

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA:
STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE
Diatraea saccharalis Fabr. E DE FITONEMATÓIDES EM CANA-DE-AÇÚCAR**

LUIZ LUCIANO BELLINI

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

ABRIL - 2011

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA:
STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE
Diatraea saccharalis Fabr. E DE FITONEMATÓIDES EM CANA-DE-AÇÚCAR**

LUIZ LUCIANO BELLINI

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientadora: Prof^ª. Cláudia de Melo Dolinski
Co-orientador: Prof. Ricardo Moreira de Souza

CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ

ABRIL - 2011

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA:
STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE
Diatraea saccharalis Fabr. E DE FITONEMATÓIDES EM CANA-DE-AÇÚCAR**

LUIZ LUCIANO BELLINI

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.”

Aprovada em 12 de abril de 2011.

Comissão Examinadora:

Dr. Mauri Lima Filho (D.Sc. em Produção Vegetal) – UFRRJ

Prof. Fábio Cunha Coelho (D.Sc. em Fitotecnia) – UENF

Prof. Ricardo Moreira de Souza (Ph.D. em Fitopatologia) – UENF (Co-orientador)

Prof^a. Cláudia de Melo Dolinski (Ph.D. em Fitopatologia) – UENF (Orientadora)

DEDICATÓRIA

Ao Deus Pai Todo Poderoso;

A Jéssica;

Aos meus pais, José Luiz e Maria Marlene;

Aos meus irmãos, Luiz Augusto e Luiz Eduardo,
e a Thereza Trazzi Bellini (*In memorian*)

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Deus Pai todo poderoso pela vitória, a Jesus soberano pelo amor dedicado a mim e ao Deus Espírito Santo pelo consolo nas horas de dificuldade;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, por permitir a realização de um sonho e por estes quatro anos de formação, aprendizado e crescimento intelectual, moral e social;

A FAPERJ e ao CNPq, pelo auxílio financeiro concedido durante o curso;

À minha orientadora, prof^a. Cláudia de Melo Dolinski, por me privilegiar com sua orientação, pela confiança em mim depositada, por seu incentivo, presença e auxílio nos momentos difíceis deste trabalho e pela constante troca de experiências e aprendizado durante estes quatro anos;

Ao prof. Ricardo Moreira de Souza pela co-orientação e auxílio em todas as etapas do experimento, pelos recursos humanos e laboratoriais a mim disponibilizados, pela paciência que teve para comigo e pela segurança que transmitiu nos momentos de dúvida e dificuldade nesta caminhada;

Ao Dr. Mauri Lima Filho pelos conselhos, amizade e parceria com a UFRRJ, Campos Doutor Leonel Miranda, pelo seu intermédio e fornecimento de material de suma importância aos experimentos;

Aos técnicos, Vicente (Clínica Fitossanitária da UENF), Alexandre e Jader, “Chiquinho”, “Mamão” e Sr. Gilberto, por todo o apoio, auxílio e orientações

prestadas durante as diferentes etapas desta tese, e pelo privilégio de conviver com eles;

Aos muitos amigos do laboratório de nematologia, Renata, Liliana, Inês, Thiago, Vicente (“Fí”), Guilherme e Lívia;

Aos irmãos de república, Roberto (“Beto”), Omar (“Pavorô”), Ramon (“Desavença”), Rafael (“02”), Cezar e André (“primo”), pela amizade, gargalhadas, discussões, conselhos e incentivos, que tanto me ajudaram na minha estada em Campos dos Goytacazes;

A José Luiz, Maria Marlene (meus pais), Luiz Eduardo, Luiz Augusto (meus irmãos), Anna (minha cunhada), Luiz Filipe (meu sobrinho), Jéssica (minha esposa) e padrinhos Danilo e Alzira pelo carinho, amor, afeto, alegrias, compreensão e conselhos a mim proporcionados;

Aos gerentes e funcionários das Usinas Sapucaia (Campos dos Goytacazes, RJ) e Açucareira Virgulino de Oliveira (Monções, SP), pelas áreas experimentais, por todo o apoio técnico e amizade, que foram fundamentais aos experimentos de campos.

MUITO OBRIGADO.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. A cana-de-açúcar no Brasil	4
2.2. A broca da cana-de-açúcar	5
2.2.1. Características	5
2.2.2. Ciclo da praga	5
2.2.3. Prejuízos	5
2.3. Nematóides da cana importantes dos canaviais	7
2.3.1. Nematóides fitoparasitas (NFs)	7
2.3.2. Nematóides entomopatogênicos (NEPs)	8
2.3.3. Interação nematóides fitoparasitas e entomopatogênicos da cana-de-açúcar	11
3. TRABALHOS	12
APLICAÇÃO FOLIAR DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE <i>Diatraea saccharalis</i> EM MICROPARCELAS	12
RESUMO	13
ABSTRACT	14
INTRODUÇÃO	15
MATERIAL E MÉTODOS	17

RESULTADOS E DISCUSSÃO COM CONCLUSÕES	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
APLICAÇÃO FOLIAR DO NEMATÓIDE ENTOMOPATOGÊNICO HETERORHABDITIS BAUJARDI LPP7 PHAN (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE <i>Diatraea Saccharalis</i> EM CANA-DE-AÇÚCAR	27
RESUMO	27
ABSTRACT	28
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
APLICAÇÃO DO NEMATÓIDE ENTOMOPATOGÊNICO HETERORHABDITIS BAUJARDI LPP7 PHAN (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE FITONEMATÓIDES EM CANAVIAL	50
RESUMO	50
ABSTRACT	51
INTRODUÇÃO	52
MATERIAL E MÉTODOS	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
4. RESUMO E CONCLUSÕES	82
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

RESUMO

BELLINI, Luiz Luciano; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril 2011. Avaliação de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* Fabr. e de fitonematóides em cana-de-açúcar. Orientadora: Claudia de Melo Dolinski. Co-orientador: Ricardo Moreira de Souza. Conselheiro: Maurí Lima Filho.

A ocorrência de *Diatraea saccharalis*, broca-da-cana-de-açúcar (BCA) e de fitonematóides em um canal são fatores limitantes da produtividade e da qualidade desta cultura. Neste trabalho, testou-se uma nova alternativa de controle da BCA e dos principais fitonematóides da cana-de-açúcar, utilizando-se formulações aquosas de nematóides entomopatogênicos (NEPs) *Steinernema carpocapse* (Weiser) NCall e *Heterorhabditis baujardi* Phan, Subbotin, Nguyen e Moens, isolado LPP7 (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) via pulverização. Para tanto, foram realizados ensaios em casa de vegetação e em canais. Em casa de vegetação, testou-se a aplicação foliar das formulações aquosas com *S. carpocapse* NCall e *H. baujardi* LPP7, separadamente, para o controle da *D. saccharalis*, realizando-se dois ensaios com 60 touceiras de cana-de-açúcar plantadas em vasos, sendo uma em cada vaso e com cinco colmos por touceira. O delineamento foi em blocos ao acaso, com seis tratamentos e dez repetições. Cada NEPs (250.000 JIs) com os adjuvantes Joint* Oil® (20 mL) e Gotafix® (5 mL) (favorecem a viabilidade dos NEPs) e estes dois produtos aplicados também sem os nematóides. Cada colmo, infectado com seis larvas da BCA, com 12 dias de idade. Decorridas 48 horas da infestação dos colmos, foram

aplicados os tratamentos e após uma semana da aplicação destes, o experimento foi avaliado. Neste conclui-se que os NEPs controlaram as larvas de broca-da-cana, porém, não houve diferença significativa entre eles e nem entre os adjuvantes (ANOVA e Tukey a 5%). Assim, posteriormente foram realizados dois ensaios em canavial, infestado pela broca-da-cana, onde se aplicou *H. baujardi* LPP7 (nativo do Brasil) com o Joint* Oil® (adjuvante menos tóxico do que o Gotafix®). Este experimento de campo teve como objetivo testar o potencial do *H. baujardi* no controle da *D. saccharalis*. Para tanto, em canavial foram montados dez blocos ao acaso, com dois tratamentos por bloco. Estes foram aplicação e não aplicação de formulação aquosa com NEPs (250.000 JIs) via pulverização foliar, adicionando 20 mL de Joint* Oil® por tratamento. Após o experimento montado, realizaram-se os tratamentos e decorrida uma semana, a avaliação dos colmos e a análise estatística dos resultados (ANOVA e teste F a 10%). Neste experimento concluiu-se que o tratamento a formulação aquosa de *H. baujardi* LPP7 e Joint* Oil®, aplicada via pulverização foliar controlou a broca-da-cana em canavial. Em outro trabalho também com *H. baujardi* LPP7, foi avaliado o potencial deste NEP, para o controle dos principais fitonematóides da cana-de-açúcar. Para isso, em canavial, foram montados dez blocos ao acaso e amostrados solo e raízes, para se levantar a infestação de NFs presente na área. Realizado a contagem deste pré-levantamento dos NFs, aplicaram-se os tratamentos (pulverização e não de formulação aquosa com *H. baujardi* LPP7) na área experimental por bloco. Estas pulverizações foram realizadas na superfície do solo, na dosagem de 375.000 juvenis infectantes (JIs) por bloco. Após uma semana da aplicação dos NEPs, realizou-se uma nova amostragem e contagem dos NFs. Este experimento teve duração de dois anos, passado pelos estágios do canavial de cana planta e cana soca, com três aplicações de NEPs por estágio. No final deste experimento constatou-se que *H. baujardi* LPP7, aplicado em canavial, causou diminuição da população dos principais fitonematóides da cana-de-açúcar (ANOVA e Tukey a 5% de probabilidade). E por fim dos trabalhos, pode-se constatar o potencial do uso da formulação aquosa de *H. baujardi* et al. LPP7, como alternativa de controle da *D. saccharalis* (pulverização foliar) e dos principais NFs da cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Controle biológico, broca-da-cana, NEPs, NFs, *Saccharum officinarum*.

ABSTRACT

BELLINI, Luiz Luciano; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. April, 2011; Assessment of the entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) for controlling *Diatraea saccharalis* Fabr. and of the plant parasitic nematodes in sugar-cane. Adviser: Claudia de Melo Dolinski. Co-adviser: Ricardo Moreira de Souza; Counselor: Maurí Lima Filho.

The occurrence of *Diatraea saccharalis* (sugarcane borer) and nematodes in a plantation are factors limiting the quality and productivity of this culture. In this study, we tested a new sugar-cane borer alternative control and the major nematodes of sugar-cane, using aqueous formulations of entomopathogenic nematodes (NEPs) *Steinernema carpocapse* (Weiser) and *Heterorhabditis baujard* NCall Phan, Subbotina, Nguyen and Moens, isolated LPP7 (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) via spray. For this purpose, tests were conducted in the greenhouse and in the plantations. In the greenhouse, we tested the foliar application of aqueous formulations with *S. carpocapse* NCall and *H. baujard* LPP7 separately for the control of *D. saccharalis* carrying out two experiments with 60 clumps of sugar-cane plantations in pots, one in each pot and five stalks per clump. In the greenhouse, we tested the foliar application of aqueous formulations with *S. carpocapse* NCall and *H. baujard* LPP7 separately for the control of *D. saccharalis* carrying out two experiments with 60 clumps of sugar-cane plantations in pots, one in each pot and five stalks per clump. The arrangement was in randomized blocks with six treatments per block. Each NEPs (250.000 IJs) with adjuvants Joint* Oil® (20 mL) and Gotafix® (5 mL) (favoring the

feasibility of NEPs) and these two products also applied without nematodes. In each stem 6 larvae were placed and 48 hours after that, the treatments were added and one week after their application, the experiment was evaluated. In this it is concluded that NEPs controlled the larvae of borer cane, however, no significant difference between them and between both adjuvants (ANOVA and Tukey 5%). Thus, we subsequently performed two trials in sugar-cane infested by the sugar-cane borer, where we applied *H. baujard* LPP7 (native of Brazil) to the Joint* Oil (less toxic adjuvant than Gotafix®). This field experiment aimed at testing the potential of *H. baujard* in the control of *D. saccharalis*. For that, at sugar-cane were mounted 10 blocks, with two treatments per block. These were applied and no application of aqueous formulation with NEPs (250.000 IJs) by foliar sprays, adding 20 mL of Joint* Oil® per treatment. After the experimental setup, performed the treatments and one week later the assessment of the stems and statistical analysis of the results (ANOVA and F 10%). In this experiment we concluded that treatment of the aqueous formulation *H. baujard* LPP7 and Joint* Oil, applied by foliar spraying controlled the sugar-cane borer in sugar-cane. In another work also with *H. baujard* LPP7 we evaluated the potential of this NEP, for control of the major nematodes of sugar-cane sugar. For that, in cane fields were set at random 10 blocks samples of soil and roots, to get this infestation NFs in the area. Held to count this prelifting of NFs, we applied treatments (sprayed and non-aqueous formulation with *H. baujard* LPP7) in the experimental area per block. These sprays were performed on the soil surface at a dose of 375.000 IJs / block. After one week of the implementation of NEPs were held to a new sampling and counting of NFs. This experiment lasted two years passed over the stages of the sugar-cane plant cane and ratoon cane, with 3 applications stage of NEPs. At the end of this experiment it was found that *H. baujard* LPP7 applied in sugar-cane, caused population decline major nematodes of cane sugar (ANOVA and Tukey at 5% probability). And finally the work, one can see the potential of use of aqueous formulation *H. baujard* et al. LPP7 as an alternative control of *D. saccharalis* (foliar spray) and most of NFs cane sugar.

Key-words: Biological control, the sugar-cane borer, NEPs, NFs, *Saccharum officinarum*.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da cana-de-açúcar foi dispersa pelos Estados brasileiros devido à grande importância que assumiu na década de 80 para a economia nacional através da utilização do álcool etílico como combustível (Koffler e Donzeli, 1987). O alto preço do petróleo e o aquecimento global abriram espaço para a exploração de fontes alternativas de energia e o etanol é a principal alternativa nos dias de hoje (Agra Fnp, 2007).

No Brasil, a área de cana-de-açúcar colhida destinada à atividade sucroalcooleira foi estimada em 8.033,6 mil hectares. Em relação à área total, o Estado de São Paulo (SP) representa 54,23% (4.357,01 mil hectares), seguido por Minas Gerais (MG) com 8,1% (649,94 mil hectares), Paraná (PR) com 7,25% (582,32 mil hectares), Goiás (GO) com 7,46% (599,31 mil hectares), Alagoas (AL) com 5,46% (438,57 mil hectares), Mato Grosso do Sul (MS) com 4,93% (396,16 mil hectares) e Pernambuco (PE) com 4,32% (346,82 mil hectares) (Conab, 2011).

A quantidade total de cana-de-açúcar moída pelas usinas foi de 624,99 milhões de toneladas. Desta quantidade, 336,2 milhões de toneladas (53,8% do total) foram destinadas à produção de 27,7 bilhões de litros de etanol e 288,7 milhões de toneladas (46,2% da quantidade produzida de cana) de açúcar (Conab, 2011).

Estimativas para o estado do Rio de Janeiro (RJ) para safra 2010/2011 são de 2.524,8 mil toneladas de cana-de-açúcar em uma área de 37,1 mil hectares. Estimam-se as produções de açúcar, etanol anidro e etanol hidratado em, respectivamente, 166,5 mil toneladas, 7.184,2 mil litros e 72.050,8 mil litros (Conab, 2011).

A alta produtividade canavieira pode ser afetada por pragas e dentre estas, a broca-da-cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae), merece maior atenção para as condições brasileiras, por sua ampla distribuição e pelos prejuízos que pode causar (Gallo et al., 1988). O controle químico é utilizado, mas é prejudicado devido ao hábito da lagarta de permanecer a maior parte de seu desenvolvimento no interior dos colmos (Pinto et al., 2006a). A vespa *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), é um parasitóide de lagartas da broca-da-cana-de-açúcar e se tornou o agente biológico mais importante no controle desta praga (Lima Filho & Gomes, 2003; Pinto et al. 2006b).

Outra importante ameaça à cultura da cana-de-açúcar são os fitonematóides. No Brasil, as espécies mais importantes são: *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood ambas Tylenchida: Meloidogynidae e *Pratylenchus zeae* Graham (Tylenchida: Pratylenchidae) (Lordello, 1981; Novaretti e Terán, 1983; Moura et al., 1990). Quando o nível populacional do fitonematóide é considerado alto, as perdas podem chegar a 50% da produtividade, em variedades suscetíveis (Dinardo-Miranda, 2006).

O fitonematóide introduz seu estilete através da parede celular das células da raiz para sugar o conteúdo citoplasmático. O grau dos danos depende da densidade populacional dos nematóides presentes, da suscetibilidade da cultura e das condições ambientais, tais como fertilidade, umidade e presença de outros organismos patogênicos que podem interagir com os fitonematóides (Tihohod, 2000).

No Brasil, as espécies de nematóides mais importantes são: *Meloidogyne javanica* (Tylenchide: Heteroderidae), *M. incognita* e *Pratylenchus zeae* (Tylenchide: Pratylenchidae). (Lordello, 1981; Novaretti e Terán, 1983; Moura, et al., 1990). De acordo com Dinardo-Miranda (2005), *P. brachyurus* é também muito comum em canaviais brasileiros, mas sua patogenicidade para a cultura ainda não está estabelecida. Recente levantamento realizado em canaviais na região de Campos dos Goytacazes, RJ, mostrou que *Rotylenchulus reniformis* é mais comum e, possivelmente, mais importante do que nematóides do gênero *Meloidogyne* (Freitas et al., 2006).

Os sintomas do ataque de nematóides são reboleiras de plantas menores e cloróticas, com deficiência nutricional, murchas nas horas mais quentes do dia e menos produtivas, entre outras de porte e coloração aparentemente normais. Esses sintomas na parte aérea são reflexos do ataque dos nematóides nas raízes, de onde esses parasitos extraem nutrientes e injetam toxinas, resultando em deformações, como as galhas provocadas pelos juvenis de *Meloidogyne*, e extensas áreas necrosadas, quando os nematóides presentes são *Pratylenchus*. Em consequência, as raízes se tornam pouco desenvolvidas, pobres em radículas, deficientes e impossibilitadas de desempenhar normalmente suas funções (Dinardo-Miranda, 2006).

M. javanica e *P. zae* causam cerca de 20 a 30% de redução de produtividade no primeiro corte de variedades suscetíveis. *M. incognita* pode ocasionar 40% de perdas. Todavia, os danos não se restringem à cana planta; os nematóides também reduzem as produtividades das soqueiras e, conseqüentemente, a longevidade do canavial (Dinardo-Miranda, 2006).

Os nematóides entomopatogênicos (NEPs) (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) vêm sendo utilizados com sucesso em muitos países para o controle de diversas pragas agrícolas, especialmente as de solo e ambiente crípticos (Leite et al., 2006). Recentemente, vêm-se estudando o seu potencial para também controlar fitonematóides (Acevedo, 2008). Portanto, vale ressaltar algumas características dos NEPs: a) sua produção em massa pode ser *in vitro* e/ou *in vivo* e o custo de formulação é tido como economicamente viável; b) possui comprovada eficiência no controle de pragas e especialmente de pragas de solo; c) possui persistência no ambiente; d) possui comportamento de busca pelo hospedeiro; e e) é atóxico ao homem e animais de sangue quente (Leite et al., 2006).

O objetivo geral no presente trabalho foi avaliar o controle da *Diatraea saccharalis* e dos fitonematóides da cana-de-açúcar, por meio de aplicação de nematóides entomopatogênicos (NEPs).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cana-de-açúcar no Brasil

A lavoura de cana-de-açúcar continua em expansão no Brasil. Os maiores índices de aumento de área são encontrados em SP, MS, GO e MG. Nestes Estados além do aumento da área cultivada, outras novas usinas entraram em funcionamento em 2010, três em MG, duas em SP, duas em GO e uma no MT, MS e RJ (Conab, 2010).

O setor sucroalcooleiro brasileiro fatura direta e indiretamente, cerca de R\$ 40 bilhões por ano, o que corresponde a aproximadamente 2,35% do PIB nacional. É também um dos setores que mais empregam no país, com mais de 3,6 milhões de empregos diretos e indiretos, e reúne mais de 72.000 agricultores (Dieese, 2007).

O otimismo dos produtores do setor sucroalcooleiro, no que diz respeito à comercialização dos seus produtos, continua. O mercado de açúcar está crescendo tanto no mercado interno como no mercado externo, já que um dos principais exportadores do mundo, a Índia, ainda não recuperou a sua produção. Deste modo, com as exportações aquecidas, os preços do produto encontram sustentação em uma demanda mundial latente e um mercado ofertado, principalmente, pelo produto brasileiro que cerca de 40% da sua produção é exportado. Já em relação ao etanol, o Brasil seguirá buscando novos mercados pelo mundo, dentro da filosofia de que é um combustível limpo e renovável. Porém, a produção brasileira de etanol, continua com grande foco no mercado doméstico. A frota brasileira de veículos “flex-fuel” conta com mais de 10 milhões de unidades em circulação, sendo que as vendas mensais destes veículos respondem por 90% do total comercializado.

2.2. A broca-da-cana-de-açúcar

2.2.1. Características

A broca-da-cana, também chamada broca-do-colmo, possui como provável origem a América Central ou do Sul (Gallo et al., 2002).

Os adultos deste inseto possuem as asas anteriores de colorido amarelo-palha, com desenhos pardos e as asas posteriores esbranquiçadas com 2,5 cm de envergadura. Os machos são menores que as fêmeas e possuem grande quantidade de cerdas (pêlos) no último par de pernas. As fêmeas apresentam abdômen mais volumoso e as asas são menos pigmentadas que as dos machos. A fêmea atrai o macho para cópula por meio do feromônio, e sua longevidade é de dois a nove dias (Segato et al., 2006).

D. saccharalis ocorre no canavial durante todo o desenvolvimento da cultura, mas apresenta menor incidência quando a planta é jovem e ainda não possui entre-nó formado. A cana planta é mais atacada pela *D. saccharalis* que a cana soca, pois esta possui maior vigor e a atuação dos inimigos naturais ainda é baixa. Além da cana, esta praga ataca também outras gramíneas, como o sorgo, o milho e o arroz (Pinto et al. 2006a).

2.2.2. Ciclo da praga

Após o acasalamento a fêmea faz a postura nas folhas da cana, de preferência na face dorsal. O número de ovos em cada postura é de cinco a 50, esta é alaranjada de forma imbricada, assemelhando-se a couro de cobra ou escama de peixe (Botelho et al., 1999; Gallo et al., 2002; Pinto et al., 2006b). No estágio de ovo, a umidade relativa (UR) inferior a 70% é prejudicial, pois estes são muito sensíveis e sofrem ressecamento (Pinto et al., 2006a). A eclosão se dá em quatro a nove dias dependendo da temperatura (Segato et al., 2006). Segundo Lastra et al. (2006), a temperatura ideal para postura é de 30 a 32º C e 75% de UR.

As lagartas recém-nascidas iniciam sua alimentação no parênquima das folhas, convergindo para a bainha. Depois da primeira muda, penetram pela parte

mais tenra do colmo (região do palmito) e, perfurando-o, abrem galerias de baixo para cima. Ao atingirem seu completo desenvolvimento, em média aos 40 dias, as lagartas medem cerca de 22 a 25 mm de comprimento, com coloração amarela pálida e cápsula cefálica marrom. Esta fase pode durar de 20 a 90 dias, dependendo da temperatura, passando por cinco ou seis mudas (Botelho, 1985; Pinto et al., 2006a). O último instar larval pode ser mais longo no inverno, quando as condições climáticas estão desfavoráveis e o número de horas de luz diminui, período este chamado diapausa. Quando vão passar para o estágio de pupa, constroem um orifício para o exterior e fecham-no com fios de seda e serragem. Ficam neste estágio por nove a 14 dias, quando emerge o adulto, que sai pelo orifício feito anteriormente. O ciclo evolutivo completo é de 53 a 60 dias e, portanto pode haver cerca de quatro gerações anuais, em casos excepcionais, até cinco. A primeira geração ocorre em outubro-novembro, após a emergência dos adultos, quando estes procuram as canas recém-germinadas. A segunda geração se verifica entre dezembro e fevereiro; a terceira entre fevereiro e abril, e em maio-junho tem-se a quarta geração, que se prolonga por cinco a seis meses (Gallo et al., 2002).

No Estado de São Paulo, geralmente, a cana-de-ano-e-meio (plantada no começo do ano) é mais atacada pela *D. saccharalis* no verão, e na cana-de-ano (plantada em setembro-outubro) o ataque é mais intenso no inverno. Nos outros Estados e em certas variedades, o ataque da broca é quase constante o ano todo, com um pequeno declínio no inverno (Pinto et al., 2006b).

2.2.3. Prejuízos

O prejuízo direto ocorre no colmo por meio de abertura de galerias, que causa perdas no peso da cana e provoca a morte das gemas, causando falhas na germinação. Estas galerias também podem ser transversais, seccionando o colmo, facilitando o tombamento da cana pelo vento. Quando a broca ataca plantas novas, ela causa a seca dos ponteiros, conhecido por “coração morto” (Gallo et al., 2002). Em usinas, a infestação de 10% pode causar um prejuízo líquido de R\$ 260,00/ha.

Indiretamente seus prejuízos são atribuídos a microrganismos que penetram os entrenós pelos orifícios abertos pela broca e causam a inversão da

sacarose armazenada na planta. Essa inversão também provoca perdas na produção, devido à dificuldade de cristalização do açúcar no processo industrial e à contaminação do caldo, causando má fermentação alcoólica. Estudos demonstraram que em uma plantação, cada 1% de intensidade de infestação da broca-da-cana acarretará perdas de 20 a 30 quilos de açúcar por hectare e de 0,20% na produção de álcool, dependendo da variedade de cana (Ereno, 2003). Os microrganismos são geralmente os fungos *Colletotrichum falcatum* Went e *Fusarium moniliforme* Sheldon. Os danos no colmo da cana-de-açúcar podem chegar a 70% em comprimento, para várias cultivares (Pinto et al., 2006a).

Na região Centro Oeste, a broca causa problema sério em culturas anuais como milho (atacando o colmo e a espiga), sorgo e arroz. Quando a infestação é na região do pedúnculo, pode provocar a morte da panícula com perda total das plantas atacadas (Waquil, 2007).

Os prejuízos, independente da variedade, são maiores em cana planta, que apesar de mais vigorosa do que a cana soca, durante o preparo do solo (plantio), são eliminados os inimigos naturais que mantêm a praga em equilíbrio (Botelho e Macedo, 2002; Fuller & Reagan, 1988).

Gallo et al. (2002) e Almeida e Stingel (2005) relataram que para cada 1% de intensidade de infestação de broca-da-cana, corresponde perdas na produção de 0,25 % de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% de peso.

Como não é raro encontrar mais de 10% de infestação em áreas não controladas, conclui-se que a broca interfere na quantidade de açúcar total recuperável (ATR) (Benedini, 2007).

2.3. Os nematóides importantes dos canaviais

2.3.1. Nematóides fitoparasitas (NFs)

Esses nematóides possuem estiletos que perfuram a parede celular das células da raiz para sugar seu conteúdo citoplasmático. O grau dos danos depende da densidade populacional dos nematóides presentes, da suscetibilidade da cultura e das condições ambientais, tais como fertilidade, umidade e presença de outros organismos patogênicos que podem interagir com os fitonematóides (Tihohod, 2000).

No Brasil, as espécies de NFs mais importantes em cana são: *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (Tylenchide: Heteroderidae), *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *Pratylenchus zae* (Graham, 1951) (Tylenchide: Pratylenchidae) (Lordello, 1981; Novaretti e Terán, 1983; Moura et al., 1990). Dinardo-Miranda (2005) relatou que, *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven é também muito comum em canaviais brasileiros, mas sua patogenicidade para a cultura ainda não está estabelecida. Recente levantamento realizado em canaviais na região de Campos dos Goytacazes, RJ, mostrou que *Rotylenchulus reniformis* é mais freqüentemente e, possivelmente, mais importante do que nematóides do gênero *Meloidogyne* (Freitas et al., 2006).

Os sintomas do ataque de nematóides são reboleiras de plantas menores e cloróticas, com deficiência nutricional, murchas nas horas mais quentes do dia e menos produtivas, entre outras de porte e coloração aparentemente normais. Esses sintomas na parte aérea são reflexos do ataque dos nematóides nas raízes, de onde esses parasitos extraem nutrientes, resultando em deformações, como as galhas provocadas pelos juvenis de *Meloidogyne*, e extensas áreas necrosadas, quando os nematóides presentes são *Pratylenchus*. Em conseqüência, as raízes se tornam pouco desenvolvidas, pobres em radículas, deficientes e impossibilitadas de desempenhar normalmente suas funções (Dinardo-Miranda, 2006).

M. javanica e *P. zae* causam cerca de 20 a 30% de redução de produtividade no primeiro corte de variedades suscetíveis. *M. incognita* pode causar 40% de perdas. Todavia, os danos não se restringem à cana planta; os nematóides também reduzem as produtividades das soqueiras e, conseqüentemente, a longevidade do canavial (Dinardo-Miranda, 2006).

2.3.2. Nematóides entomopatogênicos (NEPs)

Os nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) têm tido sucesso em muitos países para o controle de diversas pragas agrícolas, especialmente as de solo e ambientes crípticos (Leite et al., 2006; Negrisoni, et al., 2010; Barbosa- Negrisoni, et al. 2010).

Com apenas 1 mm de comprimento, esses agentes possuem habilidade de localizar e invadir o corpo de insetos hospedeiros por suas aberturas naturais

(boca, ânus e espiráculos) ou mesmo através da cutícula. A localização do hospedeiro é possível por meio de quimiorreceptores localizados na região cefálica, que detectam principalmente o CO₂ liberado pelo inseto. Depois de invadir o corpo do inseto, liberam sua bactéria simbiote (Steinernematidae: *Xenorhabdus*; Heterorhabditidae: *Photorhabdus*), que provoca septicemia (rápida multiplicação pelo corpo infectado e sua deterioração) e morte do hospedeiro dentro de 48 horas. Isso leva esses agentes a serem conhecidos como nematóides entomopatogênicos e os torna mais adequados para o controle biológico em comparação aos outros agentes microbianos (Segato et al., 2006).

Com a rápida multiplicação da bactéria no cadáver do inseto, os nematóides passam a alimentar-se delas e do material digerido do inseto, reproduzindo-se no inseto-cadáver. Após duas a três gerações, com o fim do alimento, o estágio juvenil infectante (JI) (terceiro estágio juvenil) deixa o cadáver na busca de novos hospedeiros. Trata-se, portanto, de uma associação simbiote na qual o nematóide atua como um vetor da bactéria e esta, por sua vez, fornece alimento ao nematóide (Segato et al., 2006).

No Brasil, Andaló et al. (2004) trabalharam com *S. carpocapsae* em *Dysmicoccus texensis* (cochonilha-da-raiz do cafeeiro) e Dolinski et al. (2006a) com o controle de *Conotrachelus psidii* (gorgulho da goiaba). Nematóides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* sp. têm sido citados desde 1981 como agente potencial para o controle de *Mahanarva fimbriolata*, cigarrinha-das-raízes-da cana-de-açúcar (Hunt, 1981) com níveis de controle acima de 50% por até 82 dias (Wilson, et al., 1999). *Heterorhabditis* sp. Poinar (CB-n5) foi avaliado contra larvas de *Migdolus fryanus* em canaviaal (cana planta), proporcionando níveis de controle de 60 e 80%; e de 67 e 89 % das larvas de escarabeídeos da cana-de-açúcar. No caso do *Sphenophorus levis* (gorgulho-da-cana-de-açúcar), um teste de campo nos E.U.A. mostrou variação na porcentagem de redução nos ensaios, de 67,0 a 84,1%, por intermédio de *H. bacteriophora*. Em teste realizado na Colômbia, este nematóide mostrou níveis de infecção variáveis de 40 a 70% contra *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). Além deste, o percevejo-castanho, *Scaptocoris* spp. (Heteroptera: Cydnidae), que ataca a cana-de-açúcar, também é alvo potencial para uso de nematóides entomopatogênicos (Leite et al., 2006). Leite et al. (2005) demonstraram que em experimento a campo, o nematóide *Heterorhabditis* sp. proporcionou até 70% de controle de

cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). Machado et al. (2003) utilizaram nematóides entomopatogênicos para o controle de *Migdolus fryanus*, porém as recomendações conclusivas do uso desses agentes como alternativa de controle ainda são bastante escassas (Leite et al., 2006).

A implementação de programas de controle biológico, com NEPs, em regiões tropicais é limitada devido à sensibilidade destes à alta temperatura (Kaya e Gaugler, 1993). Este fator influencia vários processos metabólicos dos JIs, principalmente sua taxa de utilização de reservas (lipídios, proteínas e carboidratos), sua mobilidade, sobrevivência, capacidade de infecção, desenvolvimento e reprodução (Dunphy e Webster, 1986). Segundo Baur et al. (1997) e Glazer & Navon (1990), os efeitos da dissecação dos NEPs quando trabalhados em regiões quentes são minimizados com a utilização de adjuvantes ou antidessecantes. A sobrevivência de JIs de *Steinernema* e *Heterorhabditis* está claramente associada ao nível de umidade do ambiente (Glazer et al., 1992; Baur et al., 1995; Surrey e Wharton, 1995). Trabalhos de Baur et al. (1997) com a aplicação de Blankophor BBH (0,3 % wt: vol) na aplicação de *S. carpocapse* sobre folhas de rabanete expostas a 260-320 nm de luz ultravioleta por um período de 6 horas apresentaram um significativo aumento na persistência dos JIs.

As espécies de nematóides nativas são mais recomendadas do que as espécies exóticas, uma vez que são mais adaptadas ao clima da região (Dolinski e Moino Jr., 2006).

Nas últimas duas décadas, as pesquisas referentes a métodos e tecnologias de aplicação destes organismos focaram em aplicações em suspensão aquosa, via da utilização de sistemas de irrigação (Cabanillas e Raulston, 1994; Curran, 1992; Poinar e Hom, 1986; Shields et al., 1999). Os produtores irrigantes aplicam a vinhaça durante a irrigação como uma opção nutricional da planta e eliminação deste subproduto da usina, mas ainda não são conhecidos os efeitos deste resíduo nos NEPs.

Del Valle et al. (2005a, 2005b) demonstraram que *Heterorhabditis baujardi* Phan, Subbotin, Nguyen e Moens, isolado LPP7, têm alta virulência a temperaturas superiores a 30°C. Além disso, em outros trabalhos de Del Valle et al. (2008), *H. baujardi* permaneceram viáveis por 2,5 meses e infectantes por

quatro meses em aplicações de insetos cadáveres no campo. Pesquisas adicionais são necessárias para determinar a persistência de *H. baujardi* LPP7 em condições de campo (Del Valle et al., 2008).

2.3.3. Interação nematóides fitoparasitas e entomopatogênicos da cana-de-açúcar

Esta interação está associada à percepção e resposta a estímulos químicos (semioquímicos) e físicos (ambientais), determinando a capacidade de busca, incluindo processos de ativação, orientação (atração e/ou repelência), deslocamento (podendo mover espontaneamente e mobilidade), penetração, dentre outros. Ou seja, os NEPs apresentam resposta a compostos solúveis em água e voláteis emitidos pelo hospedeiro (fitoparasita) (Lee, 2002; Ishibashi, 2002; Gaugler & Bilgrami 2004).

Os nematóides entomopatogênicos “cruisers” possuem estratégias de busca ao hospedeiro, sendo atraídos positivamente pelos compostos voláteis do hospedeiro para se deslocar (resposta direcional), como *H. bacteriophora* Poinar. Já as espécies denominadas “ambushers”, ao perceber a proximidade de um hospedeiro saltam e tentam fazer a penetração, sem resposta direcional, como *S. carpocapsae* (Weiser). A combinação destas duas estratégias também ocorre em outras espécies de NEPs, sendo estes indivíduos chamados de intermediários, como é o caso do *S. feltiae* (Filipjev) (Ishibashi, 2002).

3. TRABALHOS

APLICAÇÃO FOLIAR DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE *Diatraea saccharalis* EM MICROPARCELAS

Luiz Luciano Bellini ^{a*}, Claudia Dolinski ^a, Ricardo Moreira de Souza^a, Renata Rodrigues Robaina ^a

^a *Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Entomologia e Fitopatologia, Av. Alberto Lamago, 2000, Pq. Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28015-602, Brasil*

*e-mail para contato: llbufv@hotmail.com

RESUMO

A broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) causa danos à cana-de-açúcar devido ao seu hábito de formar galerias nos colmos, o que acarreta em perda do peso do produto, redução da sacarose e a seca dos ponteiros. O controle químico é inviável economicamente, porém, com baixa eficiência, pois a larva permanece maior parte do tempo de seu desenvolvimento dentro dos colmos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o controle biológico da *Diatraea saccharalis*, utilizando-se nematóides entomopatogênicos (NEPs). Para tanto, foram realizados dois ensaios em casa de vegetação utilizando-se *Heterohabditis baujardi* LPP7 e *Steinernema carpocapse* NCAII por pulverização foliar, associados a produtos adjuvantes. No primeiro ensaio, o número médio de furos causados pela broca-da-cana, nas testemunhas Joint* Oil® e Gotafix® foram de 3,4 e 3,14, respectivamente. Já quanto aos tratamentos, o número de furos por colmo analisado foi de 2,44 para *S. carpocapsae* NCAII + Joint* Oil®; 2,06 para *H. baujardi* LPP7 + Gotafix®; 2,06 para *S. carpocapsae* NCAII + Gotafix®; e 1,84 para *H. baujardi* LPP7 + Joint* Oil®. Quando o experimento foi repetido, o número médio de furos nas testemunhas Gotafix® e Joint* Oil®, foram respectivamente 4,78 e 4,76. Quanto aos tratamentos *S. carpocapsae* NCAII + Joint* Oil®, *S. carpocapsae* NCAII + Gotafix®, *H. baujardi* LPP7 + Gotafix® e *H. baujardi* LPP7 + Joint* Oil®, apresentaram o número médio de 2,18; 2,18; 1,96 e 1,96 furos por colmos avaliados. Assim, ambos nematóides controlaram a broca-da-cana, contudo não houve diferença significativa entre NEPs e entre produtos adjuvantes.

Palavras-chave: controle biológico, broca-da-cana, NEPs, *Saccharum officinarum*.

ABSTRACT

The sugar-cane borer causes damage to cane sugar because of its galleries in the habit of forming stems, resulting in loss of the product weight, reduction of sucrose and dries the hands. Chemical control is used, but with low efficiency, because the larva remains majority part of the time of its development within the stems. This work was designed to test control biological *Diatraea saccharalis* using entomopathogenic nematodes (NEPs). For both were performed two trials in the greenhouse using *Heterohabditis baujard* LPP7 and *Steinernema carpocapse* NCAII by foliar spray associated with adjuvants products. In first test, the average number holes caused by the borer cane, in the witnesses Joint* Oil® and Gotafix® were 3,4 and 3,14 respectively. Already about the treatments, the number of holes per stem was from 2,44 *S. carpocapsae* NCAII + Joint* Oil; 2,06 for *H. baujard* LPP7 + Gotafix®; 2,06 *S. carpocapsae* NCAII + Gotafix®, and 1,84 for *H. baujard* LPP7 + Joint* Oil®. When the experiment was repeated, the average number of holes in witnesses Gotafix® and Joint* Oil®, were 4,78 and 4,76 respectively. As for the treatments *S. carpocapsae* NCAII + Joint* Oil®, *S. carpocapsae* NCAII + Gotafix®, *H. baujard* LPP7 + Gotafix® and *H. baujard* LPP7 + Joint* Oil® showed the average number of 2,18; 2,18; 1,96 and 1,96 holes evaluated by stalks. Thus, both controlled the nematodes sugar-cane borer, but there was significant difference between NEPs and adjuvant products.

Key-words: Biological control, sugar-cane borer, NEPs and *Saccharum officinarum*.

INTRODUÇÃO

Em 2009, a produção brasileira de cana-de-açúcar representou 33% da produção mundial, segundo dados da Food and Agricultural Organization (FAO, 2008). Sua importância está na produção do açúcar e, mais recentemente, do álcool combustível (Mozambani et al., 2006). Porém, como toda planta cultivada, está sujeita à ação de insetos praga durante todo o seu ciclo, interferindo em sua qualidade e produtividade. Esses problemas têm se acentuado devido à expansão da área cultivada (Macedo e Macedo, 2007; Lima Filho, 1999).

A broca-da-cana-de-açúcar (BCA), *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) é a praga que merece maior atenção para as condições brasileiras, por sua ampla distribuição e pelos prejuízos que pode causar (Gallo et al., 1988; Lima Filho, 1999). As larvas abrem galerias, ocasionando perdas no peso da cana e a morte das gemas, que causa falhas na germinação; tombamento da cana pelo vento, quando estas galerias são transversais; e quando ocorre ataque em plantas novas, ela produz a seca dos ponteiros, conhecido por “coração morto” (Gallo et al., 2002).

Diversos pesquisadores mostram que para cada 1% de intensidade de infestação da praga, ocorre prejuízos de 0,25% de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% de peso (Gallo et al., 2002; Campos e Macedo, 2004). No estado de São Paulo, os prejuízos com a podridão vermelha atingem por ano US\$ 100 milhões, considerando-se uma infestação de 10% dos colmos (Gitahy et al., 2006).

O uso do endoparasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) para o controle da broca-da-cana é um eficiente método de controle desta praga (Almeida e Stingel, 2005) e é o método mais utilizado no Brasil (Pinto et al., 2006b). O sucesso desta tática de controle junto ao manejo integrado de pragas tem levado os laboratórios de criação massal a investir em tecnologias adequadas para uma produção cada vez mais eficiente e rentável (Carvalho, 2006).

O controle químico não é utilizado, pois, é economicamente inviável, devido ao hábito das brocas ficarem dentro dos colmos (Pinto et al., 2006b). O uso de NEPs (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) tem tido sucesso em muitos países para o controle de diversas pragas agrícolas, especialmente as de solo e ambientes crípticos (Leite et al., 2006). NEPs dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* vivem no solo e são parasitas naturais de insetos que se encontram nesse ecossistema e possuem uma relação de simbiose com as bactérias dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente (Forst e Clarke, 2002). Estes nematóides penetram seus hospedeiros, através das aberturas naturais, boca, anus e espiráculos, durante seu estágio de juvenis infectantes (JIs). Porém, para algumas espécies de nematóides a penetração pode ser através da cutícula do inseto hospedeiro. Dentro do inseto, os NEPs liberam as bactérias simbiotes que causam septicemia em 24 a 48 horas (Dowds e Peters, 2002). Ainda no interior do inseto infectado, estes se alimentam, desenvolvem e completam duas a três gerações e quando o alimento se esgota, JIs deixam o cadáver a procura de novos hospedeiros (Kaya e Gaugler, 1993).

NEPs já foram testados contra outras pragas da cana. Leite et al. (2002) obtiveram, 80% de mortalidade da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae), por *Heterorhabditis* sp. e *Steinernema* sp. Tavares et al. (2007) utilizaram 60 JIs por cm² de *H. indica* IBCB-n5 contra *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) e obtiveram de 95% de mortalidade em laboratório e 85% em casa-de-vegetação. Quando se utilizaram *Steinernema* sp. IBCB-n6, obtiveram 73% de mortalidade em laboratório e 42% em casa-de-vegetação.

Estudos desenvolvidos por Spaul (1988, 1990) na África, mostraram que *Heterorhabditis* e *Steinernema* têm potencial de diminuir a população de *Eldana saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar. Ainda na África, Pillay et

al. (2009) em seus trabalhos, obtiveram 100% de mortalidade de *E. saccharina*, utilizando isolados destes dois gêneros de NEPs.

Nematóides entomopatogênicos nativos, *Steinernema glaseri* (Steiner) e *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David, 1992 (IBCB-n5) foram avaliados quanto ao potencial parasítico, contra ovos e larvas de *Migdolus fryanus*, em laboratório. Não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos. Porém, constatou-se a penetração do nematóide e redução da viabilidade dos ovos infectados. Quanto às larvas de *M. fryanus*, *S. glaseri* causou 100% de mortalidade e *H. indica* 80%, ambos diferindo significativamente da testemunha (Machado et al., 2005).

Quando se pensa em aplicação foliar, é comum a utilização de *S. carpocapse* NCall (Baur et al., 1997, 1995; Perez, et al. 2000). Porém, não há relatos na literatura sobre a utilização foliar de *H. baujardi* LPP7. Assim, o objetivo desse estudo foi testar uma nova alternativa de controle da *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, comparando os nematóides entomopatogênicos *S. carpocapse* NCall e *H. baujardi* LPP7 via pulverização foliar, com e sem adjuvantes em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) e em casa de vegetação localizados na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Os NEPs, *H. baujardi* Phan et al. LPP7 e *S. carpocapae* (Waiser) NCAI foram multiplicados em larvas no último instar de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) da criação mantida no LEF. A infestação destas larvas foi feita em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel filtro umedecidas com 2 mL de suspensão de nematóides com aproximadamente 200 juvenis infectantes (JIs). Tais placas foram seladas com filme plástico, identificadas e acondicionadas em BOD a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR > 80%, durante 48 horas. As larvas mortas foram transferidas para armadilhas de White modificadas (White, 1927). Estas armadilhas eram constituídas por placas de Petri (nove centímetros de diâmetro) com anel de PVC (3 cm diam.) e uma tira papel filtro sobre o anel. Os cadáveres foram colocados sobre o papel e

água destilada foi adicionada na base da placa até a metade dos anéis de PVC. As armadilhas foram colocadas em BOD ($27 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR > 80%) até a emergência dos JIs, que em geral leva de 11 a 12 dias. Juvenis infectantes foram coletados com pipetas Pasteur em dias alternados, identificados quanto à data de coleta, acondicionados em garrafas de cultura de células de 1.000 mL e armazenados em câmara climatizada a $16 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR > 80% até uma semana antes dos experimentos.

As larvas de *D. saccharalis* e os toletes de cana-de-açúcar para plantio foram cedidos pelo Laboratório de Controle Biológico - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Campus Dr. Leonel Miranda (CLM), Campos dos Goytacazes, RJ.

Além dos JIs de *H. baujardi* LPP7 e *S. carpocapsae* NCAII foram testados também dois adjuvantes, Joint* Oil® (Dow AgroSciences) e Gotafix® (Milenia). O experimento foi conduzido em blocos casualizados, com seis tratamentos e dez repetições:

- A) Testemunha sem nematóide e com Joint* Oil® (20 mL);
- B) Testemunha sem nematóide e com Gotafix® (5 mL);
- C) *H. baujardi* LPP7 (250.000 JIs) + Joint* Oil® (20 mL);
- D) *H. baujardi* LPP7 (250.000 JIs) + Gotafix® (5 mL);
- E) *S. carpocapsae* NCAII (250.000 JIs) + Joint* Oil® (20 mL);
- F) *S. carpocapsae* NCAII (250.000 JIs) + Gotafix® (5 mL).

A parcela experimental foi constituída de seis touceiras de cana-de-açúcar da variedade RB 72454 e, continham cinco colmos. Para determinação do volume de calda a ser aplicado por tratamento, foram efetuados testes em branco utilizando-se pulverizador de cinco litros.

Após quatro meses do plantio, cada colmo foi infestado artificialmente com duas larvas da BCA de 12 dias de idade, depositando-as nas axilas de forma aleatória, totalizando 30 larvas por vaso. Decorridas 48 horas da infestação dos colmos, foi aplicado 1 L referente a calda tratamento com os tratamentos descritos anteriormente.

A avaliação da mortalidade das larvas de *D. saccharalis* foi iniciada uma semana depois da aplicação dos NEPs. Os colmos foram cortados na altura do colo e depois longitudinalmente. O experimento foi repetido logo após a avaliação para efeito de segurança nas análises dos resultados.

Para a avaliação estatística deste bioensaio, aplicou-se a análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO COM CONCLUSÕES

Foi observado em ambos os ensaios, que os tratamentos com e sem NEPs diferiram significativamente entre si (Figura 1). Porém, não houve diferença significativa entre os adjuvantes e nem entre os NEPs testados. Não houve diferença significativa entre os experimentos, demonstrando que os experimentos foram bem conduzidos e avaliados quanto ao número de perfurações causadas pelas brocas inoculadas nas touceiras de cana-de-açúcar.

No primeiro ensaio, o número médio de furos foi de 3,4 para testemunha sem nematóide e com Joint* Oil®; 3,1 para testemunha sem nematóide e com Gotafix®; 2,44 para *S. carpocapsae* NCAII + Joint* Oil®; 2,06 para *H. baujardi* LPP7 + Gotafix® e também para *S. carpocapsae* NCAII + Gotafix®; e 1,84 para *H. baujardi* LPP7 + Joint* Oil® ($P<0,01$; gl = 5; $F = 6,2858$) (Figura 1A). Já no segundo ensaio os tratamentos apresentaram os números médios de furos de 4,78 para a testemunha sem nematóides e com Gotafix®; 4,76 para testemunha sem nematóide e com Joint* Oil®; 2,18 para *S. carpocapsae* NCAII + Joint* Oil® e para *S. carpocapsae* NCAII + Gotafix®; 1,96 para *H. baujardi* LPP7 + Gotafix®; e 1,90 para *H. baujardi* LPP7 + Joint* Oil® ($P<0,01$; gl = 5; $F = 183,0643$) (Figura 1B). Houve diferença significativa entre os tratamentos com e sem NEPs, porém, entre os NEPs e os adjuvantes não houve diferenças significativas.

Nos tratamentos onde NEPs foram aplicados, o número de orifícios feitos pela broca foi menor do que nos tratamentos sem aplicação de NEPs. Tais NEPs, encontraram as larvas de BCA dentro do colmo. A comprovação de que a morte das larvas encontradas nas regiões da bainha foliar e no interior do colmo (Figura 2) das plantas tratadas teria sido causada pelos NEPs se deu pela obtenção dos JIs em armadilhas de White modificadas (Figura 2).

Quando se comparou os tratamentos C, D, E e F, notou-se que não houve diferença significativa entre as duas espécies testadas. Estas duas espécies apresentam estratégias de forrageamento distintas. *H. baujardi* é atraída positivamente pelos voláteis como dióxido de carbono e emanações produzidas

pelo hospedeiro, deslocando-se em sua direção. Tal estratégia é denominada “cruiser”. Já *S. carpocapsae* possui estratégia “ambusher”, a qual o nematóide ao perceber a proximidade de um hospedeiro, salta e tenta fazer a penetração, sem resposta direcional (Ishibashi, 2002; Lewis, 2002). Lewis (2002) relatou, que NEPs com forrageamento “cruiser” são mais efetivos contra insetos de pouca mobilidade no solo, enquanto que os com estratégia “ambusher” são mais efetivos contra alvos móveis. Acredita-se que não ocorreram diferenças significativas entre as espécies porque a forma de deslocamento dos NEPs da folha até a praga foi a mesma para ambas. A arquitetura da folha e da bainha da cana-de-açúcar em formato de calha favoreceu o escoamento da solução aquosa contendo tais NEPs até o interior do colmo da planta.

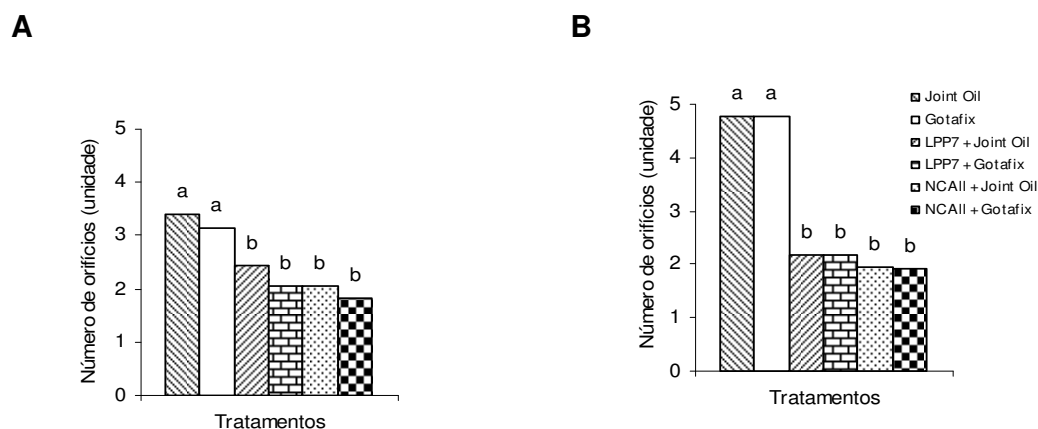


Figura 1: Número de orifícios causados pela broca-da-cana, em colmos avaliados em cada tratamento dos ensaios em casa de vegetação da Universidade Estadual Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2010. A. Gráfico com a média do número de orifícios do 1º ensaio. B. Gráfico com a média do número de orifícios do 2º ensaio. Médias seguidas por pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Também quanto aos adjuvantes utilizados neste experimento, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Silva et al. (2008) em seus trabalhos com NEPs, utilizaram o adjuvante Gotafix®, proporcionando maior sobrevivência do isolado NEPET 19 (Nematoda: Heterorhabditidae). Contudo, quando comparados, no experimento em questão, Joint* Oil® é muito menos tóxico do que Gotafix®.

NEPs podem ser mais uma alternativa de controle desta praga. Porém, para se implantar esse tipo de controle em uma propriedade, deve-se avaliar o

potencial que estes inimigos naturais possuem em controlar a broca-da-cana diretamente em canaviais.

O uso de nematóides entomopatogênicos para o controle de pragas já é uma realidade na agricultura moderna. Sua utilização no controle desses importantes insetos nas lavouras se torna uma nova alternativa viável, devido ao seu potencial de encontrá-las e controlá-las. Como ambos nematóides, com os dois adjuvantes aplicados em ambiente semi-controlado reduziram os danos causados pela *D. saccharalis* nos colmos de cana-de-açúcar, foi importante combinar o uso de *H. baujardi* LPP7 com o adjuvante Joint* Oil®. Além de ter o comportamento “cruizer” que busca o hospedeiro dentro do colmo, esse nematóide é nativo do Brasil (Dolinski et al., 2008).



Figura 2: Larva de broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae), morta por *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Rhabditida: Heterorhabditidae).

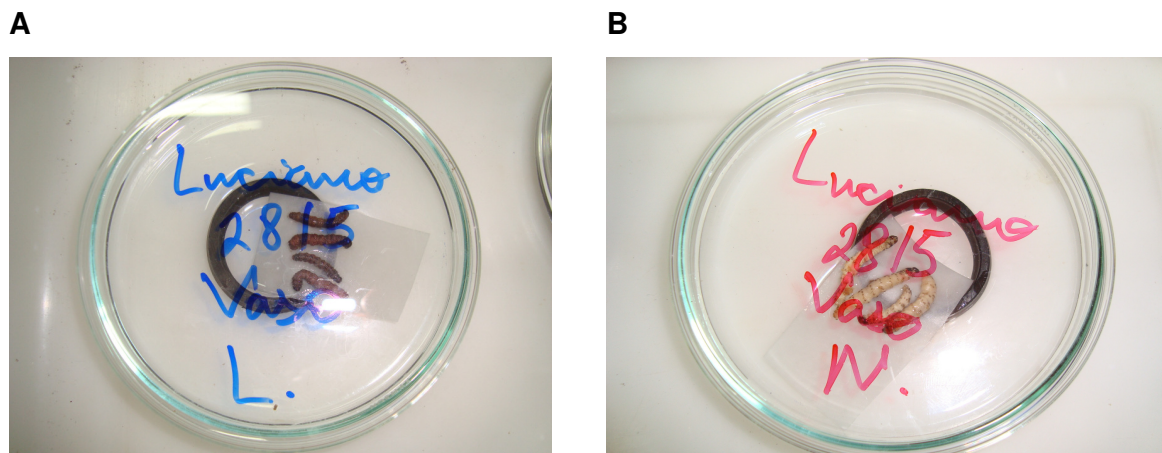


Figura 3: Armadilhas de White Modificadas, com larvas de broca-da-cana, *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae), mortas após infecção de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Rhabditida: Heterorhabditidae) (A) e por *Steinernema carpocapse* (Rhabditida: Steinernematidae) (B).

AGRADECIMENTOS

A UENF e ao CNPq, pelas bolsas concedidas e ao Laboratório de Controle Biológico do Campus Doutor Leonel Miranda da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo material cedido durante todo o experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, L. C.; Stingel, E. (2005) Curso de monitoramento e controle de pragas da cana-de-açúcar. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. 32 p.
- Baur, M.E.; Kaya, H.K.; Tabashnik, B.E. (1997) Efficacy of a dehydrated *Steinernematid* nematode against black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) and diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 1200-1206.
- Baur, M.E.; Kaya, H.K.; Thurston, G.S. (1995) Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. *Entomol. Exp. Appl.* 77: 239-250.

- Campos, M.B.S.; Macedo, N. (2004) Cana-de-açúcar - ampliando campo de ataque. *Cultivar: Grandes Culturas*, Pelotas, v.6, n. 68, p.23-26.
- Carvalho, J.S. (2006) Aspectos reprodutivos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em condições de laboratório. 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Dolinski, C.; Kamitani, F.L.; Machado, I.R.; Winter, C.E. (2008) Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 103(2): 150-159, March.
- Dowds, B.C.A.; Peters, A. (2002) Virulence mechanisms. *In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematol.* CABI Publishing, New York, NY, pp. 79–98.
- Food and agricultural organization. *Country rank in the world, by commodity*. 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.aspx>>. Acesso em: 23 de fev. 2011.
- Forst, S.; Clarke, D. (2002) Bacteria-nematode symbiosis. *In: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematol.* CABI Publishing, New York, NY, pp. 57–77.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Neto, S.S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C. de; Berti filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. (2002) *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, Fealq. 920 p.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Neto, S.S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C. de; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. (1988) *Manual de Entomologia Agrícola*. Piracicaba, Ceres. 649 p.

- Gitahy, P. de M.; Galvão, P.G.; Araújo, J.L.S.; Baldani, J.I. (2006) Perspectivas biotecnológicas de *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 44p.
- Ishibashi, N (2002) Behaviour of Entomopathogenic Nematodes. *In*: Lee, D. L. (ed.) The biology of nematodes, London: *Taylor & Francis*, p. 511- 520.
- Kaya, H.K.; Gaugler, R. (1993) Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*. v. 38, p. 181-206.
- Leite, L.G.; Machado, L.A.; Ambrós, C.M.; Távares, F.M. (2006) O uso de nematóides entomopatogênicos no controle de pragas da cana-de-açúcar. *In*: Pinto, A.S. *Controle de pragas da cana-de-açúcar*. 1 ed. Sertãozinho, BIOCONTROL, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, 1).
- Leite, L.G.; Machado L.A.; Aguilera, M.M.; Rodrigues, R.C.D.; Negrisoli Jr, A.S. (2002) Patogenicidade de *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida) contra ninfas da cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). *Rev. Agric.* 78: 139-148. *In*: Leite, L.G.; Machado, L.A.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M.; Batista Filho, A. (2005) Screening of Entomopathogenic Nematodes (Nemata: Rhabditida) and the Efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology*. 34(5): 785-790. September-October.
- Lewis, E.E. (2002) Behavioural ecology. *In*: Gaugler, R. Entomopathogenic nematology. CABI Publishing. New York. p. 205-223.
- Lima Filho, M. *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar no norte do estado do Rio de Janeiro: Taxa de parasitismo de ovos em função do número e da distância do ponto de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *In*: Aperfeiçoamento dos sistemas de produção e liberação inundativa de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis*

- (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar. Campos dos Goytacazes, 1999. 111 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Macedo, N.; Macedo, D (2007) Manejo da broca protege produtividade. *Correio Agrícola*, São Paulo, n.1, p.26-27.
- Machado, L.A.; Habib, M.; Leite, L.G.; Calegari, L.C.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M. (2005) Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos a ovos e larvas de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (coleoptera: vesperidae) *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.72, n.2, p.221-226, abr./jun.
- Mozambini, A.E.; Pinto, A.S.; Segato, S.V.; Mattiuz, C.F.M. (2006) História e morfologia da cana-de-açúcar. *In: SEGATO, S.V.; Pinto, A.S.; Jendiroba, E.; Nóbrega, J.C.M. Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415 p.
- Perez, J.M.; Martínez, E.; Machado, F.; Prado, R.; Rodríguez, O.; Mollinedo, Y.; González, B. L. (2000) Utilización de nemátodos entomopatógenos en la lucha contra el cogollero del tabaco *Centro Agrícola*, No. 3, año 27, julio-sept.
- Pillay, U.; Martin, L.A.; Rutherford, R.S.; Berry, S.D. (2009) Entomopathogenic nematodes in sugarcane in south Africa. *Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.* 82: 538-541.
- Pinto, A.S.; Garcia, J.F.; Oliveira, H.N. (2006b) Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar. *In: Segato, S.V.; Pinto, A.S.; Jendiroba, E.; Nóbrega, J.C.M. de. (2006) Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415p.
- Spaull V.W. (1990) Field tests to control the Pyralid, *Eldana saccharina*, with an entomogenous nematode, *Heterorhabditis* sp. *Proc S Afr Sug Technol Ass* 64: 103-106.

- Spaull V.W.A (1988) Preliminary evaluation of entomogenous nematodes to control the African sugarcane stalk borer *Eldana Saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae). *Proc S Afr Sug Technol Ass* 62: 120-123.
- Silva, A.E. da; Silva, A.N. da; Voss, M. (1994) Compatibilidade de adjuvantes com o isolado NEPT 19 de nematóide entomopatogênico (Nematoda: Heterorhabditidae). Anais dos resumos da IV Mostra de Iniciação Científica da Embrapa Trigo. Passo Fundo, 2008. Documentos on line, nov. 94.
- Tavares, F.M.; Batista Filho, A.; Leite, L.G.; Almeida, L.C.; Silva, A.C.; Ambrós, C.M.G. (2007) Efeito de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Nemata: Rhabditida) sobre larvas do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), em laboratório e casa-de-vegetação. *Nematologia Brasileira*. Piracicaba, SP, v.31, nº 1, p. 12-19.

**APLICAÇÃO FOLIAR DO NEMATÓIDE ENTOMOPATOGÊNICO
Heterorhabditis baujardi LPP7 (RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) PARA
O CONTROLE DA *Diatraea saccharalis* EM CANA-DE-AÇÚCAR**

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar a eficiência de *Heterorhabditis baujardi* Phan et al. LPP7 contra larvas da broca-da-cana-de-açúcar *D. saccharalis* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Crambidae), em canavial adulto (comprimento médio dos colmos = dois metros) infestado naturalmente pelo inseto. No canavial foram montadas duas áreas experimentais, com dez blocos em cada. Cada bloco continha quatro fileiras de cana, com dez metros de comprimento, sendo que as centrais serviram de bordadura e as das extremidades eram destinadas ao tratamento e ao controle dos ensaios. Em cada fileira tratada, na região foliar dos colmos, foram aplicados 3,5 litros de solução aquosa contendo 250.000 JIs *H. baujardi* LPP7 e 20 mL de Joint* Oil®, com o auxílio de um pulverizador costal manual. Decorridos sete dias da aplicação dos NEPs foi feita a amostragem dos blocos, cortando 30 colmos das fileiras tratadas, 30 das fileiras não tratadas e contando o número de furos, larvas vivas e mortas por colmo avaliado. Através da ANOVA e do teste F (10%), observou-se que houve menor número de furos, oriundos da *D. saccharalis* nas fileiras inoculadas com *H. baujardi* LPP7 de ambas as áreas experimentais. Neste trabalho, concluiu-se que a pulverização foliar de formulado aquoso de *H. baujardi* LPP7,

para o controle da *D. saccharalis*, é uma tecnologia viável aos produtores de cana-de-açúcar.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the efficiency of *Heterorhabditis baujardi* Phan et al. LPP7 against sugar-cane borer, *D. saccharalis* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Crambidae) in sugar-cane adults (average length of the stems = 2,0 m) naturally infested by the insect. In the sugar-cane fields were set up two experimental sites, with 10 blocks each. Each block contained four rows of cane, with 10 m in length, and served as the central and surround the ends were designed to treat and control the tests. Treated in each row, in the region of the leaf stalks were used 3,5 liters of aqueous solution containing 250.000 IJs *H. baujardi* LPP7 and 20 mL of Joint* Oil®, with the help of a knapsack sprayer. After 7 days, sampling was done, cutting 30 stems from the treated and 30 from the untreated rows and recorded the numbers of holes, live and dead larvae per stem evaluated. Using ANOVA and F test (10%), it was observed that there was a lower number of holes in the rows inoculated with *H. baujardi* LPP7. In this work, it was concluded that foliar spray of aqueous formulated *H. baujardi* LPP7 for controlling of *D. saccharalis* is a viable technology to produce sugar-cane.

INTRODUÇÃO

O setor sucroalcooleiro está em pleno crescimento, tanto na produção de cana-de-açúcar quanto de etanol e de açúcar, uma vez que a demanda por esses produtos é cada vez maior (Rodrigues, 2011). O total de cana moída pelas usinas em 2010 atingiu recorde de 624,99 milhões de toneladas (Conab, 2011).

Em relação à área total de cana plantada no Brasil, o Estado de São Paulo apresenta 54,23%, seguido por Minas Gerais com 8,1%, Paraná com 7,25%, Goiás com 7,46%, Alagoas com 5,46%, Mato Grosso do Sul com 4,93% e Pernambuco com 4,32% (Conab, 2011).

Com a expansão da área cultivada tem-se acentuado os problemas com insetos praga (Almeida, 2005; Macedo e Macedo, 2007) e dentre esses, *Diatraea*

saccharalis (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), também conhecida por broca-da-cana-de-açúcar ou broca do colmo, é uma das pragas mais importantes desta cultura no Brasil, e é responsável por grandes perdas na produção dos canaviais (Huang et al., 2007). De acordo com Pappa et al. (2007), devido à sua biologia e pelos danos, ela é a principal praga desta cultura nas Américas. Mais especificamente, é a praga mais importante dos canaviais do Estado de São Paulo (Agrobyte, 2011).

Diversas pesquisas já foram realizadas para determinar as perdas provocadas pela broca. A metodologia mais utilizada é a de determinar o percentual de perdas para cada 1% de intensidade de infestação (I.I.) da broca. Resultados de diversos autores mostram que para cada 1% de intensidade de infestação da praga, ocorre prejuízos de 0,25% de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% de seu peso (Gallo et al., 2002; Campos e Macedo, 2004). No estado de São Paulo, ocorrem prejuízos com a podridão vermelha em torno de US\$ 100 milhões/ano, considerando-se uma infestação de 10% dos colmos (Gitahy et al., 2006). Porém, dependendo da variedade de cana, da época do ano, do ciclo da cultura, e outros fatores, o ataque da broca pode ser tornar mais agressivo. Para o controle desta praga, pesquisadores desenvolveram métodos, que visam à redução de sua população, dos danos e prejuízos econômicos por ela ocasionados (Pinto et al., 2006a), como:

- Plantio da cana em épocas desfavoráveis ao desenvolvimento do inseto;
- Emprego de variedades mais resistente, principalmente à podridão associada à broca-da-cana;
- Limpeza dos restos culturais após o plantio;
- Armadilhas de feromônio, com fêmeas virgens (usado para monitoramento de populações da praga);
- O controle químico é inviável economicamente, mas é prejudicado devido ao hábito da lagarta de permanecer a maior parte de seu desenvolvimento no interior dos colmos. Além disso, deve ser evitado, uma vez que o impacto ambiental causado pela contínua aplicação de defensivos químicos é significativo (Pinto et al., 2006a);
- A opção pelo controle biológico é usual, em função da disponibilidade dos organismos nas unidades industriais e pela oferta no mercado. Os inimigos naturais mais utilizados são *Cotesia flavipes* e *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988

(Hymenoptera: Trichogrammatidae), atuando em diferentes fases de desenvolvimento da praga e quando associados acarretam uma diminuição de mais de 60% na I.I. (Pinto et al. 2006b). A liberação inundativa do parasitóide larval *Cotesia flavipes* é o método de controle mais utilizado no Brasil (Botelho et al., 1999; Pinto et al., 2006b).

No estado de São Paulo, o controle mais eficiente é o biológico, com a utilização de inimigos naturais que, criados em laboratórios, são liberados a campo, em glebas previamente levantadas, para se determinar a intensidade de infestação (Marucci, 2006).

Em muitos países os NEPs *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. têm sido utilizados com sucesso para o controle de diversas pragas de lavouras (Leite et al., 2006). Em cultivos protegidos existem casos de controle de mosca dos fungos, *Bradysia mabiusi* Lane (1959) (Diptera: Sciaridae) (Leite et al., 2007), do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae) (Cabanillas, 2003). Em grãos armazenados existem bons resultados de controle do besouro castanho, *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), da traça dos cereais ou também chamada de traça da farinha, *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Phycitidae) (Ramos-Rodríguez et al., 2007) e de pragas de solo (Rosa et al., 2008). Del Valle et al. (2007), trabalhando com cadáveres de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) infectados com *H. baujardi* LPP7 obtiveram eficácia no controle do gorgulho da goiaba, *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae) a campo, além de persistência dos JIs no solo. Minas et al. (2008), em campo obtiveram 86 % de mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* (mosca das frutas), também utilizando de *H. baujardi* LPP7.

Toledo et al. (2005) avaliaram a eficiência de *H. bacteriophaga* sobre larvas da mosca mexicana das frutas *Anastrepha ludens*. Em seus trabalhos de campo, obtiveram 47 % de mortalidade desta praga utilizando 115 JI/cm². Por sua vez, utilizando 345 JI/cm² a mortalidade de *A. ludens* foi de 76 %.

Leite et al. (2003) trabalhando em laboratório com cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar, obtiveram acima de 95% de mortalidade deste inseto, utilizando como inimigo natural, *Heterorhabditis* sp. (CB-n5). Já em testes realizados a campo, com a dosagem de $6,6 \times 10^7$ JI/ha a cigarrinha manteve-se controlada acima de 50 % (nível de controle) por até 82 dias. Apesar destes resultados,

Georgis et al. (1992) e McCoy et al. (2002) consideram esta dosagem baixa, quando comparada com outras geralmente usadas no controle de pragas com nematóides.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a campo a eficiência do NEP, *Heterorhabditis baujardi* Phan et al. LPP7, para o controle da broca-da-cana-de-açúcar (BCA).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em canavial comercial da Açucareira Virgulino de Oliveira unidade de Monções, localizado em Turiúba, SP, a 20°52'36" de latitude e a 50°07'28" de longitude. A escolha do canavial foi baseada na densidade populacional de larvas da DBC, amostrada previamente na lavoura.



Figura 1: Técnicos da Açucareira Virgulino de Oliveira, realizando amostragem de *D. saccharalis* em canavial. A. Despalha total dos colmos. B. Observação dos colmos (um por um), procurando orifícios causados pela broca. Dezembro de 2010.

O canavial apresentava as seguintes características: variedade SP 80-1842, espaçamento de 1,3 m (entre fileiras), dois cortes já realizados, oito meses de idade, comprimento médio dos colmos de 2 m. Após o 2º corte, a AVO ainda não havia manejado as pragas, mas, as amostragens das pragas seguiam a rotina desta usina (Figura 1).

Foram instalados dois experimentos consecutivos na área escolhida, no delineamento em blocos casualizados com dois tratamentos e dez repetições (Figuras 2 e 3). A parcela experimental consistiu de uma fileira de plantas com

10,0 m de comprimento, contendo de 120 a 160 colmos de cana-de-açúcar. As bordaduras foram formadas por 2,0 m de plantas na fileira e por duas fileiras vizinhas a parcela.

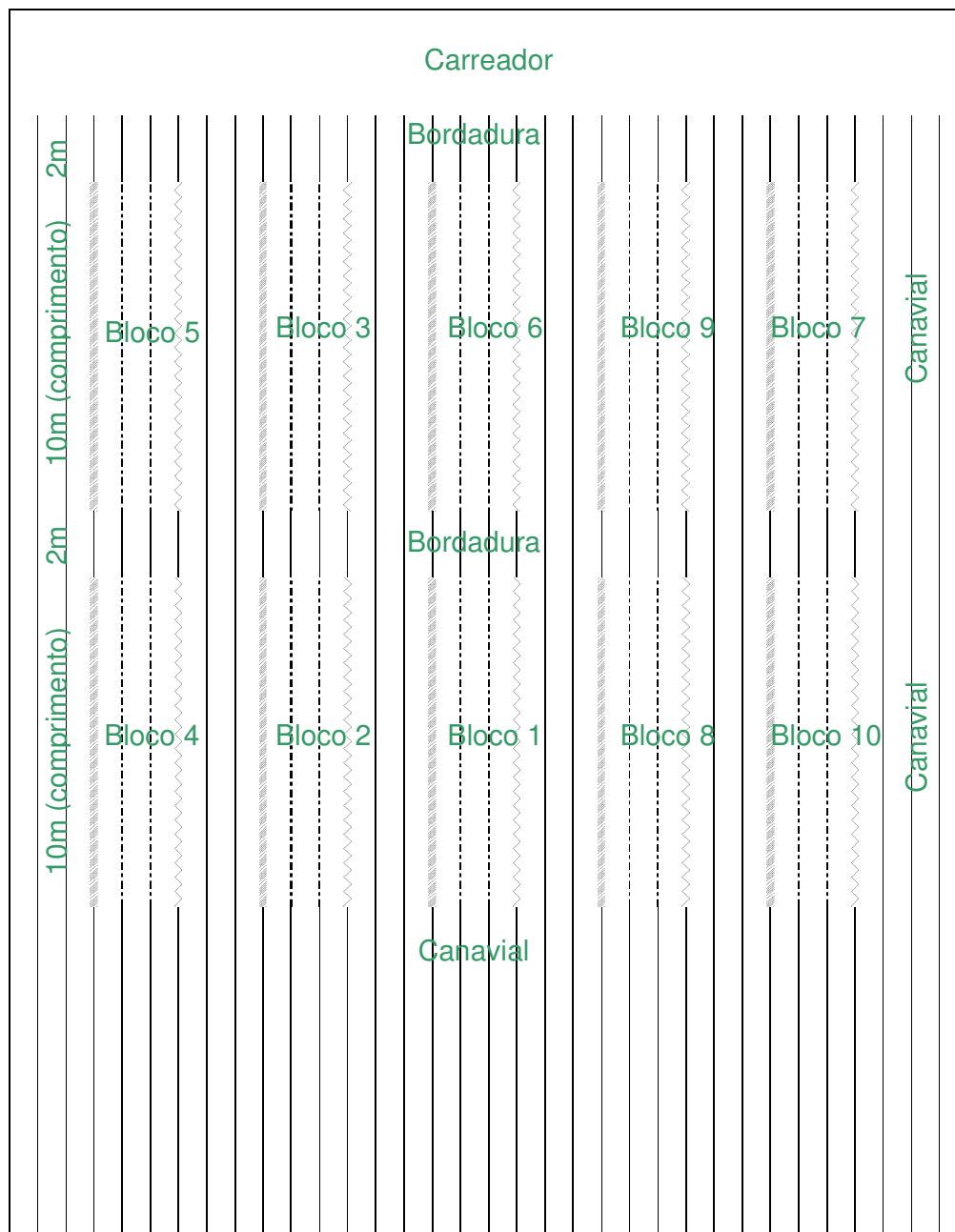


Figura 2. Esquema experimental da área 1, localizada em canavial da Açucareira Virgulino de Oliveira, em Turiúba, SP.

Fileiras de cana-de-açúcar que foram tratadas com NEPs

Fileiras de cana-de-açúcar utilizadas como bordaduras dos blocos

~~~~~

Fileiras de cana-de-açúcar que não foram tratadas com NEPs

\_\_\_\_\_

Fileiras de cana-de-açúcar ao redor dos blocos

\_\_\_\_\_

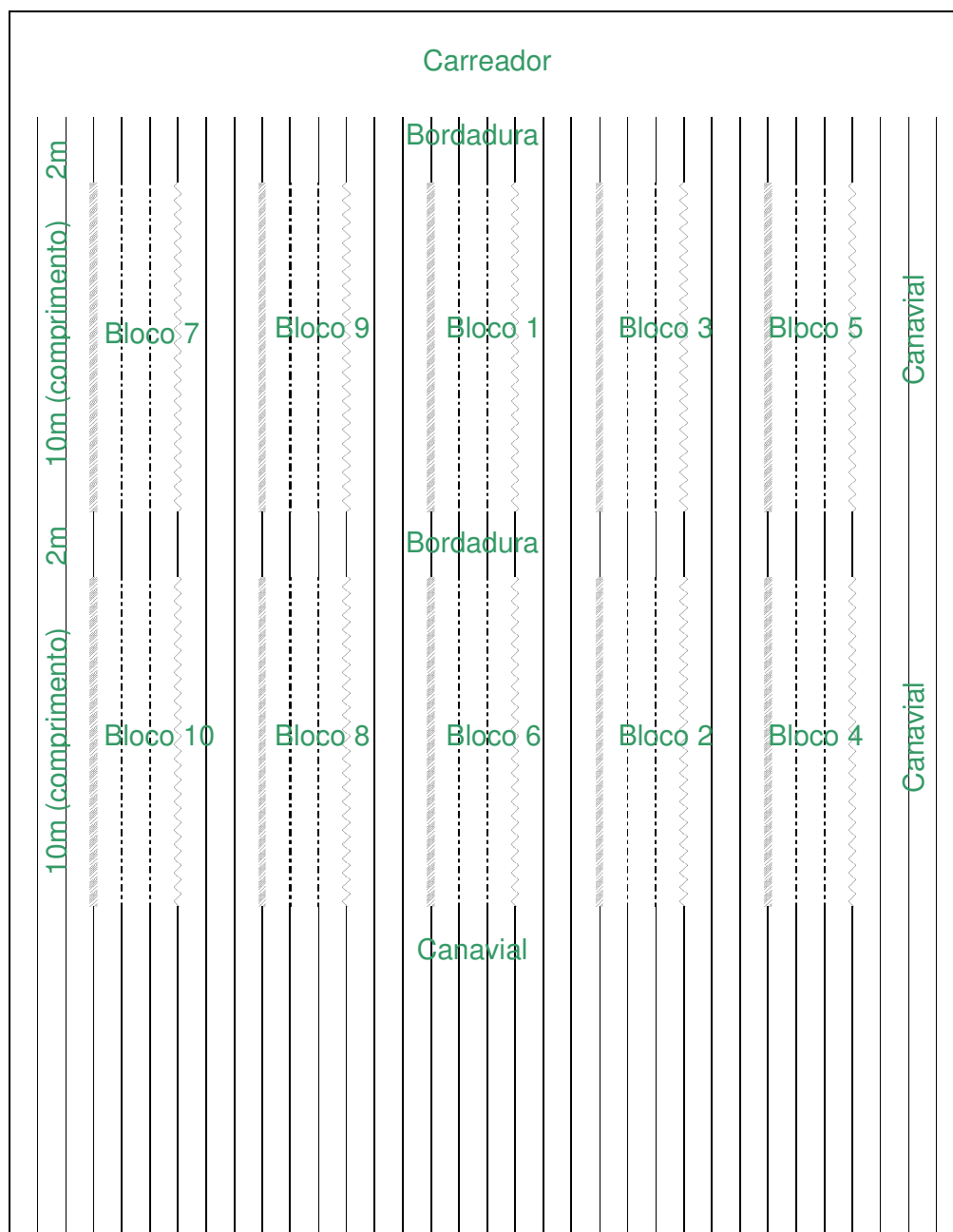


Figura 3. Esquema experimental da área 2, localizada em canavial da Açucareira Virgulino de Oliveira, em Turiúba, SP.

Fileiras de cana-de-açúcar que foram tratadas com NEPs



Fileiras de cana-de-açúcar utilizadas como bordaduras dos blocos



Fileiras de cana-de-açúcar que não foram tratadas com NEPs



Fileiras de cana-de-açúcar ao redor dos blocos

Após terem sido delineadas as AEs nos croquis, os blocos foram demarcados no canavial escolhido (Figura 4 A).

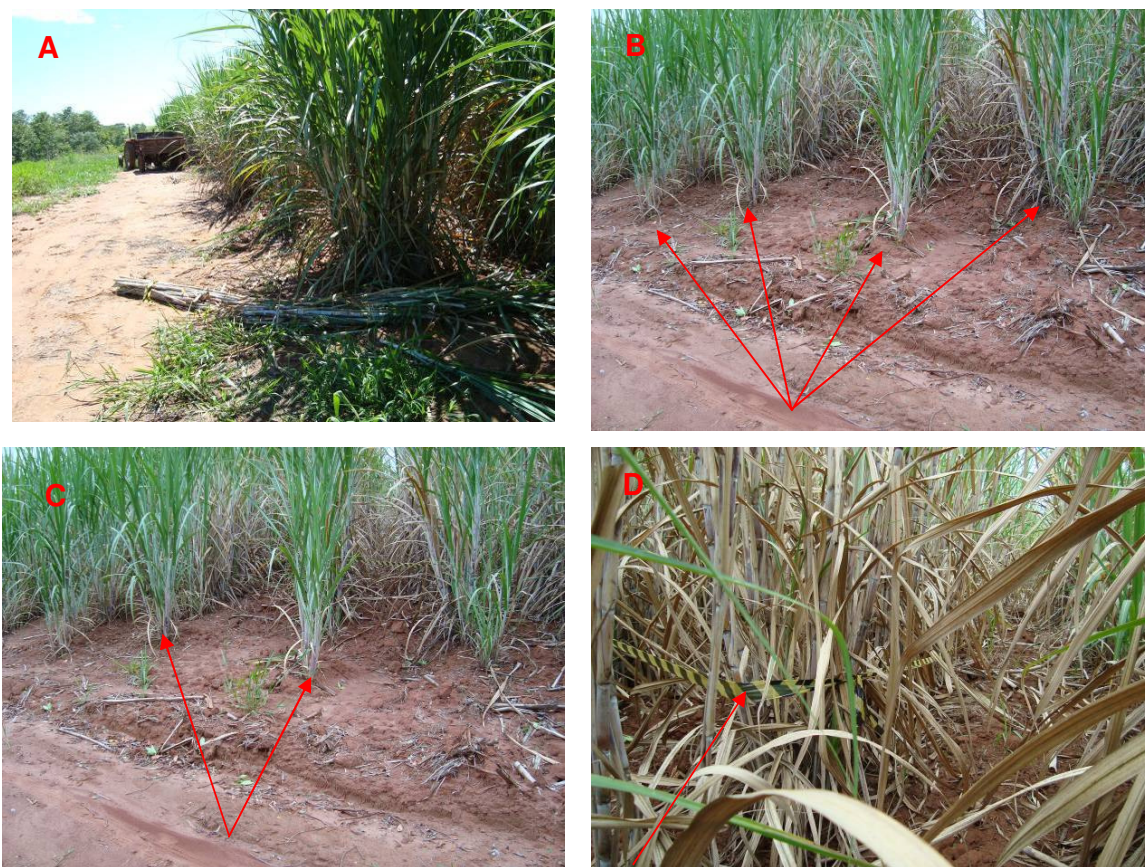


Figura 4: Canavial da Açucareira Virgulino de Oliveira, onde foi montado o experimento. A. Vista geral do canavial. B. Detalhe das 4 fileiras de um dos blocos. C. As fileiras centrais, destinadas para bordadura de cada bloco. D. Detalhe de uma das fileiras (que ficavam à direita) tratadas com NEPs. D. Fita zebra, utilizada para localização e identificação dos blocos de cada área experimental.

Cada uma das fileiras tratadas constituiu uma parcela experimental, com 10 metros de comprimento, contendo de 120 a 160 colmos por fileira (Figura 4 B). As duas fileiras de cana no meio dos blocos foram destinadas à bordadura dos tratamentos (Figura 4 C). Já as fileiras das laterais, à esquerda foram reservadas como tratamento e as da direita como controle, de cada bloco. Para a localização e a identificação dos blocos das áreas experimentais, suas fileiras foram circulares com fita zebra (Figura 4 D).

Em cada fileira tratada foram aplicados 250.000 JIs de *H. baujardi* LPP7 e 20 mL do adjuvante Joint\* Oil®. Já nas fileiras utilizadas como controle, não foram aplicados os NEPs e nem o espalhante adesivo.

A inoculação dos nematóides foi feita nas regiões dos colmos e das folhas das plantas, por meio de pulverização utilizando-se um pulverizador costal, com vazão de 0,29 L/min.e pressão máxima de trabalho de 200 psi (Figura 5). A fim de proporcionar maior eficácia da aplicação do tratamento, procedeu-se “teste em branco” de cada área trabalhada e com este, obteve-se o volume de calda adequado à realidade do canavial trabalhado, que possibilitou o melhor molhamento das plantas. Após a realização deste teste, pulverizou-se 3,5 L da calda (contendo 250.000 JIs de *H. baujardi* LPP7 e 20 mL de Joint\* Oil®) nas fileiras a serem tratadas dos blocos de cada área.

O isolado de nematóide entomopatogênico utilizado neste estudo, *H. baujardi* LPP7, é originário da floresta tropical de Monte Negro, RO, Brasil (Dolinski et al., 2008).



Figura 5: A. Inoculação dos NEPs via pulverização. B. Detalhe do jato da pulverização formado pelo bico.

Em ambos os experimentos, a inoculação dos NEPs foi realizada ao final da tarde, no período mais fresco do dia. Como não havia forma de se avaliar os dois experimentos ao mesmo tempo, as aplicações e as avaliações foram feitas em dias diferentes.

As avaliações foram feitas após sete dias da aplicação dos NEPs, amostrou-se as áreas experimentais. A amostragem foi feita ao acaso (trinta colmos cada bloco tratamento). Em cada um destes pontos, um colmo foi cortado rente ao solo (Figura 6 A), amarados em feixes e identificados de acordo com o bloco e o seu tratamento (Figura 6 B). Estes feixes foram carregados em carreta e transportados para outro local onde foi feita a análise dos colmos (Figura 6 C e D). Cada um dos colmos foi despalhado, cortada sua “ponteira”, observado furos



(externamente) e cortado longitudinalmente (Figura 6 E). Assim foram observadas a presença ou a ausência das larvas de *D. saccharalis* e dos furos causados por sua ação nos colmos.

Os fatores climáticos, temperatura e precipitação foram registrados desde o primeiro dia de implantação até o término do experimento. A temperatura foi registrada por meio de “datalogger” (Watchdog®, Spectrum Technologies, Inc), a cada 30 minutos, com o sensor instalado na mesma altura da região da bainha folhar. Já os índices pluviométricos foram obtidos na estação meteorológica da própria Açucareira Virgulino de Oliveira, unidade de Monções, SP.

Os dados de infestação dos colmos (orfícios e presença da broca) foram comparados à infestação da praga na lavoura; aos aspectos fenológicos da cultura (altura da planta, idade da planta e idade da soca); e aos parâmetros climáticos (temperatura atmosférica e a precipitação pluviométrica).





Figura 6: Avaliação do experimento. A. Corte de colmo rente ao solo. B. Feixes com 30 colmos, identificados por bloco e tratamento. C. Transporte dos colmos, em carreta, das áreas experimentais até local de análise. D. Feixes amontoados, próximo ao local de análise. E. Análise dos colmos. F. Carga com volume do material após análise de broca-da-cana.

Neste experimento a campo, visando o controle da broca-da-cana foram efetuadas análises de variância a 10% (ANOVA). As médias do número de furos e de larvas da BCA encontrados nos colmos, nas plantas tratadas e não tratadas, foram comparados utilizando o teste F ( $P \leq 0,10$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as avaliações das AEs, em determinados colmos de cana-de-açúcar, pôde-se observar externamente excrementos e orifícios de entrada das larvas de *D. saccharalis* (Figura 7 A). Após o corte longitudinal dos colmos foram observadas, galerias perfuradas pela praga, além da própria larva viva em alguns deles (Figuras 7 B e 7 C). Foram observados também sintomas da podridão vermelha, causada pelos fungos *Colletotrichum falcatum* Went e *Fusarium moniliforme* Sheldon (Pinto et al., 2006a) (Figura 7 D).

Seguindo o teste de Shapiro-Wilk, os dados originais não seguiram distribuição normal. Nesse sentido, a utilização da análise de variância não seria adequada em virtude de um dos pressupostos ser a normalidade dos dados. Foi feita então a transformação dos dados para raiz de  $X+0,5$ , conforme preconizado por Pimentel-Gomes (2000). Pelo teste de Bartlett, Curtose e Simetria, os mesmos ainda não foram significativos ( $P < 0,05$ ). Não é regra utilizar 1 ou 5% de

probabilidade, tanto que, existem diversos trabalhos que utilizam a diferença significativa de 10% de probabilidade e assim, utilizou-se essa opção para verificar diferenças entre os tratamentos. Como é o caso de Costa et al. (2007), que em suas avaliações de amostragem de *Orthezia praelonga* Douglas (Hemiptera: Sternorrhyncha, Ortheziidae) na cultura de citros, também trabalharam com 90% de probabilidade de aceitação de suas hipóteses.

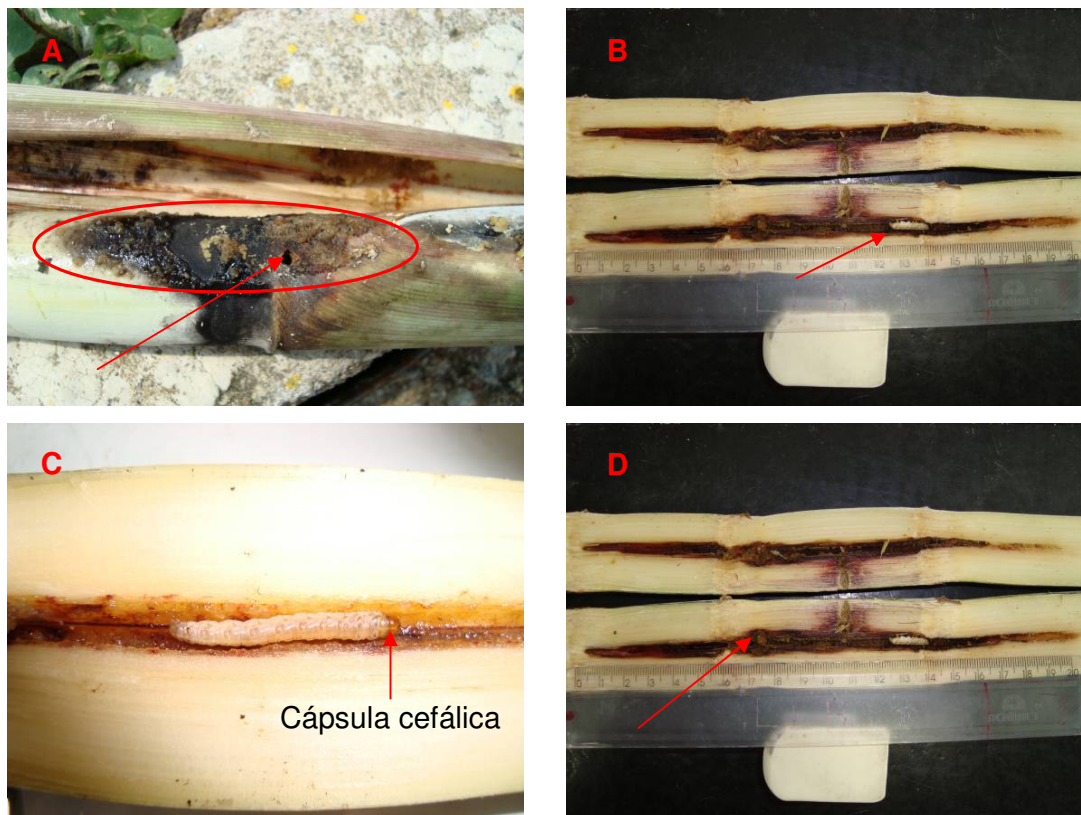


Figura 7: Aspectos característicos do ataque de *D. saccharalis*, observados durante as avaliações dos colmos de cana-de-açúcar. A. A seta aponta o orifício de entrada e a elipse circula os excrementos da *D. saccharalis*, na região da bainha foliar. B. Larva da broca, em galeria perfurada no colmo (o comprimento dessa galeria aproximou-se de 20 cm). C. Detalhe da coloração do corpo e da cápsula cefálica. D. Sintomatologia da podridão vermelha.

Em relação aos furos observados nos colmos analisados, não houve diferença significativa entre os blocos ( $P < 0,4788$ ) a 10% de significância, demonstrando que o experimento foi similar em ambos os blocos. Portanto, as duas áreas apresentaram o mesmo comportamento, não diferenciando significativamente uma da outra ( $P < 0,2639$ ), possibilitando usá-las como repetição e comprovação do experimento.

Não houve interação significativa entre as fontes de variação tratamento e área ( $P < 0,6276$ ). Quanto aos tratamentos, eles diferiram significativamente ( $P > 0,0880$ ). O tratamento que apresentou significativamente o menor número de furos de *D. saccharalis* foi o pulverizado com NEPs (Figuras 8 e 9).

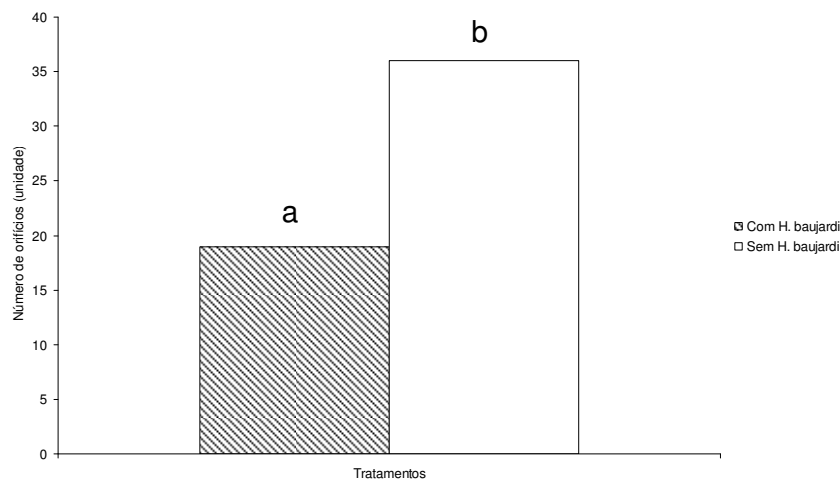


Figura 8: Orifícios causados pela broca-da-cana, em colmos avaliados em cada tratamento da área experimental 1, no canavial da Açucareira Virgulino de Oliveira, Turiúba, SP, 2010. Gráfico com o total, do número de orifícios, em áreas tratadas com *Heterorhabditis bajardi* Phan et al. LPP7.

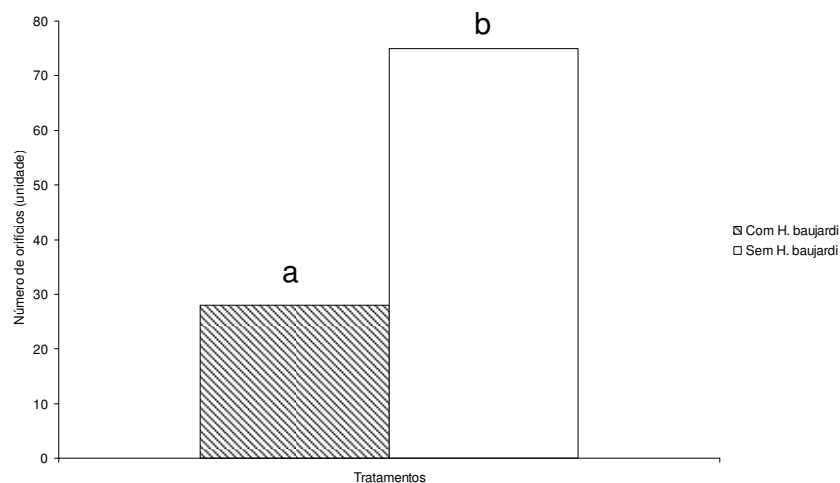


Figura 9: Orifícios causados pela broca-da-cana, em colmos avaliados em cada tratamento da área experimental 2, no canavial da Açucareira Virgulino de Oliveira, Turiúba, SP, 2010. Gráfico com o total, do número de orifícios, em áreas tratadas com *Heterorhabditis bajardi* Phan et al. LPP7.

Também foi feita a análise da variância a 10 % para o total de larvas da broca-da-cana encontradas nos colmos (Tabela 1). Não houve diferença

significativa entre os blocos ( $P < 0,5572$ ). Além disso, não houve diferença significativa entre as áreas ( $P < 0,1078$ ), o que favoreceu sua utilização como repetição do experimento. Entre os tratamentos e as áreas, não houve interação significativa ( $P < 0,3031$ ), assim como entre os tratamentos ( $P < 0,3031$ ).

Tabela 1 – Estimativas dos quadrados médios obtidos pela ANOVA para furos e para larvas de *D. saccharalis* encontrados em colmos no canavial da Açucareira Virgulino de Oliveira, Turiúba, SP, 2010

| Fonte de variação           | Graus de liberdade | Quadrado médio       |                      |
|-----------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
|                             |                    | Furos                | Brocas vivas         |
| Repetição                   | 9                  | 1,2440 <sup>NS</sup> | 0,0623 <sup>NS</sup> |
| Tratamento                  | 1                  | 3,9819*              | 0,1968 <sup>NS</sup> |
| Área                        | 1                  | 1,6543 <sup>NS</sup> | 0,0783 <sup>NS</sup> |
| Trat. X Área                | 1                  | 0,3060 <sup>NS</sup> | 0,0783 <sup>NS</sup> |
| Erro                        | 27                 | 1,2707               | 0,0711               |
| Média Geral                 | -                  | 3,9500               | 0,175                |
| Coeficiente de variação (%) | -                  | 63,38                | 34,31                |

\* significativo pelo teste F em nível de 10% de probabilidade.

Larvas só foram encontradas nos colmos dos tratamentos controle. Nos colmos onde NEPs foram aplicados, apesar de ter sido observado maior número de furos, não foram encontradas larvas. Por isso não houve resgate de JIs de *H. baujardi*. Este fato, possivelmente ocorreu devido às larvas infectadas terem saído dos orifícios dos colmos onde estavam.

Outro exemplo de pesquisadores que avaliaram estatisticamente seus trabalhos a 10% de probabilidade é o caso de Pereira, et al. (2004). Também trabalhando com pragas, eles avaliaram a 10% de probabilidade, a viabilidade de um sistema de amostragem de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em plantas de feijoeiro.

Nos dias de hoje, ainda são bastante escassos os estudos conclusivos recomendando nematóides entomopatogênicos como alternativa de controle de pragas da cana-de-açúcar. Leite et al. (2006) destacam que o ecossistema de um canavial é bastante favorável para a atuação e preservação de nematóides entomopatogênicos, especialmente em áreas com colheitas mecanizadas,

apresentando espessa camada de palha cobrindo o solo. Em laboratório, Leite et al. (2003) utilizaram *Heterorhabditis* sp. (CB-n5) para controle da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar e obtiveram mais de 95% de mortalidade deste inseto. Já em campo, utilizando  $6,6 \times 10^7$  JI/ha a cigarrinha manteve-se controlada com nível de controle acima de 50% por 82 dias. Porém, Georgis et al. (1992) e McCoy et al. (2002) consideram esta dosagem baixa, quando comparada com outras geralmente usadas no controle de pragas com nematóides.

Neste estudo, observou-se que a forma de aplicação líquida por meio de pulverização foi eficiente, pois os juvenis infectantes aplicados suportaram a pressão do pulverizador (máxima de 200 psi). Garcia et al. (2005), estudando a influência da pressurização da calda de pulverização na viabilidade de *Steinernema glaseri* e constataram que, até 200 Psi podem ser utilizados sem perdas na infectividade destes NEPs. De acordo com González (2006), o nematóide entomopatogênico *H. baujardi* LPP7 pode suportar pressões até 340 psi sem ser afetado em sua viabilidade, capacidade de infecção e busca a larvas de *Galleria mellonella*. Essa capacidade que os NEPs, possuem em suportar tal pressão, possibilita a sua liberação em vários tipos de pulverizadores. No Brasil, existem disponíveis vários tipos de pulverizadores de acordo com a forma de deslocamento. É o caso dos costais (tracionados por homem ou animais), padiola, carrinho (homem ou animal), trator (acoplado aos três pontos ou de arrasto), autopropelido e aviação agrícola (Trein & Levien, 2010). Nesse último tipo, a aplicação de NEPs também é viável, pois trabalha em baixa pressão (17 - 45 psi) (Cobb, 2011). Quanto à escolha entre pulverização aérea e terrestre, é importante ressaltar que, na terrestre, além da perda provocada à lavoura, pelo amassamento e compactação do solo, seu custo parcial de aplicação é de US\$ 3,0/ha, contra os US\$ 2,7/ha da aérea (Neiva, 2011). As telas e os filtros dos equipamentos de aspersão devem permitir que os nematóides passem através deles. *S. carpocapsae* Weiser, 1955 pode passar através de telas tão finas quanto 100 micrômetros de diâmetro, mas telas com aberturas maiores são necessárias para espécies maiores como *S. glaseri* Steiner, 1929 e *H. megidis* Poinar, Jackson e Klein, 1987. Portanto retirar os filtros e as telas às vezes é recomendado, mas isto requer re-calibração do equipamento (Grewal, 1998).

Com isso, a adoção da tecnologia de aplicação dos NEPs, via pulverização pode ser viável a pequenos produtores de cana, para uso como

capineira de seu rebanho, produção de aguardente, açúcar mascavo, caldo-de-cana, ou qualquer outro fim, ele poderá aplicar estes inimigos naturais com um pulverizador costal manual, assim como o de 5 L, utilizado neste trabalho.

Outra forma de aplicação de NEPs já testada é através do sistema de irrigação. González (2006) relatou que a aplicação de *H. baujardi* LPP7, via irrigação por microaspersão em goiabal é viável. Porém, principalmente no setor canavieiro, pesquisas testando a liberação destes inimigos naturais via irrigação são escassas. Estudos que comprovem a eficiência da liberação destes inimigos naturais via sistema de irrigação são necessários. Nos canaviais do Brasil, os sistemas de irrigação normalmente utilizados são de pivot central e canhão aspersor.

O uso do adjuvante Joint\* Oil®, possivelmente favoreceu o sucesso do *H. baujardi* LPP7, aplicado via foliar, a campo. Durante o período do experimento dentro do canavial, a temperatura alcançou 43° C (média de 24,3 e mínima de 18,3 ° C) e a umidade relativa atingiu o valor crítico de 34,3 % (máxima de 95,5 e média de 76,0 %). Quanto à precipitação só ocorreu, 5 mm, após 48 horas da aplicação dos NEPs nas áreas experimentais. O Joint\* Oil® certamente agiu como antidessecante, protegendo-os contra a alta temperatura e a baixa umidade ocorridas na área experimental. Por outro lado, em busca de outras alternativas de agentes antidessecantes, Lacey et al. (2010) estudaram em laboratório o efeito do uso de outros produtos, adicionados a formulados de NEPs para o controle da lagarta da maçã. Nesta pesquisa comprovou-se que *Steinernema carpocapsae* (Weiser), *S. feltiae* (Filipjev) e *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, “envolvidos” por amido, argila e espuma de farinha de madeira, tiveram melhorias significativas em sua ação larvicida contra a *Cydia pomonella* (L.). Pesquisas futuras com o uso de tais agentes antidessecantes, em condições de campo, seriam importantes.

Neste trabalho, observou-se em canavial adulto o potencial de *H. baujardi* LPP7 para o controle da *D. saccharalis*, via pulverização foliar. Deve-se, porém, adequar esta tecnologia de controle da broca de acordo com a realidade de cada produtor de cana-de-açúcar, ou seja, a forma de aplicação foliar que se enquadra à sua condição financeira. Para isso, são de suma importância, estudos que comprovem a viabilidade das aplicações nos grandes pulverizadores, na irrigação por aspersão e na pulverização aérea.

## CONCLUSÃO

- Houve diferença significativa do número de orifícios das fileiras de cana-de-açúcar tratadas com *H. baujardi* para o controle da *D. saccharalis* e das fileiras não tratadas;
- A aplicação foliar do *H. baujardi* LPP7 em formulação aquosa, via pulverização em canavial foi eficiente;
- E, portanto, com base nos resultados, a pulverização foliar de formulado aquoso de *H. baujardi* Phan et al. LPP7, para o controle da *D. saccharalis*, é uma tecnologia de potencial tanto para os pequenos, quanto para os grandes produtores de cana-de-açúcar.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrobyte (2011) Cana. Broca-da-cana: [http://www.agrobyte.com.br/index.php?pag=cana&cana=broca\\_da\\_cana](http://www.agrobyte.com.br/index.php?pag=cana&cana=broca_da_cana) em 17/01/11 página mantida pela AGROBYTE.
- Almeida, L.C. (2005) Bicudo da cana-de-açúcar. Boletim Técnico C. T. C., Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, p. 1-3.
- Botelho, P.S.M.; Parra, J.R.P.; Neto, J.F.C.; Oliveira, C.P.B. (1999) Associação do Parasitóide de Ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do Parasitóide Larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no Controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em Cana-de-açúcar. An. Soc. Entomol. Brasil 28(3): 491-496.
- Cabanillas, H.E. (2003) Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. Journal of Invertebrate Pathology, v. 82, p. 188-197.
- Campos, M.B.S.; Macedo, N. (2004) Cana-de-açúcar - ampliando campo de ataque. Cultivar: Grandes Culturas, Pelotas, v.6, n. 68, p.23-26.
- Cobb. (2011) Calibração das aeronaves e técnicas de aplicação em BVO®: <http://www.bioaeronautica.com.br/manuais/manual-bvo-aereo-pg4.php> em 12/02/2011 página mantida pelo Centro Brasileiro de Bioaeronáutica.
- Conab. (2011) Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, janeiro/2011. Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília.
- Costa, M.G.; Barbosa, J.C.; Yamamoto, P.T. (2007) Planos de amostragem seqüenciais para *Orthezia praelonga* Douglas (Hemiptera: Sternorrhyncha, Ortheziidae) na cultura de citros. Neotropical Entomology 36(6):932-938.

- Del Vallb9e, E.E.; Dolinski, C.; Barreto, E.L.S.; Souza, R.M.; Samuels, R.I. (2007) Efficacy of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) insect cadavers to *Conotrachelus psidiil* (Coleoptera: Curculionidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology*, v. 18, p. 33-41.
- Dolinski, C.; Kamitani, F.L.; Machado, I.R.; Winter, C.E. (2008) Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 103(2): 150-159, March.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zuchhi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D. (2002) *Entomologia agrícola*. São Paulo: Ceres. 920p.
- Garcia, L.C.; Raetano, C.G.; Wilcken, S.R.S.; Ramos, H.H.; Leite, L.G.; B. Filho, A.; Moscardi, F. (2005) Pressurização da calda de pulverização na viabilidade de microrganismos entomopatogênicos. *Eng. Agríc. Jaboticabal*, v.25, n.3, p.783-790, set./dez.
- Georgis, R.; Hom, A. (1992) Introduction of entomopathogenic nematode products into Latin America and the Caribbean. *Nematropica*, v.22, p.81-98.
- Gitahy, P. de M.; Galvão, P.G.; Araújo, J.L.S.; Baldani, J.I. (2006) Perspectivas biotecnológicas de *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 44p.
- González, J.C.L. (2006) Avaliação de aspectos biológicos de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Heterorhabditidae) visando a aplicação num sistema de irrigação por microaspersão. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 88p.

- Grewal, P.S. (1998) Formulation of entomopathogenic nematodes for storage and application. *Japanese Journal of Nematology* 28: 68-74.
- Huang, F.; Leonard, B.R.; Wu, X. (2007) Resistance of sugarcane borer to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124, 117–123.
- Lacey, L.A.; Shapiro-Ilan, D.I.; Glenn, G.M. (2010) Post-application of anti-desiccant agents improves efficacy of entomopathogenic nematodes in formulated host cadavers or aqueous suspension against diapausing codling moth larvae (Lepidoptera: Tortricidae). *Biocontrol Science and Technology*. Vol. 20, nº 9, p. 909-921.
- Leite, L.G.; Tavares, F.M.; Bussóla, R.A.; Amorim, D.S.; Ambrós, C.M.; Harakava, R. (2007) Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) contra larvas da mosca-dos-fungos (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhbditis indica* Poinar et al. 1992 em substratos orgânicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.74, p.337-342.
- Leite, L.G.; Machado, L.A.; Ambrós, C.M.; Taváres, F.M. (2006) O uso de nematóides entomopatogênicos no controle de pragas da cana-de-açúcar. *In: Pinto, A.S. Controle de pragas da cana-de-açúcar*. 1 ed. Sertãozinho, BIOCONTROL, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, 1).
- Leite, L.G.; Machado, L.A.; Aguilera, M.M.; Batista Filho, A.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M. (2003) Uso de nematóides entomopatogênicos em cana-de-açúcar. Resumos apresentados no XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia. P.232. Vol. 27(2).
- Macedo, N.; Macedo, D. (2007) Manejo da broca protege produtividade. *Correio Agrícola*, São Paulo, n.1, p.26-27.
- Marucci, R (2006) Controle biológico da broca-da-cana: <http://www.rehagro.com.br>

r/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1247 em 15/01/2011 página mantida pela REHAGRO.

Mccooy, C.W.; Duncan, L.W.; Stuart, R.J.; Shapiro, D.W. (2002) Development of entomopathogenic nematodes as a management tactic for citrus root weevils in Florida, pp. 110-114. *In: International colloquium on invertebrate pathology, 8., Fóz do Iguaçú. Proceedings.* Fóz do Iguaçú: Society for Invertebrate Pathology.

Minas, R.S.; Burla, R.S.; Machado, I.R.; Robaina, R.R.; Dolinski, C.M.; Souza, R.M. (2008) Controle biológico de *Ceratitis capitata* utilizando o nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis baujardi* Lpp7 a campo. *In: Anais do VII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba.*

Neiva (2011) Vantagens da pulverização aérea: [http://www.aeroneiva.com.br/site/content/produtos/produtos\\_ipanema\\_vant\\_pulv.asp](http://www.aeroneiva.com.br/site/content/produtos/produtos_ipanema_vant_pulv.asp) em 12/02/2011 página mantida pela Industria Aeronáutica Neiva Ltda.

Pappa, T.N.A.; Viel, S.R.; Carvalho, J.S. (2007) Efeito do número de brocas da cana-de-açúcar por caixa de desenvolvimento no tempo gasto para produção em laboratório de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu: Sociedade de Ecologia do Brasil.* 23 a 28 de setembro.

Pereira, M.F.A.; Boiça Jr., A.L.; Barbosa, J.C. (2004). Amostragem seqüencial (Presença-Ausência) para *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Neotropical Entomology* 33(4):499-504.

Pimentel, G.F. (2000) O uso da regressão na análise de variância. *In: Pimentel G.F. Curso de Estatística Experimental, 14. ed.* Piracicaba: Frederico Pimentel-Gomes (editor), p. 236-260.

- Pinto, A.S.; Cano, M.A.V.; Santos, E.M. (2006a) A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. In: *Controle de pragas da cana-de-açúcar*. 1 ed. Sertãozinho, BIOCONTROL, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, 1).
- Pinto, A.S.; Garcia, J.F.; Oliveira, H.N. (2006b) Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar. In: Segato, S.V., Pinto, A.S., Jendiroba, E., Nóbrega, J.C.M. de. *Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415p.
- Ramos-Rodríguez, O.; Campbell, J.F.; Ramaswamy, S.B. (2007) Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the stored-product insect pest *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *Biological Control*, v.40, p.15-21.
- Rodrigues, D. (2011) Crescimento do setor sucroalcooleiro é resultado da forte demanda mundial, afirma Ministério da Agricultura: <http://www.jallesmachado.com.br/saladeimprensa/2011/01/crescimento-do-setor-sucroalcooleiro-e-resultado-da-forte-demanda-mundial-afirma-ministerio-da-agricultura/> em 14/01/2011 página mantida pela JALLES MACHADO S/A.
- Rosa, J.M.O.; Wilcken, S.R.S.; Wilcken, C.F.; Leite, L.G. (2008) Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) ao Cupim de Montículo *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae). *Nematologia Brasileira*. Piracicaba, S.P. Vol. 32(4).
- Toledo, J.; Rasgado, M.A.; Ibarra, J.E.; Gómez, A.; Liedo, P.; Willians, T. (2005) Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophaga* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, Abingdon. v.15, n.6, 627-634p.
- Trein, C.R.; Levien, R. (2010) Pulverizadores agrícolas: <http://www.scribd.com/doc/22169337/MECANIZACAO-AGRICOLA-Pulverizadores-Agricolas> em 12/02/2011 página mantida pela SCRIBD.

**NEMATÓIDE ENTOMOPATOGÊNICO *Heterorhabditis baujardi* LPP7 PHAN  
(RHABDITIDA: HETERORHABDITIDAE) PARA O CONTROLE DE  
FITONEMATÓIDES EM CANAVIAL**

**RESUMO**

Muitas espécies de nematóides fitopatogênicos (NFs) são encontradas em canaviais brasileiros, causando ao sistema radicular a diminuição da quantidade de radículas, prejudicando a sua capacidade em absorver água e nutrientes e conseqüentemente tornando as plantas menores, raquíticas, cloróticas, murchas nas horas mais quentes do dia e menos produtivas. Dentre as espécies de NFs mais importantes aos canaviais brasileiros, destacam-se *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus zaeae*, e o método de controle mais utilizado é o controle químico. Porém, devido aos custos dos nematicidas e à agressividade que eles causam ao meio ambiente, deve-se buscar alternativas, como o uso de agentes biológicos. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar *Heterorhabditis baujardi* LPP7 no controle dos principais NPs da cana-de-açúcar. Para isso, 10 blocos foram montados ao acaso em canavial infestado por NPs. Em cada bloco separou-se fileiras de cana, destinadas ao tratamento (aplicação de formulado aquoso contendo  $2,5 \times 10^8$  JIs/ha) e controle. O experimento teve duração de dois anos, com três aplicações e quatro avaliações anuais. Para as avaliações, amostrou-se previamente a área experimental (canavial), por meio de coletas de três amostras de cada fileira destinada ao tratamento e três de cada fileira destinada ao controle. Cada uma destas três amostras foi homogeneizada formando uma amostra composta de cada bloco, de cada tratamento. De cada

amostra composta, por tratamento e de cada bloco, separou-se 5 gramas de raízes e 100 gramas de solo. As amostras de raízes e de solo sofreram processamentos distintos de extração de nematóides e originaram 40 alíquotas de 10 mL, cada uma destas foi separada em tubos de ensaio e identificada por tratamento e bloco. De cada alíquota de solo os NFs encontrados foram classificados e contados separadamente. Neste experimento, os resultados foram analisados estatisticamente por ANOVA e teste de Tukey a 5 % de probabilidade demonstrando que, de acordo com o estágio do canavial (cana planta e cana soca), com o momento da aplicação dos NFs (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup>), e com o tipo de amostragem (solo e raíz), os tratamentos que receberam a formulação aquosa de *H. baujardi* LPP7, os números de NFs encontrados por gênero (*Helicotylenchus*, *Macrosposithonia*, *Dorylaimidae*, *Pratylenchus*, *Hoplolaimus*, *Meloidogyne* e *Tylenchidae*) foram significativamente menores do que nos tratamentos sem NEPs. Portanto, de acordo com os dados deste trabalho de campo, pode-se concluir que *H. baujardi* LPP7 possui potencial de controle dos principais nematóides fitopatogênicos da cana-de-açúcar.

### ABSTRACT

Many species of pathogenic nematodes (NFs) are found in Brazilian sugar-cane, causing the root system decreased number of tubers, hampering their ability to absorb water and nutrients and thus making the smaller plants, stunted, chlorotic, wilted in the hottest hours of the day and less productive. Among the most important species of NFs to Brazilian sugar-cane in average, *Meloidogyne javanica* and *Pratylenchus zea* cause about 20 to 30% reduction in productivity. In return, trying to avoid the damage caused by them, the control method used and more efficient is chemical control. However, due to the costs of nematicides and aggressiveness that they cause to the environment, must be sought alternatives, such as the use of biological agents for control of nematodes of cane sugar. Thus, as the nematodes entomopathogenic (NEPs) have become an important tool in integrated management, the objective of this study was to evaluate *Heterorhabditis baujardi* LPP7 in control of the main NPs sugar-cane. Therefore, 10 blocks were arranged randomly in sugar-cane fields infested with

NPs. In each block separated rows of cane, for the treatment (application of aqueous formulated containing  $2,5 \times 10^8$  IJs / ha) and control. The experiment lasted two years, with 3 applications and 4 ratings annually. For the evaluations, we first sampled the experimental area (sugar-cane), through collection of three samples for each row treatment and 3 for each row of the control. Each of these 3 samples were homogenized to form a composite sample of each block, each treatment. From each composite sample per treatment and each block, split root 5 grams and 100 grams of soil. The samples of roots and soil processes have suffered from different extraction of nematodes and resulted 10mls 40 aliquots, each one of these were separated into tobozo testing and identified for treatment and block. Aliquot of each soil found NFs were classified and counted separately. In this experiment, the results were statistically analyzed by ANOVA and Tukey test at 5% demonstrating that probability, according to the stage of sugar-cane (cane and ratoon cane) with the time of application of NFs (1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th and 6th), and the type of sampling (soil and root), the treatments that received the aqueous formulation *H. baujard* LPP7 the numbers of NFs found by gender (*Helicotylenchus*, *Macrosposythonia*, *Dorylaimidae*, *Pratylenchus*, *Hoplolaimus*, *Meloidogyne* and *Tylenchidae*) were significantly lower than in treatments without NEPs. Therefore, according to the data from this fieldwork, we can conclude that *Heterorhabditis baujard* LPP7 has potential to control major pathogenic nematodes of cane sugar.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, muitas espécies de nematóides são encontradas em associação à cana-de-açúcar, porém três são economicamente importantes em função dos danos que causam à cultura: *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (Tylenchide: Heteroderidae), *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *Pratylenchus zae* (Graham, 1951) (Tylenchide: Pratylenchidae) (Lordello, 1981; Moura et al., 1990; Novaretti & Téran, 1983). Altas populações de pelo menos uma destas espécies são encontradas em muitos canaviais pouco produtivos (Dinardo-Miranda, 2006). De acordo com Dinardo-Miranda (2005), *P. brachyurus*



(Tylenchide: Pratylenchidae) também é muito comum em canaviais brasileiros, apesar de que sua patogenicidade para esta cultura não está estabelecida.

O ataque dos nematóides à cana-de-açúcar restringe-se às raízes, de onde extraem nutrientes para o crescimento e desenvolvimento, resultando em deformações, como as galhas provocadas por *Meloidogyne*, e extensas áreas necrosadas, quando os nematóides presentes são *Pratylenchus*. Em consequência do ataque dos nematóides, as raízes tornam-se pobres em radículas e incapazes de absorver água e nutrientes necessários para o bom desenvolvimento das plantas que, conseqüentemente, ficam menores, raquíticas, cloróticas, murchas nas horas mais quentes do dia e menos produtivas. Em condições de campo, são verificadas reboleiras de plantas menores e cloróticas entre outras de porte e coloração aparentemente normais (Dinardo-Miranda, 2006).

Muitos fatores interferem na grandeza dos danos causados por fitonematóides, entre os quais as espécies presentes na área, o nível populacional em que se encontram e a variedade cultivada, é o que permite concluir a análise criteriosa de dados experimentais e de diversas áreas comerciais. Cerca de 20 a 30% de redução de produtividade no primeiro corte de variedades suscetíveis são causados por *M. javanica* e *P. zaeae*. *M. incognita* pode ocasionar perdas maiores, em torno de 40%. Em casos de variedades suscetíveis e níveis populacionais mais altos, as perdas provocadas por fitonematóides podem chegar a até 50% da produtividade. Os danos não se restringem à cana planta; os nematóides também reduzem as produtividades das soqueiras e, conseqüentemente, a longevidade do canavial (Dinardo-Miranda, 2006).

O controle químico é o método mais utilizado e eficiente para os fitonematóides da cana-de-açúcar (Rossetto e Santiago, 2010). Quando recomendado o uso de defensivos químicos no plantio, estes são aplicados no sulco, sobre os toletes, imediatamente antes da cobertura. Já nas soqueiras, deve-se aplicá-los ao lado da linha de cana-de-açúcar ou sobre elas, sempre incorporada ao solo (Dinardo-Miranda, 2008).

A resistência de pragas a agrotóxicos e os elevados custos dos produtos químicos têm estimulado a busca por agentes biológicos menos agressivos ao meio ambiente, e de menor impacto financeiro à agricultura (Costa *et al.*, 2001).

Para que medidas de controle ou manejo possam ser adequadamente utilizadas é imprescindível conduzir um levantamento nematológico, com a finalidade de identificar quais as áreas com problemas de nematóides. Tal levantamento inclui a coleta de amostras de raízes e de solo e envio para análise em laboratório (Dinardo-Miranda, 2005).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de *Heterorhabditis baujardi* Phan LPP7, aplicados em formulação aquosa, sobre a densidade populacional de nematóides fitoparasitos levantados de canaviais da região de Campos dos Goytacazes, RJ.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

Os trabalhos de campo foram desenvolvidos em canavial da Usina sucroalcooleira Sapucaia, situada no município de Campos dos Goytacazes, RJ.

Conforme o sistema de classificação de Köppen, o clima da região Norte Fluminense é do tipo Aw, tropical quente e úmido, com período seco no inverno e chuvoso no verão, com precipitação média anual em torno de 1020 mm (Daher et al., 2002).

*Heterorhabditis baujardi* LPP7 foi multiplicado em larvas no último instar de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) na criação mantida no LEF. As infestações destas larvas foram feitas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel filtro umedecidas com 2 mL de suspensão de nematóides com aproximadamente 200 JIs. Tais placas foram seladas com filme plástico, identificadas e acondicionadas em BOD a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e UR > 80%, durante 48 horas. Após a morte das lagartas, os cadáveres, foram transferidos para armadilhas de White modificadas (White, 1927). A emergência dos JIs dos cadáveres de *G. mellonella*, ocorreu com 11 a 12 dias. Eles foram coletados com pipetas Pasteur em dias alternados, identificados quanto à data de coleta, acondicionados em garrafas de cultura de células de 1000 mL e armazenados em câmara climatizada a  $16 \pm 1^\circ\text{C}$  e UR > 80%.

O experimento foi conduzido por dois anos, em canavial comercial, no delineamento de blocos casualizados com 2 tratamentos e 10 repetições, com ou sem *H. baujardi* para o controle dos fitonematóides presentes no talhão. A unidade experimental consistiu de uma fileira de cana, com 10 metros de comprimento, contendo aproximadamente 100 colmos. Entre as parcelas com e sem tratamento manteve-se duas fileiras de cana, como bordaduras (Figura 1).

A população de fitonematóides foi previamente amostrada entre as parcelas. Em cada um dos blocos, foram coletadas seis subamostras de solo (três das fileiras a serem tratadas e três das fileiras não tratadas), de 25 cm de profundidade, por fileira, na projeção das folhas utilizando-se um trado (Figura 2). Para cada tratamento, as subamostras de cada bloco foram homogeneizadas em balde a fim de se obter uma única amostra composta.

Após se coletar todas as amostras compostas, homogeneizaram-se estas sobre uma lona plástica e por fim, pesou-se 100 gramas de solo para formar 1 amostra composta. Estas amostras foram devidamente identificadas de acordo com o bloco e o tratamento. Também de cada amostra composta, foram separados 5 gramas de raízes, identificando-as por tratamento e por bloco, para serem utilizadas na extração de fitonematóides. Simultaneamente às amostragens, foram determinadas a umidade e a temperatura do solo “datalogger” (Watchdog®, Spectrum Technologies, Inc), a cada 30 minutos, com o sensor colocado dentro do buraco de coleta de solo, a 25 cm de profundidade. Já os índices pluviométricos foram obtidos através do Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet).

Coletadas as amostras de solo, estas foram acondicionadas em sacos plásticos, colocadas em caixas térmicas e levadas ao LEF/UENF a fim de se proceder a homogeneização do solo, separação das raízes e a extração dos nematóides, tanto do solo, quanto das raízes. A extração dos nematóides do solo foi feita por meio da combinação dos métodos de peneiramento com flotação e centrifugação em solução de sacarose (Coolen & D’Herde, 1972). Para a extração dos nematóides das raízes, cada amostra de raízes foi triturada em liquidificador, por 10 segundos em velocidade máxima em 200 mL de água. Os nematóides obtidos em solo e raízes foram observados ao microscópio ótico (Jenamed), quantificados e identificados através de chaves taxonômicas.

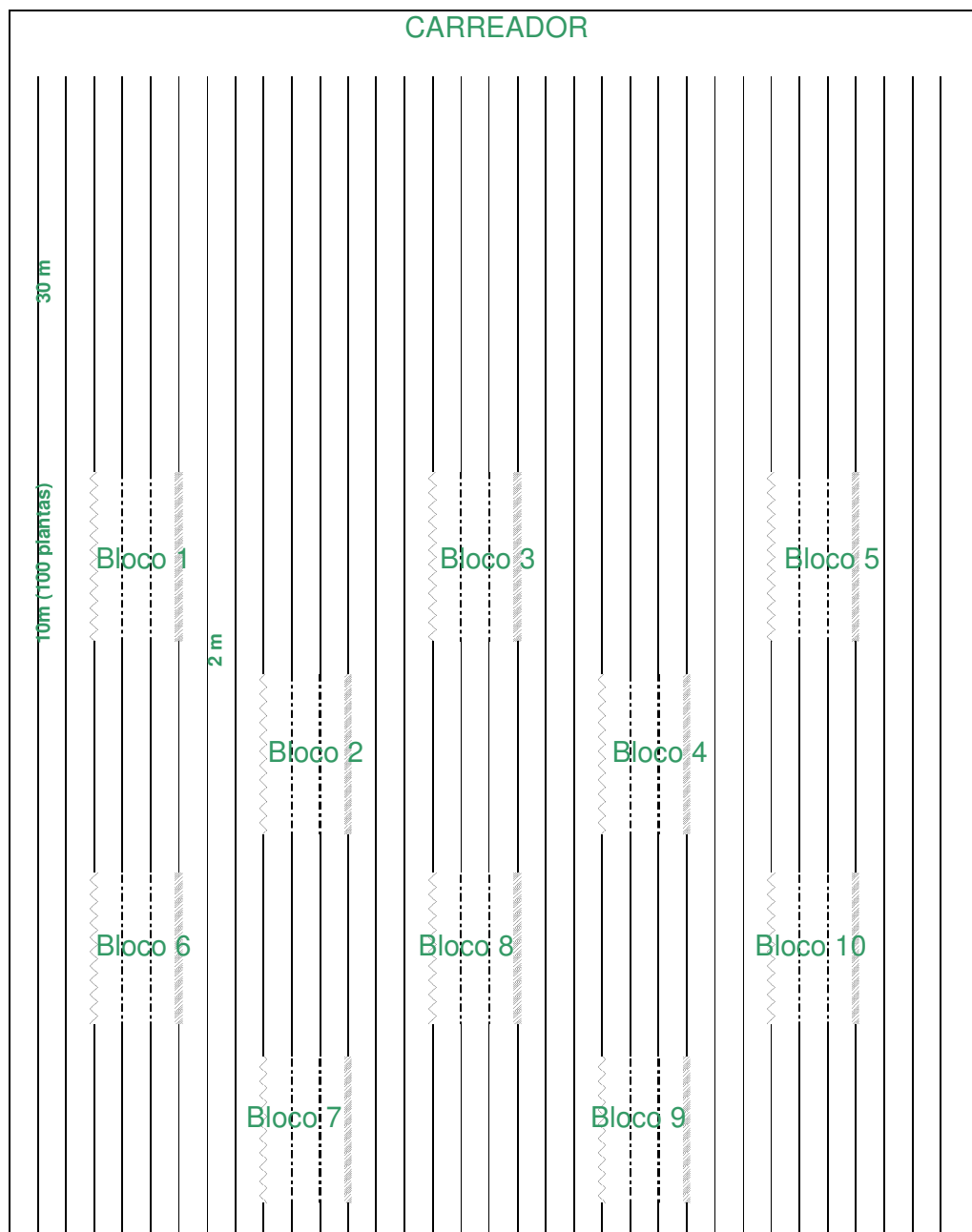


Figura 1. Croqui do arranjo da área experimental, localizada em canal da Usina Sapucaia S/A, em Campos dos Goytacazes, RJ.

- ▨ Fileiras de cana-de-açúcar que foram tratadas com *H. baujardi*
- ⋯ Fileiras de cana-de-açúcar utilizadas como bordaduras dos blocos
- 〰 Fileiras de cana-de-açúcar que não foram tratadas com *H. baujardi*
- Fileiras de cana-de-açúcar ao redor dos blocos



Figura 2: Amostragem de solo em canal da Usina Sapucaia S/A, onde foi montado o experimento. A. Amostragem de solo a 25 cm. B. Trado com amostra de solo coletada. C. Furo do solo, após coleta. D. Retirada de amostra do solo do trado.

Quatro meses após o plantio do talhão da cana, foram aplicados com pulverizador manual (Brudden SS - 5 litros), juvenis infectantes de *H. baujardi* LPP7 ao lado da linha de plantio, na dosagem  $2,5 \times 10^8$  JIs/ha, totalizando  $3,75 \times 10^6$  JI/ensaio (Figura 3). Decorrida uma semana foram re-amostradas solo e raízes nas parcelas experimentais.



Figura 3: A. Aplicação do formulado com *Heterorhabditis baujardi* LPP7, em canal da Usina Sapucaia, via pulverizador costal manual, para avaliação do controle de fitonematóides. B. Detalhe do spray pulverizado.

Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Para se avaliar os dados estatisticamente, realizaram-se análises de variância a 5% (ANOVA). A significância, dos níveis populacionais dos fitonematóides foi comparada, pelo teste Tukey ( $P=0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse experimento, considerando os gêneros e famílias de fitonematóides importantes para a cana-de-açúcar, foram encontrados *Helicotylenchus* sp., *Macrosposithonia* sp., *Pratylenchus* sp., *Hoplolaimus* sp., *Meloidodyne* sp., diferindo-se entre si de acordo com os estádios de cana planta e cana soca. Registrou-se também a presença de nematóides da família Dorylaimidae e Tylenchidae, ambas não identificadas em nível de gênero. Além disso, observou-se que os tratamentos com e sem *H. baujardi* diferiram entre si para alguns gêneros e não diferiam para outros, também durante os estádios (da lavoura) de cana planta e cana soca. A finalização de cada um desses estádios se deu, pela queimada e colheita da cana-de-açúcar, no período adequado de sua ocorrência.

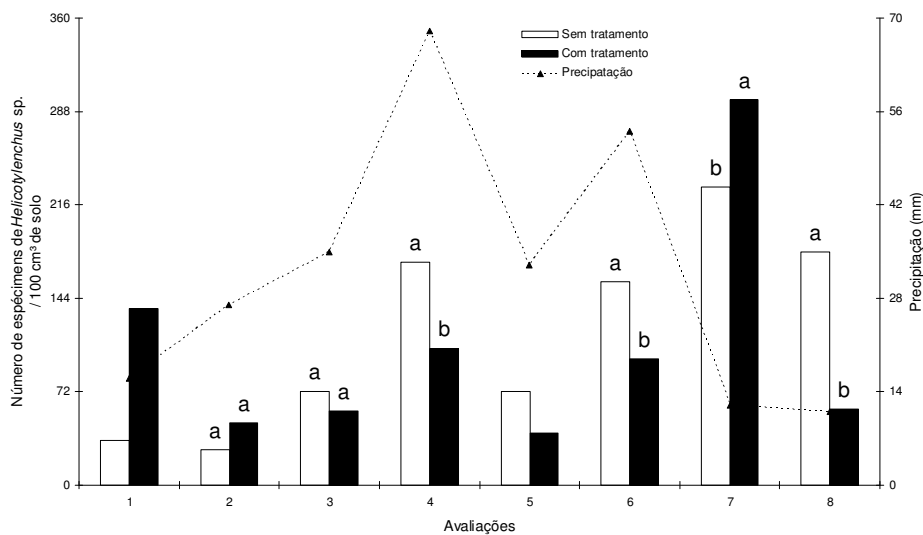
Tanto na cana planta, quanto na soca, a primeira avaliação foi importante para se ter o número inicial de fitonematóides da área, por estádio da lavoura. Após a primeira avaliação ocorreram três aplicações de *H. baujardi* e suas posteriores avaliações. Em todas as avaliações o número médio de fitonematóide também diferiu por gênero, entre as amostragens de solo e de raízes do canavial.

### ***Helicotylenchus* sp.**

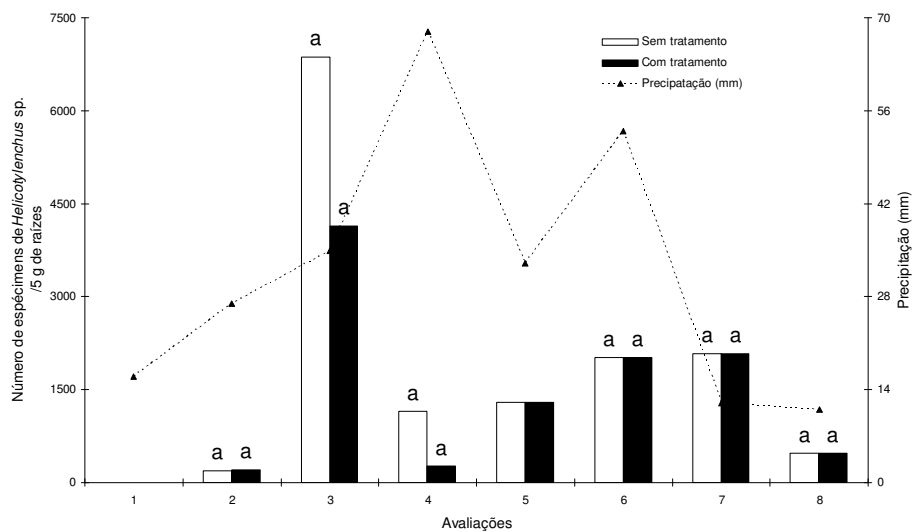
Em cana planta, constatou-se que o número de indivíduos do *Helicotylenchus* sp. aumentou no decorrer das três aplicações de NEPs (Fig. 4A). Nos tratamentos com NEPs e sem NEPs, a quantidade deste nematóide por 100cm<sup>3</sup> de solo foi respectivamente de 136 e 34 na 1ª avaliação; 48 e 27 na 2ª avaliação; 57 e 72 na 3ª avaliação e de 105 e 172 na 4ª avaliação. Não houve diferença significativa do número de *Helicotylenchus* sp. entre os tratamentos, nas aplicações de NEPs 1 ( $P<0,01$ ; gl = 1; F = 0,5587) e 2 ( $P<0,01$ ; gl = 1; F = 0,2850)

(Tabela 2). Porém, com a 4ª avaliação, observou-se que o número deste fitonematóide foi significativamente maior no tratamento sem NEPs ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 5,6871$ ) (Tabela1).

### A



### B



Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 4: Número médio de *Helicotylenchus sp.* encontrado em amostras de solo e de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canal da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca. A. Amostragem de solo. B. Amostragem de raízes.

Na cana soca, o número populacional de *Helicotylenchus* sp. diminuiu após a 4ª avaliação, atingiu o pico máximo na 7ª avaliação e caiu novamente na 8ª avaliação de fitonematóides do canavial (Fig. 4A). Nos tratamentos com e sem NEPs, os números populacionais de *Helicotylenchus* sp., foram respectivamente de 40 e 72 na 5ª avaliação; 97 e 157 na 6ª avaliação; 297 e 230 na 7ª avaliação e de 59 e 180 por 100cm<sup>3</sup> de solo na 8ª avaliação. Todavia, nas avaliações 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 4,5608$ ), 7 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 5,6871$ ) e 8 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 18,5489$ ) os números de *Helicotylenchus* sp., encontrados por 100cm<sup>3</sup> de solo, diferenciaram significativamente ( $P < 0,01$ ) entre seus tratamentos (Tabela 1).

Em relação à cana soca, assim como nas amostras de solo, observou-se maior número populacional de *Helicotylenchus* sp., do que no período de cana planta. Nas amostragens da soca, em ambos os tratamentos, foram encontrados 1304, 2026, 2077 e 467 nematóides, para cada 5 gramas de raízes, respectivamente nas avaliações 5, 6, 7 e 8 (Fig. 4B). Assim, não houve diferença significativa entre os tratamentos das aplicações 4 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ), 5 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ) e 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ), neste experimento (Tabela 2).

Nas amostras de raízes, em cana planta, observou-se uma elevação do número de *Helicotylenchus* sp., com um pico máximo na 3ª avaliação e consecutiva queda na 4ª avaliação, ou seja, após a 3ª aplicação do *H. baujardi* (Fig. 4B). Para cada 5 gramas de raízes coletadas, nos tratamentos com e sem os NEPs, o número médio de *Helicotylenchus* sp., respectivamente foi de 2 e 1 na 1ª avaliação; 202 e 196 na 2ª avaliação; 4136 e 6872 na 3ª avaliação e de 270 e 1154 na 4ª avaliação 3ª aplicação de NEPs. Mas, significativamente, não houve diferenças entre cada tratamento das aplicações 1 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,00001$ ), 2 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 2,5313$ ) e 3 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,2646$ ) (Tabela 2).

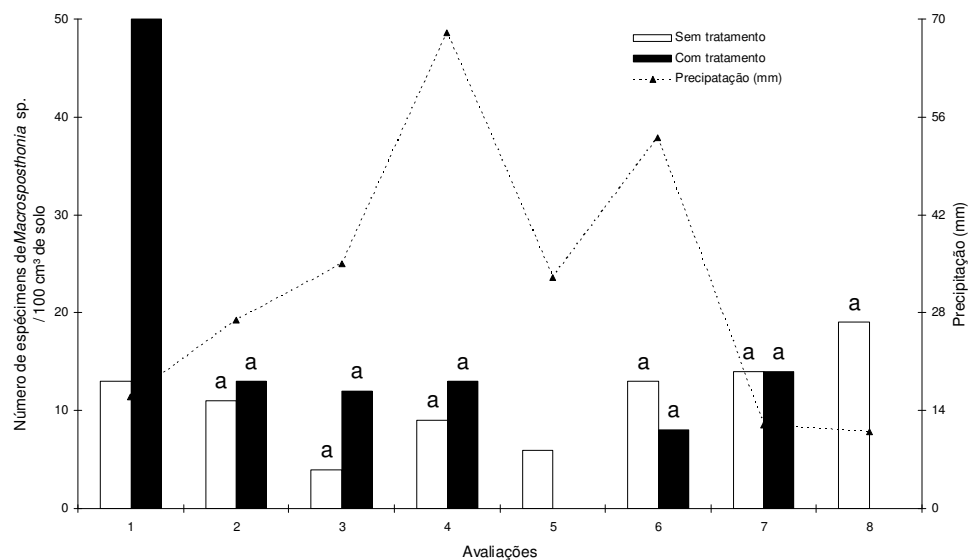
Em relação à cana soca, assim como nas amostras de solo, observou-se maior número populacional de *Helicotylenchus* sp., do que no período de cana planta. Nas amostragens da soca, em ambos os tratamentos, foram encontrados 1304, 2026, 2077 e 467 nematóides, para cada 5 gramas de raízes, respectivamente nas avaliações 5, 6, 7 e 8 (Fig. 4B). Assim, não houve diferença significativa entre os tratamentos das aplicações 4 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ), 5 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ) e 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ), neste experimento (Tabela 2).



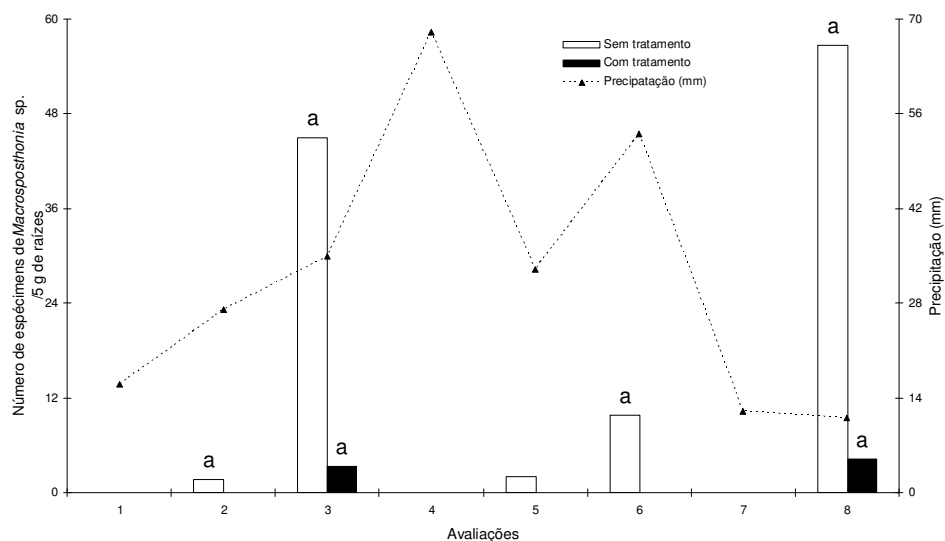
### *Macrosposthonia* sp.

No caso do gênero *Macrosposthonia* sp. as amostras de solo da área experimental em cana planta, apresentaram no início do experimento, na primeira avaliação, número de nematóides maior do que após a 3ª aplicação dos NEPs.

**A**



**B**



Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Figura 5: Número médio de *Macrosposthonia* sp. encontrado em amostras de solo e de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canal da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca. A. Amostragem de solo. B. Amostragem de raízes.

O número de *Macrosposhonia* sp., por 100cm<sup>3</sup> de solo, nos tratamentos com e sem *H. baujardi*, respectivamente foi de 50 e 13 na 1ª avaliação; 13 e 11 na 2ª avaliação; 12 e 4 na 3ª avaliação e de 13 e 9 na 4ª avaliação (Fig. 5A). Mas, não houve diferença significativa do número populacional deste gênero de fitonematóide, entre os tratamentos na 1ª aplicação ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0812$ ), na 2ª aplicação ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,2997$ ) e na 3ª aplicação ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,3249$ ) de NEPs (Tabela 1).

Amostras de raízes na fase de cana planta apresentaram menor número deste fitonematóide, do que nas amostras de solo. Em cada 5 gramas de raízes, o número de *Macrosposhonia* sp., respectivo para os tratamentos com NEPs e sem, foi de 0 em ambos os tratamentos da 1ª avaliação; 0 e 1,7 na 2ª avaliação; 3,3 e 45 na 3ª avaliação e novamente 0 na 4ª avaliação para ambos os tratamentos (Fig. 5B). Porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos da 2ª aplicação de NEPs ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,3249$ ) Tabela 1.

Em relação à cana soca, avaliações de amostras de solo mostraram maior número de *Macrosposhonia* sp. nos tratamentos sem NEPs, nas avaliações 5, 6 e 8. Cada tratamento com e sem NEPs apresentou respectivamente 0 e 2 na 5ª avaliação; 0 e 9,8 na 6ª avaliação; 0 para ambos os tratamentos da 7ª avaliação e 4,3 e 56,7 nematóides para cada 100 gramas de solo analisado (Fig. 5A). Contudo, não houve diferença significativa entre os tratamentos, nas avaliações 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,5077$ ), 7 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ) e 8 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 7,3315$ ) (Tabela 1).

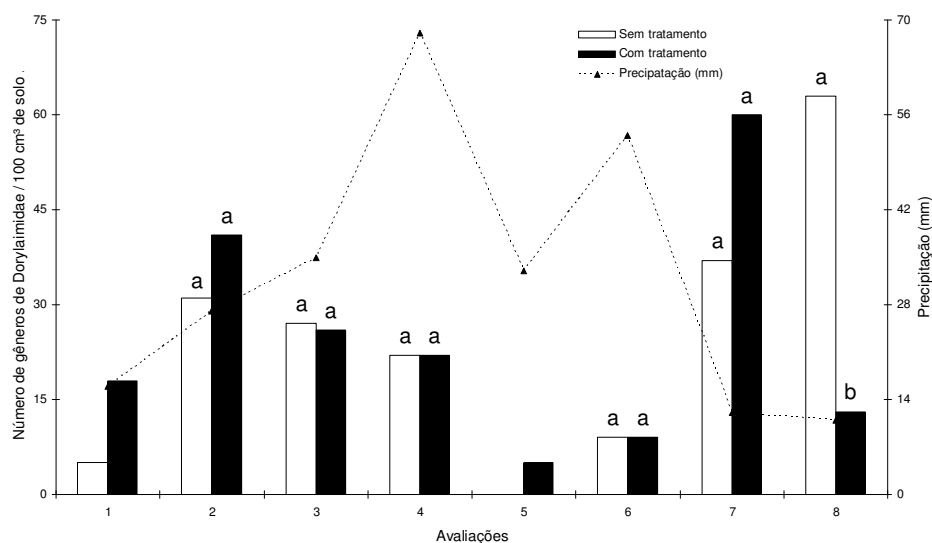
Por sua vez, em amostras de raízes extraídas de cana soca, o número de fitonematóides *Macrosposhonia* sp. foi maior na última avaliação, no tratamento sem *H. baujardi*. Em cada 5 gramas de raízes, os tratamentos com e sem NEPs, apresentaram número dos fitonematóides, em questão, respectivamente de 0 e 2 na 5ª avaliação; 0 e 9,8 na 6ª avaliação; 0 para ambos os tratamentos da 7ª avaliação e de 4,3 e 56,7 na 8ª avaliação (Fig. 5B). Porém, não houve diferença significativa nas aplicações 4 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,1283$ ) e 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 3,6681$ ) (Tabela 2).

### **Dorylaimidae**

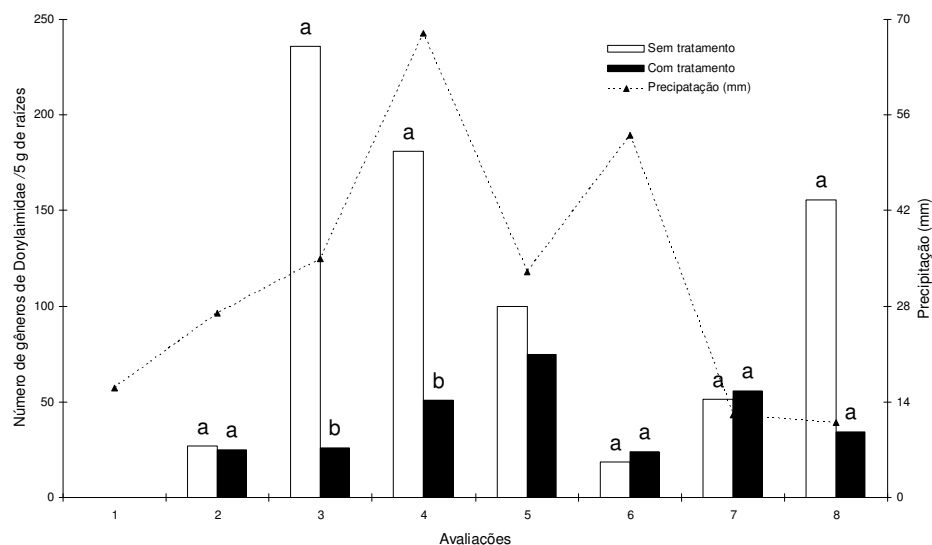
Em amostras de solo, na fase de cana planta, pode-se observar uma diminuição do número destes fitonematóides no decorrer do experimento. A

quantidade de Dorylaimidae encontrada por tratamento com e sem NEPs, respectivamente, foi de 18 e 5 na 1ª avaliação; 41 e 31 na 2ª avaliação; 26 e 27 na 3ª avaliação e de 22 para ambos os tratamentos na 4ª avaliação, para cada amostra de 100cm<sup>3</sup> de solo (Fig. 6A).

**A**



**B**



Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 6: Número médio de Dorylaimidae encontrado em amostras de solo e de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canal da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca. A. Amostragem de solo. B. Amostragem de raízes.

Não houve diferença significativa entre estas quantidades, entre os tratamentos, das aplicações 1 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,4721$ ), 2 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0047$ ) e 3 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0$ ) (Tabela 1).

Em raízes amostradas, de cana planta, a quantidade de Dorylaimidae foi menor nos tratamentos com NEPs, nas aplicações 2 e 3. Nos tratamentos com e sem *H. baujardi* as quantidades médias de Dorylaimidae foram respectivamente, de 0 em ambos os tratamentos da 1ª avaliação; 25 e 26,7 na 2ª avaliação; 26 e 235,7 na 3ª avaliação e de 51 e 180,8 na 4ª avaliação (Fig. 6B). Não houve diferença significativa entre os tratamentos da 1ª aplicação ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0012$ ), mas, houve diferenças significativas na 2ª ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 17,38$ ) e na 3ª ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 6,6587$ ) aplicações (Tabela2).

Por sua vez, as amostragens de solos em cana soca, mostraram maiores quantidades de Dorylaimidae, nas avaliações 7 e 8. As quantidades deste fitonematóide nos tratamentos com e sem NEPs, foram respectivamente de 5 e 0 na 5ª avaliação; 9 em ambos os tratamentos da 6ª avaliação; 60 e 37 na 7ª avaliação e 13 e 63 na 8ª avaliação (Fig. 6A). Não houve diferença significativa nas aplicações 6 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0$ ) e 7 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 2,4975$ ), mas, houve entre os tratamentos da 8ª avaliação (6ª aplicação) (Tabela 1).

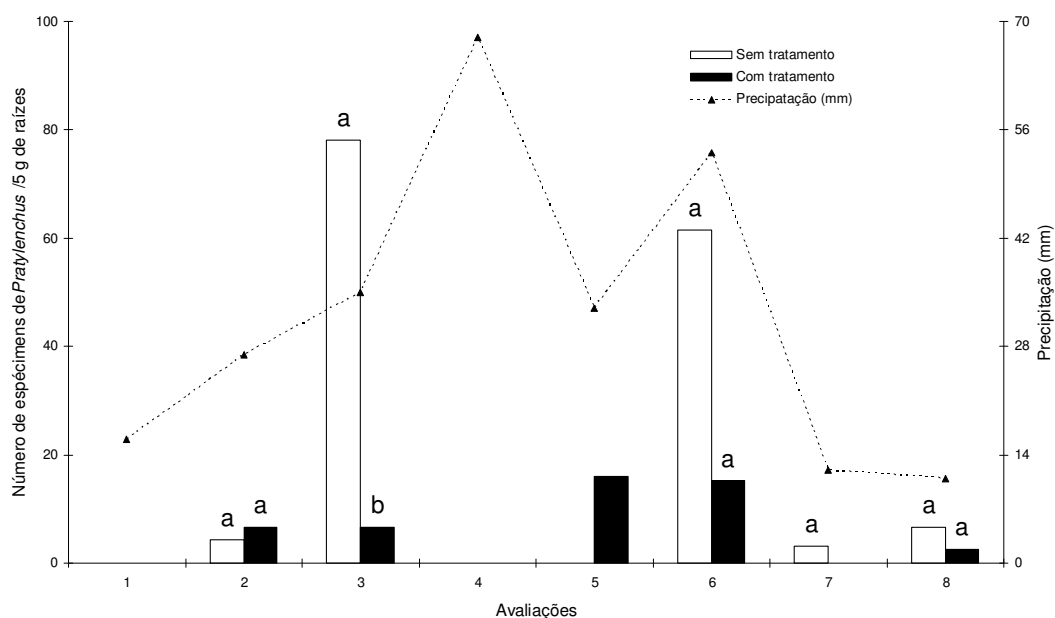
Em raízes amostradas da área experimental, notou-se que em cana soca, houve maior quantidade de Dorylaimidae, na 8ª avaliação, sem NEPs. Nos tratamentos com e sem NEPs, o número médio deste gênero de fitonematóides encontrado, foi respectivamente de 75 e 100 na 5ª avaliação; 23,9 e 18,8 na 6ª avaliação; 55,9 e 51,6 na 7ª avaliação e de 34,4 e 155,6 nematóides para cada 5 gramas de raízes analisadas (Fig. 6B). Porém, não houve diferenças significativas entre os tratamentos das aplicações de NEPs 4 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0102$ ), 5 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0073$ ) e 6 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 5,8056$ ) (Tabela 2).

### ***Pratylenchus* sp.**

Na área experimental, em cana planta e cana soca, não foram encontrados fitonematóides deste gênero, em amostras de solo. Eles somente foram encontrados, em amostras de raízes.

Em cana planta, cada 5 gramas de raízes amostradas, apresentaram, nos tratamentos com e sem *H. baujardi*, respectivamente, o número médio de

*Pratylenchus* sp. de 0 em cada tratamento da 1ª avaliação; 6,7 e 4,2 na 2ª avaliação; 6,7 e 78,1 na 3ª avaliação e novamente 0 em ambos os tratamentos da 4ª avaliação (3ª aplicação de NEPs) (Fig. 7). Não houve diferença significativa na 1ª aplicação de NEPs ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0096$ ) entre os tratamentos. Mas, houve diferença significativa na 2ª aplicação de NEPs ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 7,8612$ ).



Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 7: Número médio de *Pratylenchus* sp. encontrado em amostras de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canavial da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca.

No experimento em cana soca, observou-se em raízes, a maior quantidade deste fitonematóide, na 6ª avaliação (4ª aplicação de NEPs). Nos tratamentos com e sem NEPs, respectivamente, o número médio de *Pratylenchus* sp., foi de 16 e 0 na 5ª avaliação; 15,3 e 61,6 na 6ª avaliação; 0 e 3,1 na 7ª avaliação e de 2,6 e 6,7 na 8ª avaliação (Fig. 7). Nas aplicações de *H. baujardi* 4 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 3,3056$ ), 5 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0148$ ) e 6 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0259$ ), não houve diferenças significativas entre cada tratamento (Tabela 2). Porém, o número médio de fitonematóides foi menor nos tratamentos com NEPs, das avaliações 6 e 8.

### ***Hoplolaimus* sp.**

Na área experimental, este gênero de fitonematóide, mostrou-se mais elevado nas amostras de raízes, do que nas de solo.

Analisando as amostras de solo, em cana planta, pode-se observar que nos tratamentos com e sem NEPs, o número médio de *Hoplolaimus* sp. encontrado a cada 100 gramas de solo, respectivamente de 22 e 6 na 1ª avaliação; 2 e 4 na 2ª avaliação; 2 e 5 na 3ª avaliação e de 2 e 4 na 4ª avaliação (Fig. 8A). Porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos das aplicações 2 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,2282$ ), 3 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,5134$ ) e 4 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,2282$ ) (Tabela 1).

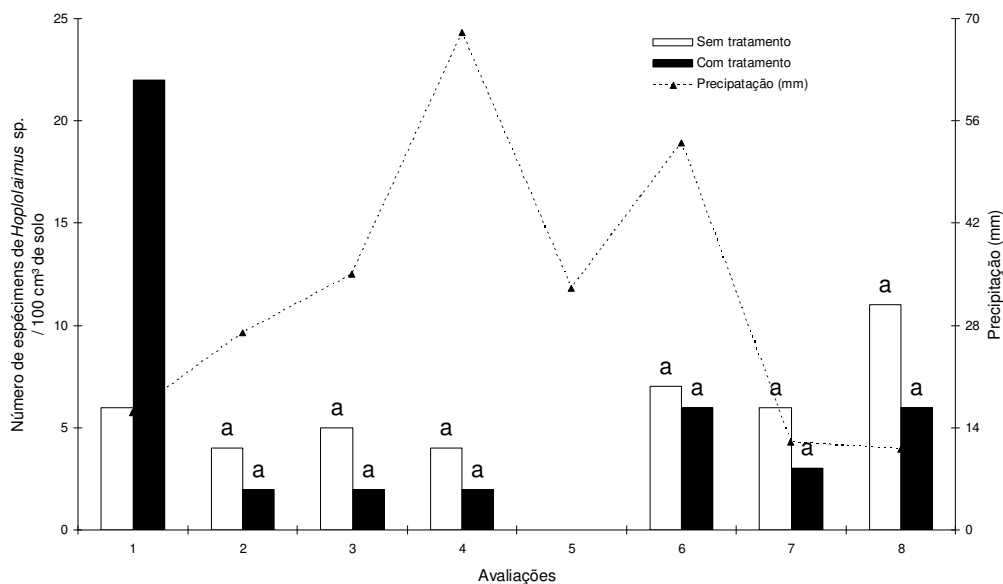
Nas amostras de raízes, obtidas em cana planta, observou-se um pico máximo de *Hoplolaimus* sp. na 3ª avaliação e uma diminuição na 4ª avaliação. O número médio deste fitonematóide, entre os tratamentos, foi respectivamente de 0 em ambos os tratamentos da 1ª avaliação; 4,2 e 59 na 2ª avaliação; de 45,8 e 54,9 na 3ª avaliação e de 17,1 e 43,2 na 4ª avaliação, para cada 5 gramas de raízes, coletadas no canavial experimental (Fig. 8B). Porém, não houve diferenças significativas entre as aplicações 1 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,6400$ ), 2 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0176$ ) e 3 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,1451$ ) (Tabela 2).

Na área experimental, quando a cana já era soca, a amostragem de solo, revelou que a quantidade de *Hoplolaimus* sp., encontrada foi maior nos tratamentos sem *H. baujardi*. Nestes tratamentos, com e sem NEPs, o número médio deste gênero de fitonematóides, foi respectivamente de 0 em ambos os tratamentos na 5ª avaliação; 6 e 7 na 6ª avaliação; 3 e 6 na 7ª avaliação e de 6 e 11 na 8ª avaliação para cada 100 gramas de solo amostrados (Fig. 8A). Mas, não houve diferença significativa entre os tratamentos das aplicações 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0570$ ), 7 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,5134$ ) e 8 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 1,4262$ ) (Tabela 1).

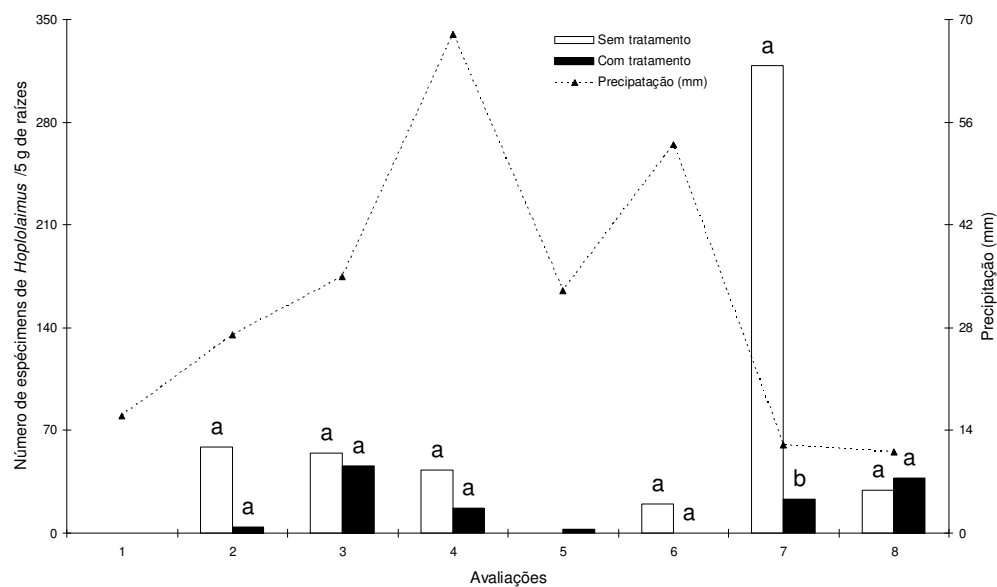
Por sua vez, amostras de raízes do canavial experimental, em fase de soca, apresentaram maior número de *Hoplolaimus* sp., em tratamento sem NEPs. Os números médios deste fitonematóide, respectivos para cada tratamento com e sem NEPs, foram de 3 e 0 na 5ª avaliação; 0 e 20 na 6ª avaliação; 23,3 e 318,5 na 7ª avaliação e de 37,2 e 29,5 na 8ª avaliação (Fig. 8B). Houve, neste caso, diferença significativa na 5ª aplicação de NEPs ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 18,5717$ ) e

não houve nas aplicações 4 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0852$ ) e 6 ( $P < 0,01$ ;  $gl = 1$ ;  $F = 0,0126$ ) de *H. baujardi* (Tabela 2).

**A**



**B**



Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Figura 8: Número médio de *Hoplolaimus* sp. encontrado em amostras de solo e de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canal da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca. A. Amostragem de solo. B. Amostragem de raízes.

***Meloidogyne* sp.**

Neste trabalho, a maior quantidade de fitonematóides *Meloidogyne* sp. foi encontrada em amostras de raízes de cana planta.

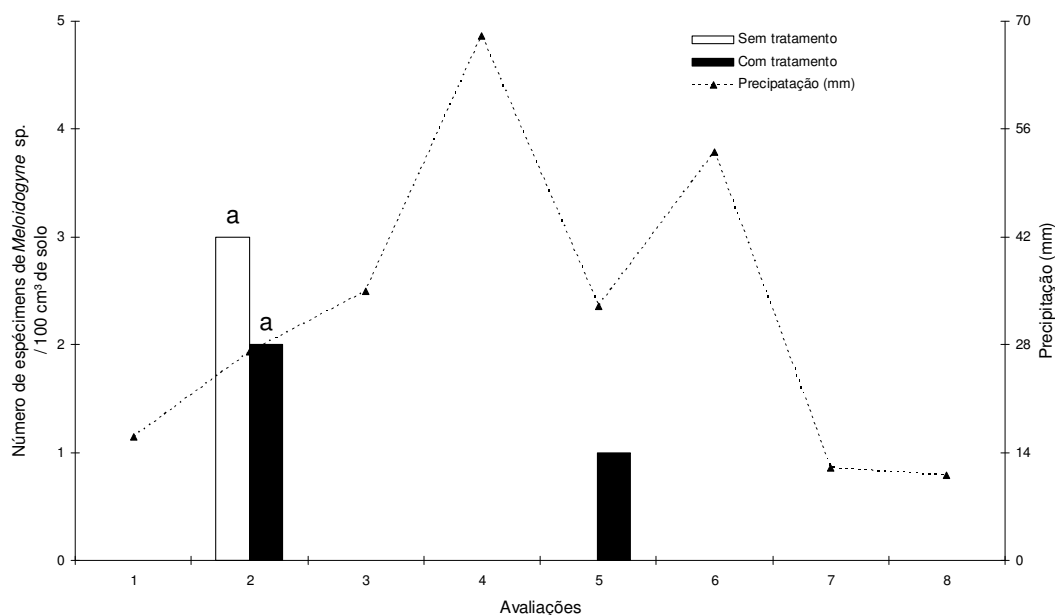
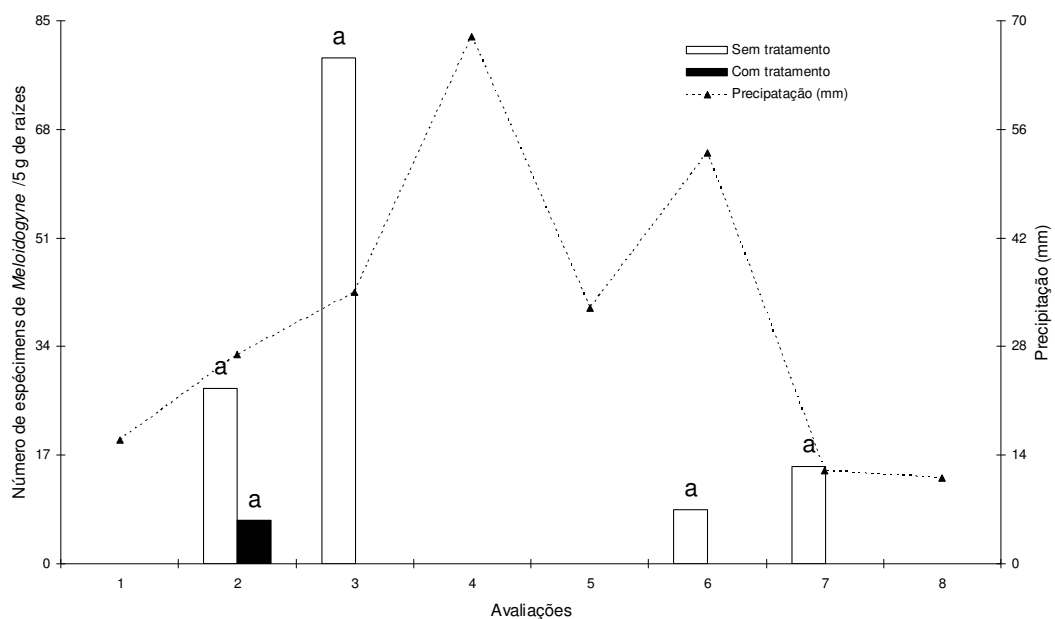
Em cana planta, amostras de solo coletadas no canavial experimental, apresentaram maior quantidade deste fitonematóide, na 2ª avaliação (1ª aplicação de NEPs) e sem ter recebido o *H. baujardi*. O número médio de nematóides encontrados foi respectivamente, para os tratamentos, com e sem NEPs, de 2 e 3 nematóides para cada 100cm<sup>3</sup> de solo e de 0 em ambos os tratamentos, das avaliações 1, 3 e 4 (Fig. 9A). Contudo, não houve diferença significativa entre os tratamentos, da 2ª avaliação ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 1,4887$ ) (Tabela 1).

Já em amostras de raízes, de cana planta, a maior quantidade de nematóides do gênero *Meloidodyne* sp. foi observada no tratamento sem NEPs da 3ª avaliação. Entre os tratamentos, com e sem NEPs, respectivamente, o número médio deste fitonematóide encontrado, para cada 5 gramas de raízes, foi de 0 para ambos os tratamentos das avaliações 1 e 4; 6,7 e 27,5 na 2ª avaliação e de 0 e 79,2 na 3ª avaliação (Fig. 9B). Neste estágio do canavial experimental, observou-se que o maior número deste fitonematóide foi encontrado nos tratamentos sem NEPs (Fig. 9B). Contudo, não houve diferença significativa entre os tratamentos da 2ª avaliação ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0922$ ) e da 3ª avaliação ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 1,3368$ ) (Tabela 2).

Em cana soca, a maior quantidade de *Meloidodyne* sp. foi observada em raízes amostradas da área experimental. Nas amostras de solo, só se observou 1 fitonematóide deste gênero para cada 100 cm<sup>3</sup> de solo, na 5ª avaliação.

No estágio de cana planta, as amostragens de raízes apresentaram maior quantidade de *Meloidodyne* sp. na 7ª avaliação. Nos tratamentos com e sem NEPs, respectivamente, o número médio deste fitonematóide, para cada 5 gramas de raízes, foi respectivamente de 0 em ambos os tratamentos da 5ª e da 8ª avaliação; de 0 e 8,5 na 6ª avaliação e de 0 e 15,2 na 7ª avaliação (Fig. 9B). Porém, não houve diferença significativa entre os tratamentos das avaliações 6 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0154$ ) e 7 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0492$ ) (Tabela 2).



**A****B**

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

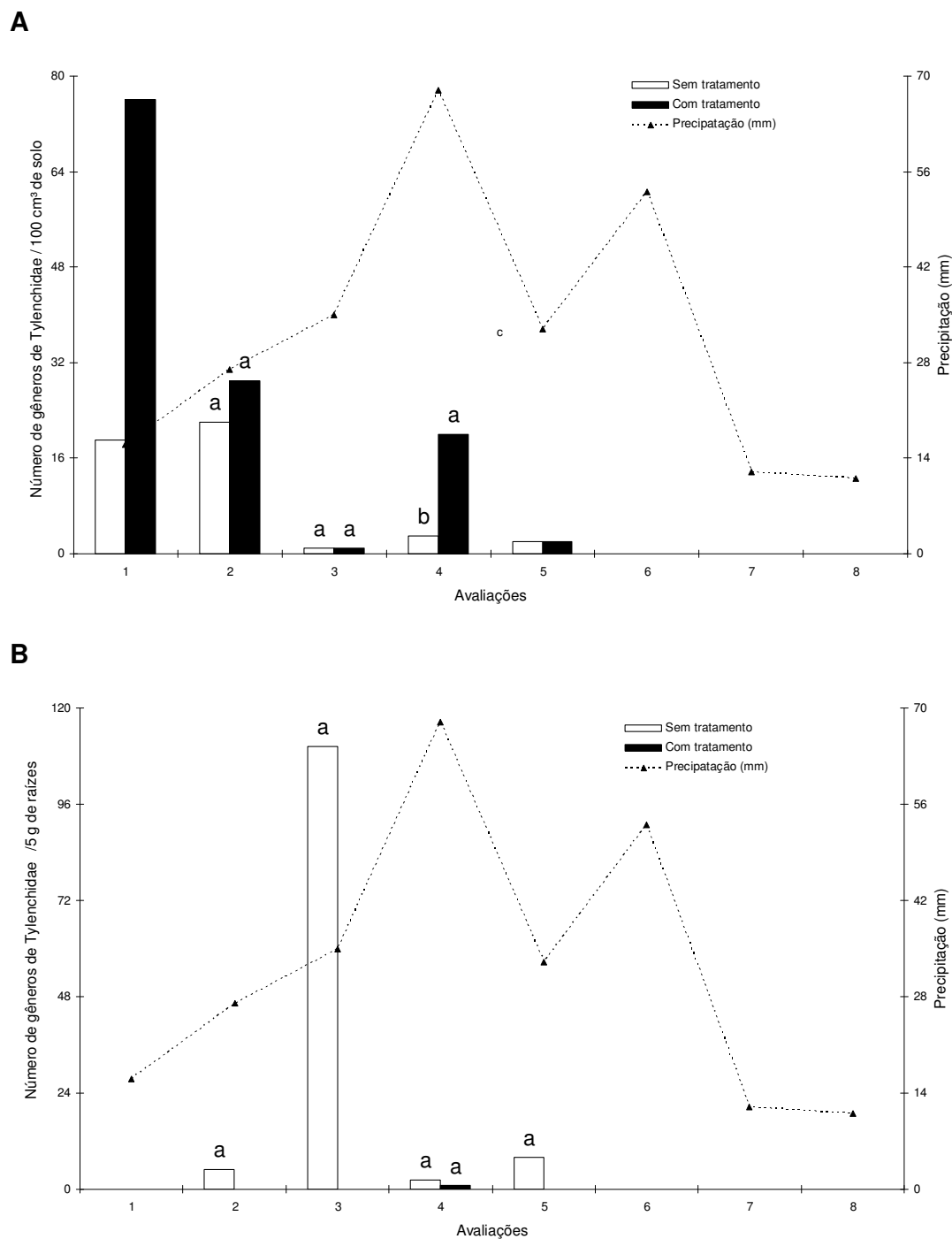
Figura 9: Número médio de *Meloidogyne* sp. encontrado em amostras de solo e de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canal da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca. A. Amostragem de solo. B. Amostragem de raízes.

### **Tylenchidae**

Durante todo o experimento, através das amostragens de solo e de raízes, observou-se este fitonematóide em todas as avaliações durante o período de cana planta e apenas na primeira avaliação do canavial em estágio de soca.

Em cana planta, amostras de solo revelaram maior quantidade de Tylenchidae na 1ª avaliação e uma queda nesta quantidade no decorrer do experimento. Nos tratamentos com e sem NEPs, respectivamente, o número médio deste fitonematóide para cada 100cm<sup>3</sup> de solo, foi de 76 e 19 na 1ª avaliação; 29 e 22 na 2ª avaliação; 1 em ambos os tratamentos da 3ª avaliação e de 20 e 3 nematóides na 4ª avaliação (Fig. 10A). Não houve diferença significativa entre os tratamentos das aplicações 1 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 2,3732$ ) e 2 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0$ ). Porém, na 3ª avaliação, observou-se que o número médio encontrado deste fitonematóide, foi significativamente maior no tratamento em que se aplicaram os *H. baujardi* do que no tratamento sem este NEP ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 13,9975$ ) (Tabela 1).

Por sua vez, amostras de raízes coletadas no canavial experimental, no estágio de cana planta, revelaram a maior quantidade deste fitonematóide na 2ª avaliação e a menor na 3ª avaliação. Quanto ao número médio de Tylenchidae para cada 5 gramas de raízes, nos tratamentos com e sem NEPs, respectivamente, este foi de 0 em ambos os tratamentos na 1ª avaliação; 0 e 5 na 2ª avaliação; 0 e 110,4 na 3ª avaliação e de 1 e 2,4 na 4ª avaliação (Fig. 10B). Neste, não houve diferença significativa entre os tratamentos nas aplicações 1 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0053$ ), 2 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 36,6341$ ) e 3 ( $P < 0,01$ ; gl = 1;  $F = 0,0058$ ) (Tabela 2).



Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Figura 10: Número médio de Tylenchidae encontrado em amostras de solo e de raízes, por tratamento, durante as avaliações do experimento, realizado em canal da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009 e 2010. 1 = Amostragem inicial do experimento; 2, 3 e 4 = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP, respectivamente, em cana planta; 5 = amostragem após a queimada da colheita; 6, 7 e 8 respectivamente = 1ª, 2ª e 3ª aplicação do NEP em cana soca. A. Amostragem de solo. B. Amostragem de raízes.

Tabela 1 – Estimativas dos quadrados médios obtidos pela ANOVA para número de fitonematóides da cana-de-açúcar, por gênero, encontrados em solo, no canalial da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, R.J., 2009 e 2010.

| Fonte de variação | GL | Quadrado médio             |                            |                         |                         |                        |                        |                        |  |  |  |
|-------------------|----|----------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--|--|--|
|                   |    | <i>Helicotylenchus</i> sp. | <i>Macrosposthonia</i> sp. | <i>Dorylaimidae</i> sp. | <i>Pratylenchus</i> sp. | <i>Hoplolaimus</i> sp. | <i>Meloidodyne</i> sp. | <i>Tylenchidae</i> sp. |  |  |  |
| Repetição         | 9  | 11,5243                    | 27,8443**                  | 20,6065**               | 0,0000                  | 10,2189**              | 0,2674                 | 4,4635**               |  |  |  |
| Tratamento        | 1  | 44,2946*                   | 0,4259                     | 8,9037                  | 0,0000                  | 3,6752                 | 0,0535                 | 7,6222*                |  |  |  |
| Aplicação         | 5  | 256,5310**                 | 1,8684                     | 33,8668**               | 0,0000                  | 1,1050                 | 1,3369**               | 49,2221**              |  |  |  |
| Trat. X Apl.      | 5  | 46,1719**                  | 8,0288                     | 18,3451*                | 0,0000                  | 1,0006                 | 0,0534                 | 3,5133*                |  |  |  |
| Trat/1ª apl       | 1  | 15,3870                    | 0,7681                     | 0,5322                  | 0,0000                  | 0,7298                 | 0,3209                 | 5,3076                 |  |  |  |
| Trat/2ª apl       | 1  | 0,7841                     | 7,3661                     | 1,9414                  | 0,0000                  | 3,9123                 | 0,0000                 | 0,0000                 |  |  |  |
| Trat/3ª apl       | 1  | 34,8368*                   | 1,2787                     | 0,0377                  | 0,0000                  | 0,7298                 | 0,0000                 | 19,8811**              |  |  |  |
| Trat/4ª apl       | 1  | 38,6378*                   | 0,7484                     | 0,0000                  | 0,0000                  | 0,0354                 | 0,0000                 | 0,0000                 |  |  |  |
| Trat/5ª apl       | 1  | 28,2789*                   | 0,0035                     | 7,2523                  | 0,0000                  | 1,1595                 | 0,0000                 | 0,0000                 |  |  |  |
| Trat/6ª apl       | 1  | 157,2295**                 | 30,4054**                  | 90,8661**               | 0,0000                  | 2,1113                 | 0,0000                 | 0,0000                 |  |  |  |
| Erro              | 99 | 8,3488                     | 4,1373                     | 8,1865                  | 0,0000                  | 2,3676                 | 0,2155                 | 1,6934                 |  |  |  |
| Média             |    | 125,08                     | 10,83                      | 30,00                   | 0,00                    | 4,84                   | 0,42                   | 6,33                   |  |  |  |
| CV%               |    | 28,22                      | 87,40                      | 64,06                   | 0,71                    | 97,41                  | 57,13                  | 77,21                  |  |  |  |

\* significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2 – Estimativas dos quadrados médios obtidos pela ANOVA para número de fitonematóides da cana-de-açúcar, por gênero, encontrados em raízes, no canalial da Usina Sapucaia, Campos dos Goytacazes, R.J., 2009 e 2010.

| Fonte de variação | GL | Quadrado médio         |                         |                     |                     |                    |                    |                    |     |     |     |     |
|-------------------|----|------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----|-----|-----|-----|
|                   |    | <i>Helicotylenchus</i> | <i>Macrosposiphonia</i> | <i>Dorylaimidae</i> | <i>Pratylenchus</i> | <i>Hoplolaimus</i> | <i>Meloidodyne</i> | <i>Tylenchidae</i> | sp. | sp. | sp. | sp. |
| Repetição         | 9  | 1180,12*               | 7,3934                  | 28,4333             | 14,2888             | 65,7948**          | 7,8781             | 6,0487             |     |     |     |     |
| Tratamento        | 1  | 681,70                 | 2,4247                  | 375,0505**          | 36,7714*            | 25,3936            | 12,3733            | 30,0100*           |     |     |     |     |
| Aplicação         | 5  | 5790,30**              | 10,9232                 | 132,6522**          | 33,2066*            | 86,2210**          | 17,1830            | 36,2556**          |     |     |     |     |
| Trat. X Apl.      | 5  | 282,39                 | 10,0672                 | 84,1650**           | 11,9481             | 99,3411**          | 21,3698*           | 40,8382**          |     |     |     |     |
| Trat/1ª apl       | 1  | 0,5565**               | 0,6042                  | 8,7046              | 0,2114              | 46,3524            | 10,2519            | 2,0475             |     |     |     |     |
| Trat/2ª apl       | 1  | 1055,72                | 26,3802                 | 375,1785**          | 64,1296**           | 6,8007             | 98,5475**          | 232,0075**         |     |     |     |     |
| Trat/3ª apl       | 1  | 1037,39                | 0,0000                  | 175,0914**          | 0,0000              | 19,0206            | 0,0000             | 0,1461             |     |     |     |     |
| Trat/4ª apl       | 1  | 0,0000                 | 10,9385                 | 4,6137              | 30,4972             | 15,9621            | 3,6461             | 0,0000             |     |     |     |     |
| Trat/5ª apl       | 1  | 0,0000                 | 0,0000                  | 1,3533              | 1,2031              | 433,6391**         | 6,7767             | 0,0000             |     |     |     |     |
| Trat/6ª apl       | 1  | 0,0000                 | 14,8381                 | 230,9342**          | 0,4706              | 0,3243             | 0,0000             | 0,0000             |     |     |     |     |
| Erro              | 99 | 571,08                 | 8,8333                  | 26,8423             | 10,7850             | 30,3411            | 8,8319             | 5,5357             |     |     |     |     |
| Média             |    | 1831,13                | 10,14                   | 73,79               | 15,41               | 54,39              | 11,43              | 9,90               |     |     |     |     |
| CV%               |    | 75,07                  | 215,82                  | 84,21               | 169,37              | 133,72             | 194,34             | 169,93             |     |     |     |     |

\* significativo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Existem relatos de pesquisadores, em livros, artigos, resumos e websites, que buscando uma nova alternativa de controle de fitonematóides de plantas, realizaram ensaios em laboratórios, em casa de vegetação e em campo, avaliando a eficiência de NEPs para este fim. Nematóides entomopatogênicos estão sendo utilizados como agentes de controle biológico de pragas de solo e de ambientes crípticos (Del Valle et al., 2008; Fallon et al. 2002).

Fallon et al. (2002) avaliaram a eficiência de dois isolados havaianos *Steinernema feltiae* (Filipjev) Wouts, Mracek, Gerdin et Bedding (MG-14) e *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar et David (MG-13), um isolado francês de *S. feltiae* (SN), e um isolado texano de *S. riobrave* Cabanillas, Poinar et Raulston, para avaliar sua eficácia contra nematóides das galhas, *Meloidogyne javanica* (Treb) Chitw., em laboratório e casa de vegetação. Eles observaram que em uma única aplicação de 10.000 JIs de *S. feltiae* MG-14 ou de SN por cm<sup>3</sup> de solo estéril, juntamente com 500 JIs (MG-14) ou 1500 JIs (SN) de segunda fase, provocaram redução na penetração de *M. javanica* em raízes de soja e tomate, três dias após a sua inoculação.

Grewal et al. (1997) aplicando  $6 \times 10^9$  JIs de *S. riobrave* por acre de gramado (1 acre = 0,40469 ha), na Geórgia, constataram de 95-100% de controle em *Meloidogyne* sp.

Abd-Elgawad e Mohamed (2006), em casa de vegetação, avaliaram plantas de beringela plantadas em vasos, infestadas com *M. incognita*, após a aplicação de *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema carpocapsae*, na dosagem de 125 JIs/cm<sup>2</sup>. Eles observaram que a biomassa de berinjela dos vasos tratados com estes NEPs, foi significativamente aumentada, em 12,3% de massa verde e de 96,3% do peso das raízes ( $P \leq 0,01$ ).

Jagdale e Grewal (2008) estudaram em laboratório e em casa de vegetação, a influência de *Steinernema carpocapsae* em cadáveres de *Galleria mellonella* e seus extratos, sobre o nematóide foliar de plantas ornamentais do gênero *Hosta*, *Aphelenchoides fragariae*. Eles observaram que tanto os cadáveres, quanto os extratos desse NEPs, foram tóxicos ao *A. fragariae*, causando a este mais de 75% de mortalidade no prazo de dois a 8 dias após o tratamento.

A percepção dos nematóides entomopatogênicos aos seus hospedeiros ocorre por meio de respostas a estímulos químicos (semioquímicos) e físicos

(ambientais). Estes estímulos, aos compostos solúveis em água e voláteis emitidos pelo hospedeiro, ativam nos NEPs seus mecanismos de percepção, de orientação (tanto na atração), deslocamento (em direção a presa), penetração no hospedeiro (Lee, 2002; Ishibashi, 2002; Gaugler e Bilgrami 2004).

De acordo com Grewal et al. (1999), Hu et al. (1999) e Samaliev et al. (2000), as bactérias simbiontes de NEPs *Xenorhabdus* spp. e *Photorhabdus* spp. produzem compostos que têm efeitos tóxicos contra várias espécies de nematóides fitopatogênicos.

Neste experimento, como já mencionado na parte de material e métodos, os NEPs foram aplicados no solo via solução aquosa, através de um pulverizador do tipo costal manual (comum). Essa tecnologia é adequada aos pequenos produtores de cana-de-açúcar, pela sua funcionalidade e preço acessível. Mas, isso não quer dizer que esses inimigos naturais só podem ser liberados através deste tipo de aparelho. Pois, existem estudos testando a liberação de NEPs até através de sistemas de irrigação (Poinar e Hom, 1986; Curran 1992; Cabanillas e Raulston 1994; Shields et al. 1999).

Segundo Grewal (2002), nematóides entomopatogênicos também podem ser aplicados através de água de irrigação. Lara et al. (2008), avaliaram em goiabal, a liberação de JIs de *H. baujardi* via sistema de irrigação por microaspersão, em busca de seu hospedeiro (larvas de *Galleria mellonella*). Em seus estudos, pode-se observar que não houve diferença, entre os tratamentos (com e sem NEPs), na viabilidade, na infectividade e na capacidade de busca dos NEPs após a passagem pelo sistema de irrigação. No entanto, em outro ensaio, houve diferença entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) e se observou maior mortalidade na concentração de nematóides de 500.000 JIs por goiabeira, com mortalidade de 28,3% e 37% em cada uma das duas repetições do experimento. E concluíram que o sistema de microaspersão não afeta a viabilidade, infectividade e capacidade de busca dos JIs de *H. baujardi* até o inseto.

Quanto à pressão de serviço dos sistemas de irrigação por aspersão, esta não é suficiente para promover danos aos nematóides entomopatogênicos, se liberados via este sistema (Grewal, 1998).

No Brasil, os tipos de sistemas de irrigação por aspersão utilizados em canaviais são: canhão aspersor e pivot central. Porém, dependendo do porte dos colmos, sua utilização torna-se prejudicada, pela altura dos mesmos.

Em cana já bem desenvolvida, uma alternativa de liberação dos NEPs é utilizando-se pulverizadores costais manuais ou motorizados. O trabalhador, utilizando o EPI para canaviais, caminhará rua por rua do canavial pulverizando o solo com NEPs em formulação aquosa.

Existem equipamentos de pulverização autopropelidos em que apresentam 1,85m de vão livre do solo (ground clearance). Estes são máquinas muito rápidas, de alto desempenho, conseguindo desenvolver velocidades operacionais entre 15 a 40 Km/h (condições extremamente favoráveis). Alguns fabricantes de máquinas agrícolas já disponibilizam no mercado brasileiro, tais equipamentos possuindo como item de série o sistema eletrônico de navegação satelital (GPS), que possibilita aos pulverizadores autopropelidos aplicações noturnas. Essa possibilidade é de suma importância quando se trabalha com NEPs favorecendo a eficiência destes inimigos naturais. Estima-se que atualmente existem cerca de 4.000 pulverizadores autopropelidos em operação no Brasil, e estes são encontrados operando nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Goiás, Minas Gerais, Bahia, Paraná e São Paulo (Lobo Jr, 2011).

Deve-se ter cuidado ao se aplicar os nematóides utilizando um pulverizador em que rotineiramente se aplica defensivos agrícolas, uma vez que dentro do tanque de pulverização os resíduos destes produtos podem comprometer a viabilidade dos NEPs. De acordo Koppenhöfer e Grewal (2005), esses nematóides são compatíveis a uma grande gama de produtos químicos, tais como a maioria dos herbicidas e fungicidas, assim como muitos inseticidas, bactericidas, fungicidas e espalhantes adesivos. Além disso, Shapiro e Gaugler (2011) relatam que os NEPs Rhabditida (Steinernematidae e Heterorhabditidae) também são geralmente compatíveis aos fertilizantes químicos, bem como compostado, embora ressaltem que o esterco fresco pode ser prejudicial. Koppenhöfer e Grewal (2005) ressaltam que, deve-se ter cuidado ou até evitar a mistura com o aldicarbe, carbofuran, diazinon, dodina, metomil e aos diversos nematicidas.

Os resultados obtidos deste trabalho, em canavial, demonstram que o número de fitonematóides levantados, por gênero, presente no solo e nas raízes, amostrados, variou entre eles tanto em cana planta, quanto em cana soca. Os tratamentos em que receberam JIs de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 tiveram suas



populações dos gêneros de fitonematóides *Helicotylenchus*, *Macrosposthonia*, *Dorylaimidae*, *Pratylenchus*, *Hoplolaimus*, *Meloidogyne* e *Tylenchidae*, afetadas pelo NEP, uma vez que se observa ao longo do tempo, tanto em amostras de solo quanto de raízes, que o número destes fitopatogênicos encontrados era maior no início do que no final do experimento.

## CONCLUSÃO

- Entre os gêneros de fitonematóides encontrados, houve diferença de seus números populacionais, variando entre os estágios de cana planta e cana soca;
- Em amostras de solo, houve diferenças significativas entre os tratamentos para os fitonematóides *Helicotylenchus*, *Dorylaimidae*, e *Tylenchidae*. Porém, não houve em *Macrosposthonia*, *Hoplolaimus* e *Meloidogyne*;
- Já em amostras de raízes houve diferenças significativas entre os tratamentos, nos fitonematóides *Dorylaimidae*, *Hoplolaimus*. Mas, não houve diferença significativa em *Helicotylenchus*, *Macrosposthonia*, *Pratylenchus*, *Meloidogyne* e *Tylenchidae*;
- Houve eficiência na forma de aplicação da formulação aquosa de *H. baujardi* Phan et al. LPP7, com o pulverizador costal manual, em solo do canavial experimental;
- O controle de fitonematoides utilizando pulverização de formulado aquoso com *H. baujardi* Phan et al. LPP7, pode ser recomendado tanto para grande produtores, quanto para pequenos. Uma vez que esta tecnologia pode ser aplicada tanto em pulverizadores sofisticados e de última geração, quanto em simples costais manuais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd-Elgawad, M.M.M. Mohamed, M.M.M. (2006) Efficacy of selected bio-control agents on *Meloidogyne incognita* on eggplant. *Nematol. mediterr.* (2006), 34: 105-109

- Cabanillas H.E.; Raulston JR. (1994) Evaluation of the spatial pattern of *Steinernema riobravis* in corn plots. *J. Nematol.* 26: 25–31.
- Coolen & D'Herde (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Gent: State nematology and entomology research station.* 77 p.
- Costa, M.J.N.; Campos, V.P.; Oliveira, D.F. (2001) Toxidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. *Summa Phytopatologica*, 27(2):22-23.
- Curran, J. (1992) Influence of application method and pest population size on field efficacy of entomopathogenic nematodes. *J. Nematol.* 24: 631–636.
- Daher, R.F., Maldonado, H., Gomes, F.F., Fábregas, I.C.S., Soares, C.da S., Fonseca, C.W. da, (2002) Introdução e avaliação de 12 gramíneas forrageiras em Campos dos Goytacazes, RJ. *Ciênc. agrotec.* Lavras: Edição Especial, p. 1575-1579.
- Del Valle, E.E.; Dolinski, C.; Souza, R.M. (2008) Dispersal of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied to the soil as infected host cadavers. *International Journal of Pest Management.* Vol. 54. No. 2. April-june. 115-122.
- Dinardo-Miranda, L.L. (2008) Nematóides. *In:* Dinardo-Miranda, L.L.; Vasconcelos, A.C.M.; Landell, M.G.A. *Cana-de-açúcar.* Campinas, SP: IAC. p. 403-420.
- Dinardo-Miranda, L.L. (2006) Manejo de nematóides na cana-de-açúcar. *In:* Segato, S.V., Pinto, A.S., Jendiroba, E., Nóbrega, J.C.M. *Atualização em produção de cana-de-açúcar.* Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415 p.
- Dinardo-Miranda, L.L. (2005) Manejo de nematóides em cana-de-açúcar. *Tecnologia Agrícola. Jornal da cana.* Setembro. 64-67.

- Fallon D.J.; Kaya H.K.; Gaugler R.; Sipes B.S. (2002) Effects of entomopathogenic nematodes on *Meloidogyne javanica* on tomatoes and soybeans. *Journal of Nematology*, 34: 239-245.
- Gaugler, R.; Bilgrami, A. L. (eds.) (2004) Nematode behaviour. *CABI Publishing*, 170p.
- Grewal, P.S. (2002) Formulation and application technology. *In*: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 265-288.
- Grewal, P.S. (1998) Formulation of entomopathogenic nematodes for storage and application. *Japanese Journal of Nematology* 28: 68-74.
- Grewal, P.S.; Lewis, E.E.; Venkatachari, S. (1999) Allelopathy: a possible mechanism of suppression of plant-parasitic nematodes by entomopathogenic nematodes. *Nematology* 1, 735–743.
- Grewal P.S.; Martin, W.R.; Miller, R.W.; Lewis, E.E. (1997) Suppression of plant-parasitic nematode populations in turfgrass by application of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 393-399.
- Hu, K. J.; Li, J.X.; Webster, J. M. (1999) Nematicidal metabolites produced by *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae), bacterial symbiont of entomopathogenic nematodes. *Nematology* 1, 457–469.
- Ishibashi, N (2002) Behaviour of Entomopathogenic Nematodes. *In*: Lee, D. L. (ed.) The biology of nematodes, London: *Taylor & Francis*, p. 511- 520.
- Jagdale, G.B.; Grewal, P.S. (2008) Influence of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* infected host cadavers or their extracts on the foliar nematode *Aphelenchoides fragariae* on *Hosta* in the greenhouse and laboratory. *Biological Control*, Volume 44, Issue 1, January 2008, Pages 13-23.

- Koppenhöfer, A. M.; Grewal, P. S. (2005) Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. *In: Nematodes as Biocontrol Agents*. CABI, New York, NY, pp. 363-381.
- Lara, J.C.; Dolinski, C.; Souza, E.F.; Daher, R.F. (2008) Effect of mini-sprinkler irrigation system on *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Heterorhabditidae) infective juvenile. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.65, n.4, p.433-437, July/August.
- Lee, D.L. (2002) Behaviour. *In: Lee, D.L. (ed.) The biology of nematodes*, London, *Taylor & Francis*, p. 369-388.
- Lobo Jr, M.I. (2011) Pulverizadores autopropelidos: <http://pt.scribd.com/doc/4864205/Pulverizadores-Autopropelidos> em 11/03/2011 página mantida pela SCRIBD.
- Lordello, L.G.E. (1981) *Nematóides das plantas cultivadas*. 6. ed. São Paulo: Nobel, 341 p.
- Moura, R.M.; Régis, E.M.O.; Moura, A.M. (1990) Espécies e raças de *Meloidogyne* assinaladas em cana-de-açúcar no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Nematologia Brasileira*, v. 14, p. 33-38.
- Novaretti, W.R.T.; Téran, F.O. (1983) Controle de nematóides parasítos da cana-de-açúcar. Reunião técnica agrônômica, 1, Piraciaba: Fealq, p. 16-24.
- Poinar G.O., Hom A. (1986) Survival and horizontal movement of infective stage *Neoplectana carpocapsae* in the field. *J. Nematol.* 18: 34–36.
- Rosseto, R.; Santiago, A.D. (2011) Pragas no colmo: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_131\\_272200817517.htm](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_131_272200817517.htm) l em 17/01/2011 página mantida pela EMBRAPA.

Samaliev, H. Y.; Andreoglou, F. I.; Elawad, S. A.; Hague, N. G. M.; Gowen, S. R.; 2000. The nematicidal effects of the *Pseudomonas oryzihabitans* and *Xenorhabdus nematophilus* on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology* 2, 507–514.

Shapiro-Ilan, D. I.; Gaugler, R. (2011) Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae): <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/nematodes.html> em 12/03/2011 página mantida pela COLLEGE OF AGRICULTURE AND LIFE SCIENCES.

Shields, E.J.; Testa, A.; Miller, J.M.; Flanders, K.L. (1999) Field efficacy and persistence of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* 'Oswego' and *H. bacteriophora* 'NC' on alfalfa snout beetle larvae (Coleoptera:Curculionidae). *Environ. Entomol.* 28: 128-136.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

A ocorrência de *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana) e de fitonematóides em um canavial são fatores limitantes da qualidade e da produtividade desta cultura. Neste trabalho, testou-se uma nova alternativa de controle da broca-da-cana e dos principais fitonematóides da cana-de-açúcar, utilizando-se formulações aquosas de nematóides entomopatogênicos (NEPs) *Steinernema carpocapse* (Weiser) NCall e *H. Heterorhabditis baujardi* Phan, Subbotin, Nguyen e Moens, isolado LPP7 (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) via pulverização. Para tanto, foram realizados ensaios em casa de vegetação e em canaviais. Em casa de vegetação, testou-se a aplicação foliar das formulações aquosas com *S. carpocapse* NCall e *H. baujardi* LPP7, separadamente, para o controle da *D. saccharalis*, realizando-se dois ensaios com 60 touceiras de cana-de-açúcar plantadas em vasos, sendo uma em cada vaso e com 5 colmos por touceira. O arranjo foi em blocos ao acaso, com 6 tratamentos por bloco. Cada NEPs (250.000 JIs) com os adjuvantes Joint\* Oil® (20 mL) e Gotafix® (5 mL) (favorecendo a viabilidade dos NEPs) e estes 2 produtos aplicados também sem os nematóides. Em cada colmo, foram inoculadas 6 larvas de broca por colmo. Decorridas 48 horas da inoculação das larvas, foram aplicados os tratamentos e após uma semana da aplicação destes, o experimento foi avaliado. Neste concluiu-se que os NEPs controlaram as larvas de broca-da-cana, porém, não houve diferença significativa entre eles e nem entre os adjuvantes (ANOVA e Tukey a 5%). Assim, posteriormente foram realizados 2 ensaios em canavial, infestado

pela broca-da-cana, onde se aplicou *H. baujardi* LPP7 (nativo do Brasil) com o Joint\* Oil® (adjuvante menos tóxico do que o Gotafix®). Este experimento de campo teve como objetivo testar o potencial do *H. baujardi* no controle da *D. saccharalis*. Para tanto, em canavial foram montados 10 blocos ao acaso, com 2 tratamentos por bloco. Estes foram aplicação e não aplicação de formulação aquosa com NEPs (250.000 JIs) via pulverização foliar, adicionando 20 mL de Joint\* Oil® por tratamento. Após o experimento montado, realizaram-se os tratamentos e decorrida uma semana, a avaliação dos colmos e a análise estatística dos resultados (ANOVA e teste F a 10%). Neste experimento concluiu-se que o tratamento a formulação aquosa de *H. baujardi* LPP7 e Joint\* Oil®, aplicada via pulverização foliar controlou a broca-da-cana em canavial. Em outro trabalho também com *H. baujardi* LPP7, foi avaliado o potencial deste NEP, para o controle dos principais fitonematóides da cana-de-açúcar. Para isso, em canavial, foram montados 10 blocos ao acaso e amostrados solo e raízes, para se levantar a infestação de NFs presente na área. Realizado a contagem deste prélevamento dos NFs, aplicaram-se os tratamentos (pulverização e não de formulação aquosa com *H. baujardi* LPP7) na área experimental por bloco. Estas pulverizações foram realizadas na superfície do solo, na dosagem de 375.000 JIs/bloco. Após uma semana da aplicação dos NEPs, realizaram-se uma nova amostragem e contagem dos NFs. Este experimento teve duração de dois anos, passado pelos estágios do canavial de cana planta e cana soca, com 3 aplicações de NEPs por estágio. No final deste experimento constatou-se que *H. baujardi* LPP7, aplicado em canavial, causou diminuição da população dos principais fitonematóides da cana-de-açúcar (ANOVA e Tukey a 5% de probabilidade). E por fim dos trabalhos, pode-se constatar o potencial do uso da formulação aquosa de *H. baujardi* et al. LPP7, como alternativa de controle da *D. saccharalis* (pulverização foliar) e dos principais NFs da cana-de-açúcar.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, J.P.M. (2008) Estudo das interações entre o fitonematóide *Meloidogyne mayaguensis* (Tylenchida: Meloidoginidae) e nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) Tese (Doutorado em Produção Vegetal) — Campos dos Goytacazes — RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro — UENF, 109p.
- Abd-Elgawad, M.M.M. Mohamed, M.M.M. (2006) Efficacy of selected bio-control agents on *Meloidogyne incognita* on eggplant. Nematol. medit. (2006), 34: 105-109.
- AGRA FNP (2007) Cana. *In*: Agriannual: Anuário da Agricultura Brasileira. FNP: São Paulo. 516 p.
- Agrobyte (2011) Cana. Broca-da-cana: [http://www.agrobyte.com.br/index.php?pag=cana&cana=broca\\_da\\_cana](http://www.agrobyte.com.br/index.php?pag=cana&cana=broca_da_cana) em 17/01/11 página mantida pela AGROBYTE.
- Almeida, L.C. (2005) Bicudo da cana-de-açúcar. Boletim Técnico C. T. C., Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, p. 1-3.
- Almeida, L. C.; Stingel, E. (2005) Curso de monitoramento e controle de pragas da cana-de-açúcar. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. 32 p.
- Andaló, V.; Moino Junior, A.; Santa-Cecília, L.V.C.; Souza, G.C. (2004) Seleção de isolados de fungos e nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.71, n.2, p.181-187, abr./jun.
- Barbosa-Negrisoni, C.R.C.; Negrisoni Jr., A.S. ; Dolinski, C.; Bernardi, D. (2010). Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) to control Brazilian apple leafroller *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae). Crop Protection, v. 29, p. 1274-1279, 2010.



- Baur, M.E.; Kaya, H.K.; Tabashnik, B.E. (1997) Efficacy of a dehydrated *Steinernematid* nematode against black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) and diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 1200-1206.
- Baur, M.E.; Kaya, H.K.; Thurston, G.S. (1995) Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. *Entomol. Exp. Appl.* 77: 239-250.
- Benedini, M.S. (2007) Os fornecedores e o controle da broca-da-cana. *Revista Coplana – Maio/Junho.* p. 20-21.
- Botelho, P.S.M.; Macedo, N. (2002) *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: Parra, J.R.P.; Botelho, P.S.M.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Bento, J.M.S. (eds.). *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores.* Barueri: Manole. p.409-425.
- Botelho, P.S.M.; Parra, J.R.P.; Neto, J.F.C.; Oliveira, C.P.B. (1999) Associação do Parasitóide de Ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do Parasitóide Larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no Controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em Cana-de-açúcar. *An. Soc. Entomol. Brasil* 28(3): 491-496 (1999).
- Botelho, P.S.M. (1985) Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval de *Diatraea saccharalis* (Fabricius 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). Tese de Doutorado. ESALQ/USP, Piracicaba-SP, 110 p.
- Cabanillas, H.E. (2003) Susceptibility of the boll weevil to *Steinernema riobrave* and other entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 82, p. 188-197.
- Cabanillas H.E.; Raulston JR. (1994) Evaluation of the spatial pattern of *Steinernema riobrave* in corn plots. *J. Nematol.* 26: 25–31.

- Campos, M.B.S.; Macedo, N. (2004) Cana-de-açúcar - ampliando campo de ataque. *Cultivar: Grandes Culturas*, Pelotas, v.6, n. 68, p.23-26.
- Carvalho, J.S. (2006) Aspectos reprodutivos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em condições de laboratório. 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Cobb. (2011) Calibração das aeronaves e técnicas de aplicação em BVO®: <http://www.bioaeronautica.com.br/manuais/manual-bvo-aereo-pg4.php> em 12/02/2011 página mantida pelo Centro Brasileiro de Bioaeronáutica.
- Coolen & D'Herde (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. *Gent: State nematology and entomology research station*. 77 p.
- Conab. (2011) Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, terceiro levantamento, janeiro/2011. Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília.
- Conab. (2010) Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto / Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília.
- Costa, M.G.; Barbosa, J.C.; Yamamoto, P.T. (2007) Planos de amostragem seqüenciais para *Orthezia praelonga* Douglas (Hemiptera: Sternorrhyncha, Ortheziidae) na cultura de citros. *Neotropical Entomology* 36(6):932-938.
- Costa, M.J.N.; Campos, V.P.; Oliveira, D.F. (2001) Toxicidade de extratos vegetais e de esterco a *Meloidogyne incognita*. *Summa Phytopatologica*, 27(2):22-23.
- Curran, J. (1992) Influence of application method and pest population size on field efficacy of entomopathogenic nematodes. *J. Nematol.* 24: 631–636.
- Daher, R.F., Maldonado, H., Gomes, F.F., Fábregas, I.C.S., Soares, C.da S., Fonseca, C.W. da, (2002) Introdução e avaliação de 12 gramíneas forrageiras

em Campos dos Goytacazes, RJ. *Ciênc. agrotec.* Lavras: Edição Especial, p. 1575-1579.

Del Valle, E.E.; Dolinski, C.; Souza, R.M. (2008) Dispersal of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied to the soil as infected host cadavers. *International Journal of Pest Management*. Vol. 54. No. 2. April-june. 115-122.

Del Valle, E.E.; Dolinski, C.; Barreto, E.L.S.; Souza, R.M.; Samuels, R.I. (2007) Efficacy of *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Rhabditida) applied in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) insect cadavers to *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae) larvae. *Biocontrol Science and Technology*, v. 18, p. 33-41.

Del Valle, E.E., Dolinski, C., Souza, R.M., Samuels, R.I. (2005a) Avaliação de Metodologias de Seleção para Tolerância a Elevadas Temperaturas em *Heterorhabditis baujardi* (Nematoda: Rhabditida). *Nematol. Bras.* 29: 207-214.

Del Valle E.E.; Dolinski C.; Souza R.M.; Samuels R.I. (2005b) Performance de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (28) (Nematoda: Rhabditida), Seleccionada para Tolerância a Elevadas Temperaturas, no Controle de *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematol. Bras.* 29: 199-205.

Dieese. (2007) Estudos e pesquisas. Desempenho do setor sucroalcooleiro brasileiro e os trabalhadores. Ano 3. nº 30 – Fevereiro.

Dinardo-Miranda, L.L. (2008) Nematóides. *In*: Dinardo-Miranda, L.L.; Vasconcelos, A.C.M.; Landell, M.G.A. Cana-de-açúcar. Campinas, SP: IAC. p. 403-420.

Dinardo-Miranda, L.L. (2006) Manejo de nematóides na cana-de-açúcar. *In*: Segato, S.V., Pinto, A.S., Jendiroba, E., Nóbrega, J.C.M. *Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415 p.

- Dinardo-Miranda, L.L. (2005) Manejo de nematóides em cana-de-açúcar. *Tecnologia Agrícola. Jornal da cana*. Setembro. 64-67.
- Dolinski, C.; Kamitani, F.L.; Machado, I.R.; Winter, C.E. (2008) Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 103(2): 150-159, March.
- Dolinski, C.; Vale, E.E. del; Stuart, R.J. (2006a) Virulence of entomopathogenic nematodes to larvae of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* (Coleoptera: Curculionidae), in laboratory and greenhouse experiments. *Biological Control*, v. 38, p. 422-427.
- Dolinski, C.; Moino Jr, A. (2006) Utilização de nematóides entomopatogênicos nativos ou exóticos: O perigo das introduções. *Nematologia brasileira*, v. 30, n.2, p. 139-149.
- Dowds, B.C.A.; Peters, A. (2002) Virulence mechanisms. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematol.* CABI Publishing, New York, NY, pp. 79–98.
- Dunphy, G.B.; Webster, J.M. (1986) Temperature effects on the growth and virulence of *Steinernema feltiae* strains and *Heterorhabditis heliothisdis*. *Journal of nematology*, v. 18, p. 270-272.
- Ereno, D. (2003) Inimigos valiosos. Empresa de Piracicaba produz e exporta insetos para combater pragas agrícolas. *Pesquisa FAPESP*. Edição 87. [http://www.revistapesquisa.fapesp.br/novo\\_site/extras/imprimir.php?id=2162&bid=1](http://www.revistapesquisa.fapesp.br/novo_site/extras/imprimir.php?id=2162&bid=1) em 09/06/2008.
- Fallon D.J., Kaya H.K., Gaugler R. and Sipes B.S., 2002. Effects of entomopathogenic nematodes on *Meloidogyne javanica* on tomatoes and soybeans. *Journal of Nematology*, 34: 239-245.

- Food and agricultural organization. *Country rank in the world, by commodity*. 2008. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.aspx>>. Acesso em: 23 de fev. 2011.
- Freitas, L.G., Lima, R.D. de, Ferraz, S. (2006) Introdução à nematologia. Viçosa, UFV. 84 p.
- Forst, S.; Clarke, D. (2002) Bacteria-nematode symbiosis. *In*: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematol.* CABI Publishing, New York, NY, pp. 57–77.
- Fuller, B.W.; Reagan, T.E. (1988) Comparative predation of the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) on sweet sorghum and sugarcane. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 81, p. 713-717.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Neto, S.S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C. de; Berti filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. (2002) *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, Fealq. 920 p.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Neto, S.S.; Carvalho, R.P.L.; Baptista, G.C. de; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. (1988) *Manual de Entomologia Agrícola*. Piracicaba, Ceres. 649 p.
- Garcia, L.C.; Raetano, C.G.; Wilcken, S.R.S.; Ramos, H.H.; Leite, L.G.; B. Filho, A.; Moscardi, F. (2005). Pressurização da calda de pulverização na viabilidade de microrganismos entomopatogênicos. *Eng. Agríc. Jaboticabal*, v.25, n.3, p.783-790, set./dez.
- Gaugler, R.; Bilgrami, A. L. (eds.) (2004) *Nematode behaviour*. CABI Publishing, 170p.
- Georgis, R.; Hom, A. (1992) Introduction of entomopathogenic nematode products into Latin America and the Caribbean. *Nematropica*, v.22, p.81-98.

- Gitahy, P. de M.; Galvão, P.G.; Araújo, J.L.S.; Baldani, J.I. (2006) Perspectivas biotecnológicas de *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. 44p.
- Gaugler, R.; Bilgrami, A. L. (eds.) (2004) Nematode behaviour. *CABI Publishing*, 170p.
- Glazer, I.; Navon, A. (1990) Activity and persistence of entomopathogenic nematodes tested against *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 1795-1800.
- Glazer, I.; Klein, M.; Navon, A.; Nakache, Y. (1992) Comparison of efficacy of entomopathogenic nematodes combined with antidesiccants applied by canopy sprays against three cotton pests (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 85: 1636-1641.
- González, J.C.L. (2006) Avaliação de aspectos biológicos de *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Heterorhabditidae) visando a aplicação num sistema de irrigação por microaspersão. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 88p.
- Grewal, P.S. (2002) Formulation and application technology. *In*: Gaugler, R. (Ed.), Entomopathogenic Nematology. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 265-288.
- Grewal, P.S.; Lewis, E.E.; Venkatachari, S. (1999) Allelopathy: a possible mechanism of suppression of plant-parasitic nematodes by entomopathogenic nematodes. *Nematology* 1, 735–743.
- Grewal, P.S. (1998) Formulation of entomopathogenic nematodes for storage and application. *Japanese Journal of Nematology* 28: 68-74.

- Grewal P.S.; Martin, W.R.; Miller, R.W.; Lewis, E.E. (1997) Suppression of plant-parasitic nematode populations in turfgrass by application of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 7: 393-399.
- Hunt, D.J. (1981) Evaluation of nematodes as biocontrol agents of sugarcane froghopper, *Aeneolamia varia*. Report, Commonwealth Institute of Parasitology. St Albans, Hertfordshire, 42p.
- Huang, F.; Leonard, B.R.; Wu, X. (2007) Resistance of sugarcane borer to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124, 117–123.
- Hu, K. J.; Li, J. X.; Webster, J. M. (1999) Nematicidal metabolites produced by *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae), bacterial symbiont of entomopathogenic nematodes. *Nematology* 1, 457–469.
- Ishibashi, N (2002) Behaviour of Entomopathogenic Nematodes. *In*: Lee, D. L. (ed.) *The biology of nematodes*, London: *Taylor & Francis*, p. 511- 520.
- Jagdale, G.B.; Grewal, P.S. (2008) Influence of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* infected host cadavers or their extracts on the foliar nematode *Aphelenchoides fragariae* on *Hosta* in the greenhouse and laboratory. *Biological Control*, Volume 44, Issue 1, January 2008, Pages 13-23.
- Kaya, H.K.; Gaugler, R. (1993) Entomopathogenic nematodes. *Annual Review of Entomology*. v. 38, p. 181-206.
- Koffler, N.F.; Donzeli, P.L. (1987) Avaliação dos solos brasileiros para a cultura da cana-de-açúcar. *In*: Paranhos, S.B. *Cana-de-açúcar. Cultivo e utilização*. Campinas, SP: Fundação Cargill, p. 19-41.

- Koppenhöfer, A. M.; Grewal, P. S. (2005) Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. *In: Nematodes as Biocontrol Agents*. CABI, New York, NY, pp. 363-381.
- Lacey, L.A.; Shapiro-Ilan, D.I.; Glenn, G.M. (2010) Post-application of anti-desiccant agents improves efficacy of entomopathogenic nematodes in formulated host cadavers or aqueous suspension against diapausing codling moth larvae (Lepidoptera: Tortricidae). *Biocontrol Science and Technology*. Vol. 20, nº 9, p. 909-921.
- Lara, J.C.; Dolinski, C.; Souza, E.F.; Daher, R.F. (2008) Effect of mini-sprinkler irrigation system on *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Nematoda: Heterorhabditidae) infective juvenile. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.65, n.4, p.433-437, July/August.
- Lee, D.L. (2002) Behaviour. *In: Lee, D.L. (ed.) The biology of nematodes*, London, *Taylor & Francis*, p. 369-388.
- Lastra, B.; Gómez L.A. (2006) La cría de *Diatraea saccharalis* (F.) para la producción masiva de SUS enemigos naturales. Cali, Cenicaña. *Serie Técnica*, n. 36, 30 p.
- Lee, D.L. (2002) Behaviour. *In: Lee, D.L. (ed.) The biology of nematodes*, London, *Taylor & Francis*, p. 369-388.
- Leite, L.G.; Tavares, F.M.; Bussóla, R.A.; Amorim, D.S.; Ambrós, C.M.; Harakava, R. (2007) Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) contra larvas da mosca-dos-fungos (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhbditis indica* Poinar et al. 1992 em substratos orgânicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.74, p.337-342.
- Leite, L.G.; Machado, L.A.; Ambrós, C.M.; Taváres, F.M. (2006) O uso de nematóides entomopatogênicos no controle de pragas da cana-de-açúcar. *In:*



Pinto, A.S. *Controle de pragas da cana-de-açúcar*. 1 ed. Sertãozinho, BIOCONTROL, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, 1).

Leite, L.G.; Machado, L.A.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M.; Batista Filho, A. (2005) Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology* v. 34, n. 5, p. 785-790.

Leite, L.G.; Machado, L.A.; Aguilera, M.M.; Batista Filho, A.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M. (2003) Uso de nematóides entomopatogênicos em cana-de-açúcar. Resumos apresentados no XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia. P.232. Vol. 27(2).

Leite, L.G.; Machado L.A.; Aguilera, M.M.; Rodrigues, R.C.D.; Negrisoli Jr, A.S. (2002) Patogenicidade de *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida) contra ninfas da cigarrinha-das-raízes da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). *Rev. Agric.* 78: 139-148. *In*: Leite, L.G.; Machado, L.A.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M.; Batista Filho, A. (2005) Screening of Entomopathogenic Nematodes (Nemata: Rhabditida) and the Efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology*. 34(5): 785-790. September-October.

Lewis, E.E. (2002) Behavioural ecology. *In*: Gaugler, R. Entomopathogenic nematology. CABI Publishing. New York. p. 205-223.

Lima Filho, M.; Gomes, J.O. de. (2003) *Diatraea saccharalis* (Fabr.) em cana-de-açúcar na região do norte fluminense do estado do Rio de Janeiro: Flutuação populacional e parasitismo de ovos por *Trichogramma* spp. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*. Vol. 22, n. 2, p. 33-44.

Lima Filho, M. *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar no norte do estado do Rio de Janeiro: Taxa de parasitismo de ovos em

função do número e da distância do ponto de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *In: Aperfeiçoamento dos sistemas de produção e liberação inundativa de Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar. Campos dos Goytacazes, 1999. 111f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Lobo Jr, M.I. (2011) Pulverizadores autopropelidos: <http://pt.scribd.com/doc/4864205/Pulverizadores-Autopropelidos> em 11/03/2011 página mantida pela SCRIBD.

Lordello, L.G.E. (1981) *Nematóides das plantas cultivadas*. 6. ed. São Paulo: Nobel, 341 p.

Macedo, N.; Macedo, D (2007) Manejo da broca protege produtividade. *Correio Agrícola*, São Paulo, n.1, p.26-27.

Machado, L.A.; Habib, M.; Leite, L.G.; Calegari, L.C.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M. (2005) Patogenicidade de nematóides entomopatogênicos a ovos e larvas de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (coleoptera: vesperidae) *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.72, n.2, p.221-226, abr./jun.

Machado, L.A.; Habib, M.; Leite, L.G.; Goulart, R.M.; Tavares, F.M.; Calegari, L.C.; Lainetti, D.O. (2003) Controle de *Migdolus fryanus* na cultura da cana-de-açúcar com nematóides entomopatogênicos. *In: Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico – Cana-de-açúcar*. 9. Catanduva, S.P., *Anais da Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico: Campinas*. p. 70-78.

Marucci, R (2006) Controle biológico da broca-da-cana: <http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1247> em 15/01/2011 página mantida pela REHAGRO.

- Mccooy, C.W.; Duncan, L.W.; Stuart, R.J.; Shapiro, D.W. (2002) Development of entomopathogenic nematodes as a management tactic for citrus root weevils in Florida, pp. 110-114. *In: International colloquium on invertebrate pathology*, 8., Fóz do Iguaçú. *Proceedings*. Fóz do Iguaçú: Society for Invertebrate Pathology.
- Minas, R.S.; Burla, R.S.; Machado, I.R.; Robaina, R.R.; Dolinski, C.M.; Souza, R.M. (2008) Controle biológico de *Ceratitidis capitata* utilizando o nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis baujardi* Lpp7 a campo. *In: Anais do VII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba*.
- Moura, R.M.; Régis, E.M.O.; Moura, A.M. (1990) Espécies e raças de *Meloidogyne* assinaladas em cana-de-açúcar no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Nematologia Brasileira*, v. 14, p. 33-38.
- Mozambini, A.E.; Pinto, A.S.; Segato, S.V.; Mattiuz, C.F.M. (2006) História e morfologia da cana-de-açúcar. *In: SEGATO, S.V.; Pinto, A.S.; Jendiroba, E.; Nóbrega, J.C.M. Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415 p.
- Negrisoni, (2010) Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) to control Brazilian apple leafroller *Bonagota salubricola* (Meyrick, 1937) (Lepidoptera: Tortricidae). *Crop Protection*, v. 29, p. 1274-1279, 2010.
- Neiva (2011) Vantagens da pulverização aérea: [http://www.aeroneiva.com.br/site/content/produtos/produtos\\_ipanema\\_vant\\_pulv.asp](http://www.aeroneiva.com.br/site/content/produtos/produtos_ipanema_vant_pulv.asp) em 12/02/2011 página mantida pela Industria Aeronáutica Neiva Ltda.
- Novaretti, W.R.T.; Téran, F.O. (1983) Controle de nematóides parasitos da cana-de-açúcar. *Reunião técnica agrônômica*, 1, Piraciaba: Fealq, p. 16-24.
- Pappa, T.N.A.; Viel, S.R.; Carvalho, J.S. (2007) Efeito do número de brocas da cana-de-açúcar por caixa de desenvolvimento no tempo gasto para produção

em laboratório de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu: Sociedade de Ecologia do Brasil. 23 a 28 de setembro.

Pereira, M.F.A.; Boiça Jr., A.L.; Barbosa, J.C. (2004). Amostragem seqüencial (Presença-Ausência) para *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Neotropical Entomology* 33(4):499-504.

Perez, J.M.; Martínez, E.; Machado, F.; Prado, R.; Rodríguez, O.; Mollinedo, Y.; González, B. L. (2000) Utilización de nemátodos entomopatógenos en la lucha contra el cogollero del tabaco Centro Agrícola, No. 3, año 27, julio-sept.

Pillay, U.; Martin, L.A.; Rutherford, R.S.; Berry, S.D. (2009) Entomopathogenic nematodes in sugarcane in south Africa. *Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.* 82: 538-541.

Pimentel, G.F. (2000) O uso da regressão na análise de variância. *In: Pimentel, G.F. Curso de Estatística Experimental*, 14. ed. Piracicaba: Frederico Pimentel-Gomes (editor), p. 236-260.

Pinto, A.S.; Cano, M.A.V.; Santos, E.M. (2006a) A broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. *In: Controle de pragas da cana-de-açúcar*. 1 ed. Sertãozinho, BIOCONTROL, 64 p. (Boletim Técnico Biocontrol, 1).

Pinto, A.S.; Garcia, J.F.; Oliveira, H.N. (2006b) Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar. *In: Segato, S.V.; Pinto, A.S.; Jendiroba, E.; Nóbrega, J.C.M. de. Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica, 415p.

Poinar G.O., Hom A. (1986) Survival and horizontal movement of infective stage *Neoplectana carpocapsae* in the field. *J. Nematol.* 18: 34–36.

- Ramos-Rodríguez, O.; Campbell, J.F.; Ramaswamy, S.B. (2007) Efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema riobrave* against the stored-product insect pest *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *Biological Control*, v.40, p.15-21.
- Rodrigues, D. (2011) Crescimento do setor sucroalcooleiro é resultado da forte demanda mundial, afirma Ministério da Agricultura: <http://www.jallesmachado.com.br/saladeimprensa/2011/01/crescimento-do-setor-sucroalcooleiro-e-resultado-da-forte-demanda-mundial-afirma-ministerio-da-agricultura/> em 14/01/2011 página mantida pela JALLES MACHADO S/A.
- Rosa, J.M.O.; Wilcken, S.R.S.; Wilcken, C.F.; Leite, L.G. (2008) Patogenicidade de *Steinernema carpocapsae* (Rhabditidae: Steinernematidae) ao Cupim de Montículo *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae). *Nematologia Brasileira*. Piracicaba, S.P. Vol. 32(4).
- Rosseto, R.; Santiago, A.D. (2011) Pragas no colmo: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_131\\_272200817517.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_131_272200817517.html) em 17/01/2011 página mantida pela EMBRAPA.
- Samaliev, H. Y.; Andreoglou, F. I.; Elawad, S. A.; Hague, N. G. M.; Gowen, S. R.; 2000. The nematicidal effects of the *Pseudomonas oryzae* and *Xenorhabdus nematophilus* on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology* 2, 507–514.
- Shapiro-Ilan, D. I.; Gaugler, R. (2011) Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae): <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/nematodes.html> em 12/03/2011 página mantida pela COLLEGE OF AGRICULTURE AND LIFE SCIENCES.
- Spaull V.W. (1990) Field tests to control the Pyralid, *Eldana saccharina*, with an entomogenous nematode, *Heterorhabditis* sp. *Proc S Afr Sug Technol Ass* 64: 103-106.

- Spaull V.W.A (1988) Preliminary evaluation of entomogenous nematodes to control the African sugarcane stalk borer *Eldana Saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae). *Proc S Afr Sug Technol Ass* 62: 120-123.
- Segato, S.V.; Pinto, A. de S.; Jendiroba, E.; Nóbrega, J.C.M. de. (2006) *Atualização em produção de cana-de-açúcar*. Piracicaba, SP: Prol Editora Gráfica. 415p.
- Shields, E.J.; Testa, A.; Miller, J.M.; Flanders, K.L. (1999) Field efficacy and persistence of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* 'Oswego' and *H. bacteriophora* 'NC' on alfalfa snout beetle larvae (Coleoptera:Curculionidae). *Environ. Entomol.* 28: 128-136.
- Silva, A.E. da; Silva, A.N. da; Voss, M. (1994) Compatibilidade de adjuvantes com o isolado NEPT 19 de nematóide entomopatogênico (Nematoda: Heterorhabditidae). Anais dos resumos da IV Mostra de Iniciação Científica da Embrapa Trigo. Passo Fundo, 2008. Documentos on line, nov. 94.
- Surrey, M.R., Wharton, D.A. (1995) Desiccation survival of the infective larvae of the insect parasitic nematode, *Heterorhabditis zealandica* Poinar. *Int. J. Parasit.* 25: 749-752.
- Tavares, F.M.; Batista Filho, A.; Leite, L.G.; Almeida, L.C.; Silva, A.C.; Ambrós, C.M.G. (2007) Efeito de *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. (Nemata: Rhabditida) sobre larvas do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), em laboratório e casa-de-vegetação. *Nematologia Brasileira*. Piracicaba, SP, v.31, nº 1, p. 12-19.
- Tihohod, D. (2000) *Nematologia agrícola aplicada*. 2. ed. amp. Jaboticabal, SP: FUNEP/FAPESP. 473p. il.
- Toledo, J.; Rasgado, M.A.; Ibarra, J.E.; Gómez, A.; Liedo, P.; Willians, T. (2005) Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis*

*bacterioph*a (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, Abingdon. v.15, n.6, 627-634p.

Trein, C.R.; Levien, R. (2010) Pulverizadores agrícolas: [http://www.scribd.com/doc/22169337/MECANIZACAO-AGRICOLA-Pulverizado res-Agricolas](http://www.scribd.com/doc/22169337/MECANIZACAO-AGRICOLA-Pulverizado-res-Agricolas) em 12/02/2011 página mantida pela SCRIBD.

Waquil, J.M. (2007) Cultivo do sorgo: [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo\\_2ed/pragas.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo_2ed/pragas.htm) em 26/01/11 página mantida pela EMBRAPA.

Wilson, M., Nitzsche, P.; P.W. Shearer, P.W. (1999) Entomopathogenic nematodes to control black vine weevil (Coleoptera: Curculionidae) on strawberry. *J. Econ. Entomol.* 92: 651-657.