controlar as pragas agrícolas e os insetos transmissores de doenças a partir do uso de seus inimigos naturais, que podem ser outros insetos benéficos, predadores, parasitoides, e microrganismos, como fungos, vírus, bactérias e nematoides entomopatogênicos. É um método de controle racional e sadio, que tem como finalidade utilizar esses inimigos naturais que não deixam resíduos nos alimentos e são inofensivos ao meio ambiente e à saúde da população. A pesquisa na área do controle biológico contribui para redução do uso de pesticidas químicos empregados no manejo integrado de pragas, colaborando para a melhoria da qualidade dos produtos agrícolas, redução da poluição ambiental, preservação dos recursos naturais e, portanto, para a sustentabilidade dos agroecossistemas (EMBRAPA, 2022).

O controle biológico de pragas pode ser dividido em quatro tipos: artificial, natural, clássico e o aplicado.

No controle biológico artificial ou indutivo, há interferência do homem no qual é administrado uma grande população de inimigos naturais para controle rápido de pragas. No controle biológico natural é feito realmente de forma natural no qual as populações de inimigos naturais não são aplicadas para o combate da praga, mas sim, já existem no ecossistema natural no local natural, ocasionando em um equilíbrio na

natureza. No controle biológico clássico consiste na aplicação de um inimigo natural (predadores ou parasitoides), que na maioria dos casos é importado de outro país. São aplicados de maneira pontual para controlar as pragas. O processo é de longo prazo. Nesse tipo de controle há o risco de introduzir organismos indesejáveis, junto aos organismos benéficos. O controle biológico aplicado é similar a um controle com pesticidas, onde é utilizado de forma pontual visando o controle da praga de forma mais imediata, uma vez que possui uma ação mais rápida em comparação aos outros controles biológicos. Esse tipo de controle necessita de um uso pontual e nas áreas específicas de pragas. Caso haja necessidade de maior precisão, é fundamental a utilização das novas tecnologias agrícolas (IFOPE, 2022).

2.4. Mercado de Bioinsumos

Como resultado de altos custos com defensivos agrícolas sintéticos, dificuldade, ineficiência deles em atingir algumas pragas devido ao comportamento e questões de sustentabilidade, o setor do controle biológico vem conquistando cada vez mais o interesse dos produtores.

O mercado de insumos biológicos deve valer US\$ 18,5 bilhões até 2026, apontam dois relatórios recentes publicados pela empresa de pesquisa de mercado *Research and Markets*. Se confirmada a projeção, o setor teria uma disparada de 74% em apenas quatro anos na comparação com os US\$ 10,6 bilhões de valor atuais (AGROLINK, 2022).

O mercado de produtos biológicos deve atingir R\$ 3,7 bilhões no Brasil em 2030. O valor representa um crescimento de 107% em comparação com a previsão de vendas em 2021. De 2019 a 2020, o valor de mercado dos produtos biológicos teve um aumento de 42%. Grandes culturas como soja, cana-de-açúcar e milho, representam 75% desse mercado (GLOBO RURAL, 2021).

Os principais organismos utilizados no controle biológico são: predadores, parasitoides, vírus, fungos, bactérias e nematoides entomopatogênicos.

2.4.1. Predadores e parasitoides

Os parasitoides e predadores são animais que se alimentam de outros animais. A diferença principal entre eles é que os parasitoides completam seu desenvolvimento em um único inseto, enquanto os predadores atacam rapidamente e consomem vários insetos (presas) durante o seu desenvolvimento larval e na fase adulta. Os insetos predadores apresentam diversas adaptações que ajudam na captura de presas como: pernas ágeis, visão e olfato bem desenvolvidos. A dieta é variada e o grupo pode apresentar espécies generalistas (vários tipos de presas) ou especialistas (um ou

poucos tipos de presas), sendo possível atuarem tanto durante o dia quanto durante a noite. São exemplos de predadores generalistas as vespas (marimbondos) e formigas predadoras, além do louva-a-deus. As joaninhas e o bicho lixeiro, por outro lado, são predadores que atacam insetos pequenos e de corpo mole, como pulgões e larvas de mosca-branca, além de ovos de várias espécies. Os insetos parasitoides diferem dos parasitas verdadeiros, como pulgas e piolhos, porque levam o hospedeiro à morte. Os parasitoides precisam do hospedeiro para completar seu desenvolvimento durante a fase jovem (larva). Exemplo: vespinhas do gênero *Trichogramma* são parasitoides de ovos da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*); tem-se ainda parasitoides de ovos do percevejo-da-soja e parasitoides de pulgão. Quando o parasitoide completa seu desenvolvimento larval ou torna-se adulto, seu hospedeiro morre. Durante a fase adulta, o parasitoide é de vida livre e alimenta-se, geralmente, de pólen e néctar de flores (MEDEIROS et al., 2010).

2.4.2. Vírus

Dentre as viroses patogênicas a insetos, muitas permanecem sem classificação, embora a maioria tenha sido enquadrada em 12 famílias virais, destacando-se três famílias, que são: Baculoviridae, Poxviridae e Reoviridae, as quais produzem corpos de inclusão no qual os virions são oclusos aleatoriamente (SIKOROWSKI; LAWRENCE, 1997). Muitas viroses de insetos estão subvencionadas a famílias de viroses de vertebrados, mas algumas estão em famílias de viroses específicas de insetos e outros invertebrados (Baculoviridae, Polydnaviridae e Ascoviridae).

Os vírus penetram no sistema digestivo dos insetos, através do alimento contaminado atingindo o intestino médio da larva, cujo ambiente alcalino dissolve o alimento, liberando as partículas virais que iniciarão o processo de infecção das células epiteliais do intestino médio, se disseminando por todo o corpo por intermédio do sistema traqueal. Os sintomas são variáveis, no entanto, a maioria das viroses ocasionam a perda do apetite, da mobilidade e da coloração da epiderme, liquefazendo as vísceras contidas no corpo do inseto (SILVA, 2000).

2.4.3. Fungos

Os fungos são patógenos naturais ocorrentes nas populações de artrópodes. Mais de 700 espécies de fungos acerca de 90 gêneros, são patogênicas a insetos (KHAN et al., 2012). São inimigos naturais de uma ampla variedade de artrópodes dentro das ordens Acari, Coleoptera, Diplopoda, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Blattodea, Lepidoptera, Orthoptera, Siphonoptera, Thysanoptera (KHAN et al., 2012; LACEY et al. 2015).

Diferentemente das bactérias, protozoários e vírus, os fungos podem infectar os insetos não somente pelo intestino, mas também pelos espiráculos e particularmente pela superfície do tegumento. Esta propriedade conduz a possibilidade teórica da infecção de insetos independente de sua atividade alimentar (FERRON, 1978; HAJEK; LEGER, 1994).

O ciclo das relações fungo-hospedeiro depende das condições ambientais, como temperatura, umidade, luz, radiação ultravioleta, assim como das condições nutricionais e suscetibilidade do hospedeiro, e apresenta as seguintes fases: adesão, germinação, formação de apressórios, formação do grampo, penetração, colonização, reprodução e disseminação (ALVES, 1998).

Para a germinação do esporo e penetração do tubo germinativo no tegumento do inseto, há necessidade de elevada umidade e temperatura adequada no ambiente, portanto, as epizootias dependem destas condições climáticas favoráveis. Os insetos infectados perdem a mobilidade e a coloração, apresentando o corpo rígido e quebradiço, podendo algumas vezes estar recoberto pelo micélio e esporos com aspecto e coloração típicos do entomopatógeno associado (SILVA, 2000).

As espécies *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Isaria fumosorosea* são as mais utilizadas para o desenvolvimento de biopesticidas para o controle de pragas agrícolas (D'ALESSANDRO, 2020).

2.4.4. Bactérias

Embora sejam conhecidas centenas de espécies de bactérias associadas a insetos, são poucas aquelas que possuem características que permitem o seu uso no controle de insetos prejudiciais. As espécies entomopatogênicas de maior importância concentram-se nas famílias Enterobacteriaceae e Bacillaceae, além de alguns gêneros da ordem Pseudomonadales (HABIB; ANDRADE, 1998).

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) é um dos principais agentes microbiológicos comercializados no Brasil e em diversos países. A sua atividade inseticida está relacionada com a presença de inclusões proteicas cristalinas conhecidas como delta endotoxinas, as quais são produzidas no momento da esporulação. Essas toxinas são inofensivas para os seres humanos, demais vertebrados e meio ambiente (POLETTI, 2020). Geralmente, os sintomas de insetos acometidos por infecções bacterianas são evidenciados pela perda do apetite, diarreia e vômito (TANADA e KAYA, 1993).

A invasão da bactéria dentro da hemocele resulta na septicemia e morte do inseto. Os insetos mortos por bactérias usualmente escurecem e frequentemente amolecem o tegumento, o qual permanece intacto. Os tecidos internos e órgãos são decompostos

adquirindo uma consistência viscosa, havendo um supercrescimento com grande número de bactérias.

As bactérias infectam os insetos geralmente diretamente pela cavidade e trato digestivo, sendo menos comum diretamente pelos ovos, tegumento e traqueia. Elas podem penetrar no inseto por intermédio de aberturas mecânicas produzidas por parasitoides e predadores. Dentro do canal alimentar, as bactérias produzem enzimas, lecitinase, proteinase, e quitinase, que danificam o epitélio do intestino médio, favorecendo a entrada da bactéria na hemocele (SIKOROWSKI; LAWRENCE, 1997).

2.4.5. Nematoides entomopatogênicos

Embora existam 11 famílias de nematóides que oferecem potencial para o controle biológico de insetos pragas, o recente enfoque tem sido basicamente sobre 4 famílias: Mermithidae, da classe Adenophorea, e Neotylenchidae, Steinernematidae e Heterorhabditidae, da classe Secernentea. Os nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* já são produzidos comercialmente para uso no controle de pragas agrícolas, de importância veterinária e urbanas. São utilizados como controladores biológicos de diversas pragas agrícolas que vivem no solo ou possuem hábitos crípticos (GEORGIS et al., 2006, GREWAL et al., 2001).

A eficiência de NEPs é conhecida contra diversas pragas agrícolas (Grewal et al., 2001). Contra cigarrinhas esses patógenos foram aplicados sobre ninfas de *Manaharva fimbriolata*, provocando mortalidade de 100% em laboratório e 70% em campo (Leite et al., 2005).

A forma larval de resistência dos NEPs é conhecida como juvenil infectante (JI), e encontrada livre no solo. Este juvenil infectivo consegue evitar dessecação e conferir maior tempo de sobrevivência, pois possui duas cutículas superpostas e seus orifícios naturais (boca e ânus) encontram-se fechados. Cada espécie de nematoide possui uma única espécie de bactéria associada a ele, essa monocultura de bactéria fica localizada dentro de seu tubo digestivo e estas são responsáveis pela morte do inseto (MILSTEAD, 1979).

O ciclo de vida (Figura 8) inicia-se com a entrada do JI no inseto. No gênero *Steinernema*, o JI penetra no organismo pela boca ou espiráculos. Chegando ao hemoceloma, o JI libera a bactéria que reside no seu trato intestinal. Esta vai se reproduzir e causar septicemia no hospedeiro e a morte deste entre 24 a 48 horas (SPRINGER, 1995). Os juvenis se tornam adultos de primeira geração podendo ser machos ou fêmeas, ocorrendo assim a cópula (SMITH, 1991). Os ovos fertilizados são postos, mas alguns são retidos no interior da fêmea até a eclosão dos juvenis de estágio 1 (J1). Estes irão romper a parede do corpo da mãe e se alimentarão do inseto.

Os J1 completarão o ciclo passando por J2, J3, J4 e adultos de segunda geração. Estes adultos de segunda geração são menores que os de primeira geração, eles copulam e novos ovos e juvenis são liberados (POINAR, 1990).

Os NEPs se alimentam dos nutrientes liberados pelas bactérias e delas próprias. O ciclo de reprodução acaba quando o alimento se esgota, conseqüentemente os JIs se deslocam para o ambiente, procurando outro hospedeiro para recomeçar seu ciclo (NGUYEN; SMITH, 1991).

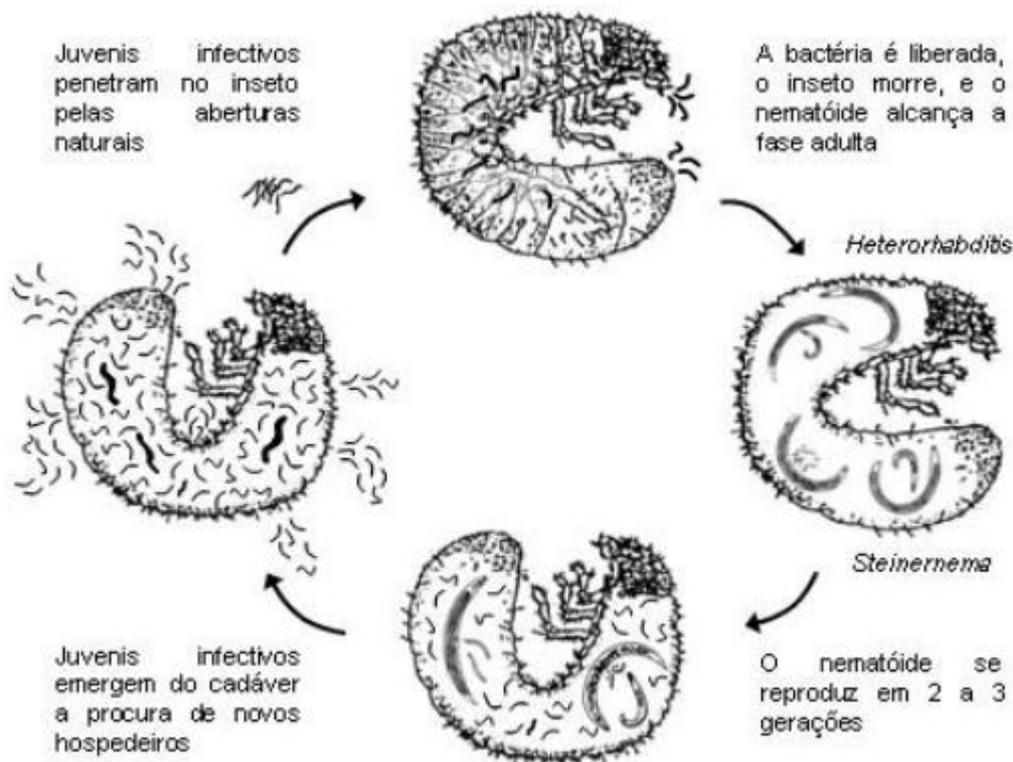


Figura 8. Ciclo biológico dos nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (ALVES, 1998).

Ao contrário do que ocorre em *Steinernema*, os JIs de *Heterorhabditis* não precisam utilizar orifícios naturais do inseto para penetração, pois possuem um dente córneo que lhes permite perfurar a cutícula do inseto. Geralmente essas perfurações são feitas nas regiões mais finas e flexíveis, como entre os segmentos apendiculares (FORST et al. 2002). Apesar desta diferença, o ciclo de *Heterorhabditis* é bem semelhante ao do *Steinernema*. As diferenças são que os adultos de primeira geração do gênero *Heterorhabditis* são hermafroditas com morfologia de fêmeas (DOLINSKI & MOINO, 2006). Essas “fêmeas hermafroditas” produzem primeiramente espermatozoides que ficam armazenados na espermateca à espera dos ovócitos que serão produzidos. Se um único JI de *Heterorhabditis* infectar um inseto, terá sucesso,

pois não há necessidade de cópula entre adultos de primeira geração para a produção de ovos fertilizados (MILSTEAD, 1979).

O aparecimento de machos e fêmeas acontece a partir da segunda geração, e nela a reprodução ocorre por fertilização cruzada. Os nematoides do 3º estágio retêm sempre um inóculo de bactéria em seu intestino, que liberados para o meio externo, onde permanecem até nova infecção (NGUYEN; BEDDING; MILLER, 1981).

2.4.5.1. *Steinernema rarum*

O *Steinernema 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 JIs/inseto. *S. rarum* se destacou por causar mortalidades acima de 90% para a maioria dos insetos testados, consideradas de importância agrícola: *Eriopsis connexa*, *Hippodamia convergens*, *Naupactus cinereidorsum*, *Epicauta adspersa*, *Tenebrio molitor* e *Chrysodina* sp. *S. rarum* se destacou também por desenvolver-se com sucesso em insetos adultos e imaturos, enquanto as outras duas espécies de nematoides desenvolveram somente em insetos imaturos.

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.

O *Steinernema rarum* tem um melhor desempenho e capacidade na busca do *Sphenophorus levis* dentro do rizoma comparado ao *Steinernema carpocapse* e *Heterorbditis bacteriophora*, se tornando a espécie alvo de pesquisas com a finalidade de estudar a aplicação para o controle do inseto. A espécie possui vantagem também a aplicação, pois o *S. rarum* só é afetado pela vinhaça se mantido suspenso na solução por mais de 6 horas, mas não afeta o nematoide se mantido na palha tratada com vinhaça (SILVA, 2020).

De acordo com Silva (2020) a dose indicada para o controle de *S. levis* e escarabeídeos em campo de cana-de-açúcar, é de 1×10^8 mL.

3. Objetivos

Avaliar a eficiência do nematoide entomopatogênico *Steinernema rarum* contra larvas e pupas de bicudo-da-cana (*Sphenophorus levis*) em condição de campo.

4. Material e métodos

4.1. Nematoides entomopatogênicos *Steinernema rarum*

Os NEPs foram desenvolvidos na Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, no Centro Avançado de Pesquisa e Desenvolvimento em Sanidade Agropecuária-CAPSA, localizado em Campinas-SP.

A produção de NEPs inicialmente foi realizada em fermentação líquida de acordo com o protocolo do Leite et al., 2016. Depois foram transferidos à fermentação sólida (esponja fenólica) durante 21 dias ou até sua aplicação. O armazenamento foi feito em sacos plásticos com 500 mL de conteúdo NEP (Figura 9) a 20°C.

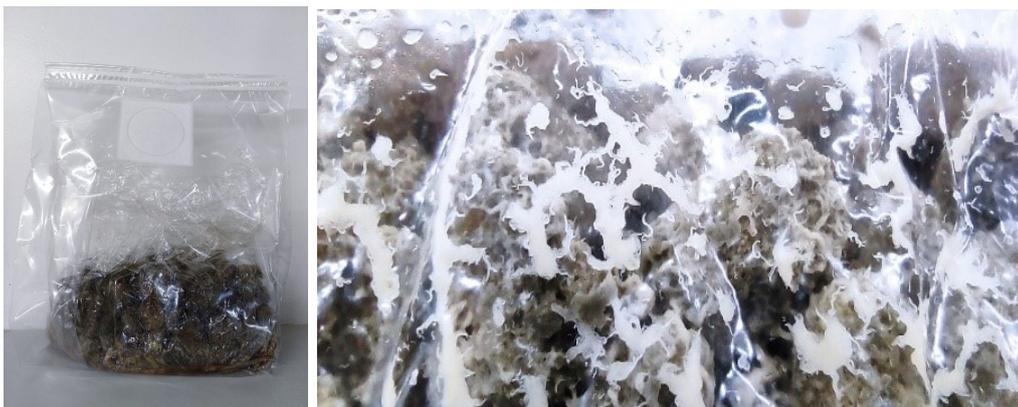


Figura 9. Embalagem utilizada para multiplicação dos NEPs. (Fotos de Julie Chacón-Orozco)

4.2. Localização da área experimental

O experimento de campo foi implementado em agosto de 2022 na Usina Abengoa, localizada no município de São João da Boa Vista-SP.

O experimento foi georreferenciado por GPS marca: Garmin etrex 20.

Tabela 3. Coordenadas geográficas da área de implantação do experimento (C = controle. T = Tratamento)

| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 |
|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Latitude | 21°53'52.36"S | 21°53'52.72"S | 21°53'53.09"S | 21°53'53.43"S | 21°53'53.77"S |
| Longitude | 46°56'52.91"O | 46°56'52.94"O | 46°56'53.01"O | 46°56'53.07"O | 46°56'53.12"O |
| | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 |
| Latitude | 21°53'51.61"S | 21°53'52.01"S | 21°53'52.46"S | 21°53'53.00"S | 21°53'53.52"S |
| Longitude | 46°56'54.50"O | 46°56'54.56"O | 46°56'54.59"O | 46°56'54.66"O | 46°56'54.77"O |

Caracterizado como campo de produção de cana-de-açúcar. A área foi escolhida por apresentar alta incidência do inseto-alvo, o bicudo-da-cana, sendo possível observar os sintomas do ataque na figura 11. As parcelas de implantação foram definidas de acordo com o exposto na figura 10.



Figura 10. Imagem aérea da disposição geográfica de implantação do experimento. (Figura de Fernando Berton Baldo)



Figura 11. Imagem do entorno da área do experimento

4.3. Preparo do nematoide enteropatogênico *Steinernema rarum* para aplicação

Para o preparo do NEP (Figura 12) foi utilizado um balde com capacidade de 20L. Com o balde no chão, uma peneira de fubá (abertura 1,41 mm) foi colocada por cima. Na peneira abriu-se um saquinho de NEPs (500mL). Com uma mangueira a água foi despejada sobre o NEPs e com a mão foi distribuída, esfregou-se o conteúdo na peneira, até completar com o caldo a capacidade de 20L do balde. Após o procedimento, o caldo foi colocado em um regador de 10 L.



Figura 12. Ilustração do processo de extração dos NEPs para aplicação.

4.4. Aplicação

A palhada da base da planta foi retirada com um rastelo. Com um regador, foram aplicados 10 L de calda a cada 10 metros, diretamente no solo à base da planta. Depois da aplicação, com o rastelo a palhada foi distribuída na base da planta, cobrindo o solo.

Foram estabelecidos 2 tratamentos: o tratamento com aplicação de NEPs (concentração de 2×10^9 mL) e o tratamento controle.

Para cada tratamento, foram delimitadas 3 linhas de 50 metros, demarcadas a cada 10 metros com uma estaca de bambu. O controle foi estabelecido à uma distância de 10 linhas (Figura 10).

4.5. Avaliação

Foram feitas três avaliações, a primeira 15 dias após aplicação, a segunda 30 dias após aplicação e a terceira 78 dias após a aplicação. Para as três avaliações, foram retiradas 20 touceiras (da linha do meio), escolhidas de forma aleatória (Figura 13). Para cada touceira foi feita a contagem de perfilhos. Com um facão partes do rizoma eram retirados, à procura de indivíduos do bicudos-da-cana no interior dos colmos (Figura 14). As variáveis avaliadas foram, o número de perfilhos e quantidade de insetos vivos e mortos dentro do rizoma. Tal procedimento foi realizado no controle também.

Durante a avaliação, alguns insetos mortos eram coletados para levar para análise no laboratório, visando a confirmação do ataque pelo NEP.



Figura 13. Aspecto da raiz após a retirada da touceira da cana-de-açúcar



Figura 14. Processo de avaliação do experimento em campo através da retirada da planta e fatiamento do colmo.

4.6. Análise no laboratório

Os insetos mortos coletados no experimento de campo foram levados até a Unidade Laboratorial de Referência em Controle Biológico, no CAPSA, para ser feita a confirmação de que a morte foi decorrente da ação do *Steinernema rarum*.

A confirmação foi feita de duas maneiras. Observando a mudança de cor das pupas e larvas, que com a ação da bactéria simbiote *Xenorhabdus szentirmaii* associada a *S. rarum*, desenvolve coloração avermelhadas no inseto hospedeiro, indicando a infecção pelo NEP.

Outra forma de verificação é através da emergência de NEPs presentes nos insetos coletados, observados em estereoscópio e montados em Armadilha White (1927), a qual permite a migração de Juvenis Infectivos de dentro do inseto para a suspensão de água.

5. Resultados

Entre os tratamentos com nematoides entomopatogênicos e tratamento controle, foram aplicados um total de 300 m nas linhas do canavial com um total de 80 touceiras de *Saccharum officinarum* avaliadas.

Na primeira avaliação (15 dias após a aplicação), foram amostrados 408 perfilhos da planta. Destes, foram recuperados o total de 93 insetos, entre eles larvas e pupas do bicudo-da-cana. Dos 21 insetos recuperados no tratamento com NEPs, foram encontrados cinco indivíduos mortos pelo NEP (23,8%). Dentre os 72 insetos amostrados no tratamento controle, não foi verificado nenhum inseto morto ou que apresentasse sintomas de infecção (Tabela 4).

Durante a segunda avaliação (30 dias após a aplicação), foram amostrados 367 perfilhos da planta. No total de insetos amostrados do tratamento com NEPs e tratamento controle, se contabilizaram 125 indivíduos distribuídos entre larvas e pupas de *S. levis*. Dos 51 insetos coletados no tratamento com NEPs, foram verificados 31 indivíduos mortos por infecção causada *S. rarum* (60,7%). Como verificado na primeira avaliação, no tratamento controle não foi observada mortalidade do inseto ou qualquer indivíduo que apresentasse sintomas de infecção pelo nematoide (Tabela 4).

Na terceira avaliação (78 dias após a aplicação), foram amostrados 337 perfilhos da planta. No total de insetos amostrados se contabilizaram 63 indivíduos entre larvas e pupas do bicudo-da-cana. Dos 32 insetos recuperados no tratamento com NEPs, foram contabilizados 20 mortos decorrente da ação do NEP (62,5 %).

Apesar de apenas três avaliações é possível perceber claramente a ação dos NEPs contra larvas e pupas de *S. levis*, apresentando elevação de 36,9% de controle entre 15 e 30 dias após a aplicação de *Steinernema rarum* (Tabela 4). Entre 30 e 78 dias, houve um aumento de apenas 1,8 %, demonstrando uma estabilização de mortalidade acima de 60%.

O potencial de ação dos NEPS pode ser destacado pela capacidade de busca ativa do inseto hospedeiro no interior da planta, o que destaca a vantagem desse agente de controle quando comparado a alternativas que não apresentem tal característica, e ressalta a eficiência de controle da praga mesmo quando protegida pelo colmo.

Tabela 4. Resultados das avaliações , com 15 30 e 78 dias após a aplicação de NEPs no campo. (NP = Número de perfilhos, NTI = Número total de insetos, %M = porcentagem de insetos mortos).

| tratamento | Datas das avaliações | | | | | | | | |
|------------|----------------------|-----|-------|--------------|-----|-------|--------------|-----|-------|
| | 1ª (15 dias) | | | 2ª (30 dias) | | | 3ª (78 dias) | | |
| | NP | NTI | % M | NP | NTI | % M | NP | NTI | % M |
| controle | 222 | 72 | 0 | 182 | 74 | 0 | 155 | 31 | 10,3 |
| Neps | 186 | 21 | 23,81 | 185 | 51 | 60,78 | 182 | 32 | 62,50 |

5.1. Confirmação de virulência

Após análises realizadas no laboratório, foi confirmado a presença dos juvenis infectivos (JIs) de *Steinernema rarum* nos insetos, confirmando que as mortes foram consequentes da ação dos nematoides (Figura 15).



Figura 15. Insetos levados ao laboratório para verificação da presença dos NEPs. (Fotos de Julie Chacón-Orozco)

6. Discussão

Segundo Casteliani (2019), em um estudo feito em uma área de cana-de-açúcar da Usina Abengoa, foi avaliada a ocorrência natural de NEPs na população de *S. levis* em campo comercial de cana de açúcar, porém restrito aos indivíduos encontrados dentro dos rizomas das touceiras de cana. As touceiras avaliadas apresentaram 66,1% e 68,3% de danos para os respectivos rizomas novos (das plantas coletadas no campo) e velhos (das plantas da safra anterior) encontrados em cada touceira. Dos insetos encontrados nos rizomas novos, 21% das larvas, 40% das pupas e 20% dos adultos estavam infectados por nematoides entomopatogênicos *Steinernema carpocapsae*, enquanto nos rizomas velhos esses índices foram de 18% para larvas, aumentando para 60% e 40% para pupas e adultos.

Confirmando que os nematoides entomopatogênicos podem penetrar nos orifícios deixados pelo bicudo nos rizomas da cana, e alcançar as fases imaturas e adultos recém emergidos dentro dos rizomas, apresentando-se como importantes inimigos naturais dessas fases do inseto.

Como demonstrado por Silva (2021) onde foi aplicado o *S. rarum* na cana-de-açúcar com infestação de *S. levis*, 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, mesmo assim apresentou melhor desempenho que *S. carpocapsae* encontrado causando infecção natural na população do bicudo dentro do rizoma da cana.

Indicando 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.

7. Conclusões

- *Steinernema rarum* é eficiente no controle do *Sphenophorus levis* na cana-de-açúcar;
- A aplicação dos NEPs em campo com alta taxa de população do inseto alvo, reduziu a infestação de bicudo-da-cana.
- É necessário o desenvolvimento de novos estudos visando a concentração e dosagem adequada de *Steinernema rarum* em condições de campo.

8. Referências

AGRISHOW. **Quais as novas opções de derivados da cana-de-açúcar?**. Disponível em: <https://digital.agrishow.com.br/cana/quais-novas-opcoes-de-derivados-da-cana-de-acucar>. Acesso em: 01 out. 2022.

AGROLINK. **Mercado de biológicos deve disparar 74% em 4 anos**. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/mercado-de-biologicos-deve-disparar-74--em-4-anos_461025.html?utm_source=agrolink-clipping&utm_medium=email&utm_campaign=clipping_edicao_7082&utm_content=noticia&ib=y. Acesso em: 10 out. 2022

ALMEIDA, L. C. **Bicudo da cana-de-açúcar: boletim técnico C.T.C**. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005.

ALVES, Sergio Batista. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.

AMARAL, A. L. do, et al. **Denominação de Cultivares de Cana-de-Açúcar como Suporte à Documentação e Utilização do Germoplasma Conservado**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015.

BALLONE, P. **Seleção de nematoides entomopatogênicos para o controle de larvas de “fungus gnat”, *Bradysia mabiusi*, e efeito da interação entre *Steinernema feltiae* e *Bacillus thuringiensis* na mortalidade do inseto**. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico. São Paulo, p. 50. 2014.

BARRETO-TRIANA, N. C. **Comportamento sexual e reprodutivo de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em Cana-de-açúcar**. 2009. 95f. Tese (Doutorado em Ciências/Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

BEAUCLAIR, E. G. F. de; **Conceitos Gerais em Cana-de-Açúcar-I**. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1963847/mod_resource/content/1/bot%C3%A2nica%20e%20fenologia%202016.pdf. Acesso em: 23 set. 2022.

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

CASTELIANI, A. **Aspectos comportamentais de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar e ocorrência natural de nematoides entomopatogênicos na população do inseto**. Dissertação (Mestrado em

Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico. São Paulo, p. 50. 2019.

CONAB. **Safra Brasileira de Cana-de-Açúcar**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>. Acesso em: 25 set. 2022.

CORTEZ, LUÍS et al; Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. **Revista Brasileira de Energia**, Itajubá, vol. 2, nº 2, Fev, 1992.

COX, M.; HOGARTH, M.; SMITH, G. **Cane breeding and improvement**. In: HOGARTH, M.; Allsopp, P. (Ed.). In: Manual of cane growing. Indooroopilly, Australia: Bureau of Sugar Experimental Stations, 2000. p. 91-108.

CRUZ, C. H. de B. et al; **Universidades e empresas: 40 anos de ciência e tecnologia para o etanol brasileiro**. São Paulo: Blucher, 2016. 224 p.

CTC. **Pragas e doenças da cana-de-açúcar**. Caderneta do Centro de Tecnologia Canavieira. 2018. 85 p.

D’ALESSANDRO, C. P.; **Fungos Entomopatogênicos para o Controle de Pragas Agrícolas**. Disponível em: <https://entendendobiodefensivos.com.br/fungos-entomopatogenicos-para-o-controle-de-pragas-agricolas/#:~:text=Uso%20de%20fungos%20entomopatog%C3%AAnicos&text=As%20esp%C3%A9cies%20Metarhizium%20anisopliae%2C%20Beauveria,%20controle%20de%20pragas%20agr%C3%ADcolas..> Acesso em: 10 out. 2022.

DANIELS, J., ROACH, B.T. **Taxonomy and evolution**. In: DJ Heinz (Ed.) Sugarcane improvement through breeding. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 1987. p. 7-84. v. 11.

DE DOUCET, M. M. A.; BERTOLOTI, 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.

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

DINARDO-MIRANDA, L. Cana. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Pelotas, n.80, 2005.10p. Caderno técnico cultivar.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. Effect of insecticides applied at sugarcane planting on *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Cuculionidae) control

and on the yield of first two harvests. **Proceedings Internacional Society of Sugar Cane Technology**, Boston, v. 27, p. 1-5, 2010.

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

DINARDO-MIRANDA, L. L. Ocorrência de *Sphenophorus levis* em 2000. **Stab – Açúcar, Álcool e Subprodutos**. v.19, n.1, p.26, 2000.

DOLINSKI, C. & MOINO, A. **Utilização de nematóides entomopatogênicos nativos e exóticos: o perigo das introduções**. Lavras: Minas Gerais, 2006.

EMBRAPA. **Cana-Characterísticas**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pre-producao/caracteristicas>. Acesso em; 23 set. 2022.

EMBRAPA. **Cana-Fenologia**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/pre-producao/caracteristicas/phenologia#:~:text=O%20processo%20de%20perfilhamento%20%C3%A9,de%20colmos%20que%20ser%C3%A1%20colhida..> Acesso em: 23 set. 2022.

EMBRAPA. **Controle Biológico**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-controle-biologico/sobre-o-tema>. Acesso em: 26 set. 2022.

EMBRAPA. **II Técnicas para obtenção, conservação e seleção de nematoides entomopatogênicos**. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do119_4.htm. Acesso em: 23 set. 2022.

FARMERS PORTAL. **Sugarcane**. Disponível em: <https://farmer.gov.in/cropstaticssugarcane.aspx#:~:text=Sugar%20cane%20originated%20in%20New,sugar%20cane%20we%20know%20today..> Acesso em: 05 dez. 2022.

FERRON, P. Biological control of insects pests by entomogenous fungi. **Annual Review of Entomology**, v. 23, p. 409-442, 1978.

FORST, S.; DOWDS, B.; BOEMARE, N.; STACKEBRANDT, E. *Xenorhabdus* and *Photoharbdu*s spp.: bugs that kill bugs. **Annual Review of Microbiology**, v. 51, p. 47 – 72, 2002.

G1 GLOBO. **Final de safra da cana-de-açúcar é marcado por queda de produtividade**. Disponível em: <https://g1.globo.com/sp/sorocaba-jundiai/nosso-campo/noticia/2021/11/14/final-de-safra-da-cana-de-acucar-e-marcado-por-queda-de-produtividade.ghtml>. Acesso em: 24 set. 2022.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO S.; CARVALHO, S. R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI- FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo: Ed. Agrícola Ceres Ltda. 1978. 649 p.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M. **Cana-de-açúcar: Desafios fitossanitários e Manejo sustentável**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda, CRIAR/ Boletim Técnico, n. 4, p. 65-76, 2016.

GARCIA, J. F. **Manual de identificação de pragas da cana**. Campinas: FMC, 2013, 219 p.

GASCHO, G. J.; SHIH, S. F. **Sugarcane**. In: TEARE, I. D.; PEET, M. M. (Ed.). *Crop-water relations*. New York: Wiley-Interscience, 1983. p. 445-479.

GEORGIS, R.; KOPPENHOFER, A.M.; LACEY, L.A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L.W.; GREWAL, P.S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; VAN TOL, R.W.H.M. **Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control**. *Biological Control*, v.38, p.103-123, 2006.

GIOMETTI, F. H. C.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; SCHMIT, F. S.; BATISTA FILHO, A.; DELLAACQUA, R. **Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Spenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae)**, v. 70, n.1, p. 81-86, 2011.

GLOBO RURAL. **Mercado de biológicos vai quase triplicar no Brasil em 2030 e atingir R\$ 3,7 bilhões**. Disponível em: <https://globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2021/04/mercado-de-biologicos-vai-quase-triplicar-no-brasil-em-2030-e-atingir-r-37-bilhoes.html>. Acesso em: 10 out. 2022

GREWAL, P.S.; DE NARDO, E.A.B.; AGUILLERA, M.M. Entomopathogenic nematodes: potencial for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, v.30, p.191-205, 2001.

HABIB, M. E. M.; ANDRADE, C. F. S. **Bactérias entomopatogênicas**. In: ALVES, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 383-446.

HAJEK, A. E, LEGER, R. J. St. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology**, v. 39, p. 293-322, 1994.

IBGE. **Produção de Cana-de-Açúcar**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cana-de-acucar/br>. Acesso em: 25 set. 2022.

IBGE. **Séries históricas**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=series-historicas>. Acesso em: 24 set. 2022.

IFOPE. **Controle Biológico: o que é, para que serve, benefícios e quais os tipos de controle**. Disponível em: <https://blog.ifope.com.br/controle-biologico-na-agricultura/>. Acesso em: 10 out. 2022.

KHAN, S. et al. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. **Molecular Plant Breeding**, v. 3, n. 1, 2012.

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

LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of invertebrate pathology**, v. 132, p. 1-41, 2015.

LAWRENCE, J.F.; BRITTON, Y E.B. **Coleoptera (Beetles)**. In: CSIRO DIVISION OF ENTOMOLOGY (ed.). The insects of Australia. A textbook for students and research workers. Carlton: Melbourne University, 2 ed., v. 2, 1991. p. 543-683.

LEITE, L. G., et al; **Alternativa de controle: bicudo da cana-de-açúcar**. São Paulo; Instituto Biológico, 2006. (Instituto Biológico, Comunicado Técnico, 39).

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

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

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.

MACEDO, I. de C.; & CORTEZ L. A. B. **O processamento industrial da cana-de-açúcar no Brasil**. In: **Uso da biomassa para produção de energia na indústria brasileira**. Organizadores: Frank Rosillo-Calle, Serio V. Bajay e Harry Rothman. Tradução por José Dilcio Rocha e Maria Paula G. D. Rocha. Campinas, SP: Editora da UNICAMP. Cap. 6, p. 247-268. 2005.

MACHADO, Fúlvio de Barros Pinheiro. **Brasil, a doce terra - História do Setor**. Embrapa, 2003

MEDEIROS, M. A. de, et al; . **Princípios e práticas ecológicas para o manejo de insetos-praga na agricultura**. Brasília: Emater-DF, 2010.

MILSTEAD, J.E. ***Heterorhabditis bacteriophora* as a vector for introducing its associated bacterium into the hemocoel of *Galleria mellonella* larvae**. **J. Inv. Pathol**, v. 33, p. 324-327, 1979.

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

NGUYEN, K. B. **Entomology & Nematology Department University of Florida**. 1992. Disponível em: < <http://entnem.ifas.ufl.edu/nguyen/morph/kbnstein.htm>> Acesso em: 05 out. 2022.

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.

OLIVEIRA, L. M. et al; Estudo comparativo das diferentes tecnologias utilizadas para produção de etanol. **Revista Eletrônica do Curso de Geografia-Campus Jataí-UFG**, Jataí-GO, n. 19, Jul-Dez, 2012.

PAVLU, F. A. **Plano de amostragem e distribuição espacial visando o controle localizado de *Sphenophorus levis* na cultura da cana-de-açúcar**. 2012. 79f. Dissertação (Mestrado Ciências/ Máquinas Agrícolas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2012.

PICANÇO, M. C.; **Manejo Integrado de Pragas**. Universidade Federal de Viçosa: Departamento de Biologia Animal. Viçosa, MG – 2010.

PINTO, A. de S.; GARCIA, J. F.; OLIVEIRA, H. N. de. **Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar**. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. de. (Orgs.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, P.257-280, 2006.

POINAR JR., G. O. **Biology and Taxonomy of *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae***. Biological Control. Boca Raton, CRC Press, v. 365, p. 23-61. 1990.

POLLETI, Marcelo. **Entendendo os Bioprodutos (Parte 02)**. PROMIP, 2020. Disponível em: <https://promip.agr.br/entendendo-os-bioprodutos-parte-02/>. Acesso em: 22 de out. de 2022.

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.

PRECETTI, A. A. C. M.; ARRIGONI, E. B. **Aspectos biológicos e controle do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar**. São Paulo: Boletim Técnico Copersuca, 1990. 15p. Edição Especial.

PRECETTI, A. A. C. M.; TERAN, F. O. **Gorgulhos da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978, e *Metamasius hemipterus* (L. 1765) (Col., Curculionidae)**. In: REUNIÃO TÉCNICA AGRONÔMICA: PRAGAS DA CANA-DE-AÇÚCAR, 1., 1983, Piracicaba, Anais... Piracicaba: Copresuca, 1983. p. 32 – 37.

RODRIGUES, G. S. de S. C.; ROSS, J. L. S.; **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Uberlândia, MG: UFU, 2020.

SALVADOR, M.; **Aprendendo a Morfologia da Cana-de-Açúcar**. Disponível em: <https://portal.agriconline.com.br/artigo/aprendendo-a-morfologia-da-cana-de-acucar/#raizes>. Acesso em: 23 set. 2022.

SIKOROWSKI, P. P.; LAWRENCE, A. M. **Major diseases of Heliothis virescens and Helicoverpa zea in Mississippi fields and insectaries**. Mississippi: MAFES, 1997. 58 p. (MAFES. Technical Bulletin, 218).

SILVA, C. .A. D. da; **Microorganismos Entomopatogênicos Associados a Insetos e Ácaros do Algodoeiro**. EMBRAPA ALGODÃO: Campina Grande, PB, 2000.

Silva, M.S.O.; Cardoso, J.F.M.; Ferreira, M.E.P.; Baldo, F.B.; Silva, R.S.A.; Chacon-Orozco, J.G.; Shapiro-Ilan, D.I.; Hazir, S.; Bueno, C.J.; Leite, L.G. **An Assessment of *Steinernema rarum* as a Biocontrol Agent in Sugarcane with Focus on *Sphenophorus levis*, Host-Finding Ability, Compatibility with Vinasse and Field Efficacy**. Agriculture 2021, 11, 500.

SMITH, P. H. & EHLERS, R.U. **Identification of *Heterorhabditis* spp. by morphometric characters and RFLP and or their symbiotic bacteria *Xenorhabdus* spp. by species specific DNA probes**. Bull SROP/WPRS, v.14, p. 195-201, 1991.

SPRINGER, T.L. Fungus gnat (Diptera: Sciaridae) feeding damage to legume seedlings. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 68, n. 2, p. 240-242, 1995.

STINGEL, E.; ALMEIDA, L. C.; ARRIGONI, E. B.; BONANI, J.P. **Distribuição Geográfica de *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar, evolução dos registros de ocorrência e estimativa de área infestada, por município, em 2009**. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 23., 2010. Natal. Anais... Sociedade Entomológica do Brasil, 2012, p. 1.

TANADA, Y.; KAYA, H. K. **Insect pathology**. New York, Academic Press, 1993.

THOMAS, A. L; **Desenvolvimento da planta de cana-de-açúcar**. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/147567/001000628.pdf?sequence=1> . Acesso em: 23 set. 2022.

UCLA Biomedical Library. **Sugar**. Disponível em: <https://unitproj.library.ucla.edu/biomed/spice/index.cfm?displayID=23>. Acesso em: 05 dez. 2022.

UDOP. **A História da Cana-de-açúcar – Da Antiguidade aos Dias Atuais**. Disponível em: <https://www.udop.com.br/noticia/2003/01/01/a-historia-da-cana-de-acucar-da-antiguidade-aos-dias-atuais.html>. Acesso em: 21 set. 2022.

ZARBIN, P. H. G.; ARRIGONI, E. D. B.; RECKZIEGEL, A.; MOREIRA, J.; BARALDI, P.T.; VIEIRA, P. C. Identification of male-specific chiral compound from the

sugarcane weevil *Sphenophorus levis*. **Journal of chemical Ecology**, New York, v. 29, n. 2, p. 377- 386, 2003.