

Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae)

Fernando Henrique Carvalho Giometti ⁽¹⁾; Luís Garrigós Leite ^(2*); Fernando Martins Tavares ⁽²⁾; Fábio Silber Schmit ⁽²⁾; Antonio Batista Filho ⁽²⁾; Raphaela Dell'Acqua ⁽²⁾

⁽¹⁾ Mestrando em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio, Instituto Biológico, Av. Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, 04014-002 São Paulo (SP). E-mail: fhcgometti@biologico.sp.gov.br

⁽²⁾ Instituto Biológico, Centro Experimental, Caixa Postal 70, 13001-970 Campinas (SP), Brasil. E-mail: lgleite@biologico.sp.gov.br

(*) Autor correspondente.

Recebido: 5/mar./2009; Aceito: 1^a/jun./2010

Resumo

O bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), é uma importante praga de solo dos canaviais no Estado de São Paulo, ocasionando prejuízos de até 30 t de cana/ha/ano. Visando ao controle biológico desta praga, esse estudo teve por objetivo avaliar a virulência de 17 isolados de nematóides entomopatogênicos do gênero *Steinernema* e *Heterorhabditis* contra adultos de *S. levis*, e o efeito dos quatro nematóides mais virulentos em três dosagens cada um. A pesquisa foi realizada em condições de laboratório, sendo realizados quatro ensaios para o estudo de virulência. Os nematóides selecionados como mais virulentos em cada teste foram *S. brazilense* IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10, *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 e *Heterorhabditis* sp. IBCB n44, sendo os únicos que diferenciaram significativamente das respectivas testemunhas com 45%, 40%, 20% e 31% de mortalidade do inseto na concentração de 240 juvenis infectivos (JI)/inseto. No teste de dose, os isolados de *Heterorhabditis* identificados como IBCB n10, IBCB n24 e IBCB n44 destacaram-se quanto à virulência para os adultos do bicudo da cana-de-açúcar, diferindo significativamente da testemunha na maior dose avaliada (1200 JI/inseto) com níveis de mortalidade do inseto de 60%, 65,7% e 74,3% respectivamente.

Palavras-chave: Controle biológico, manejo integrado de pragas, bicudo da cana-de-açúcar, *Steinernema*, *Heterorhabditis*.

Virulence of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) against *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae)

Abstract

The sugarcane billbug, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) is an important underground pest of the sugarcane crop in São Paulo state, causing losses up to 30 tons of cane/ha/year. This study aimed to evaluate the virulence of 17 strains of entomopathogenic nematodes on the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* against adults of *S. levis*, and the effect of the four most virulent ones in three dosage each one. The research was done in laboratory conditions, performing four tests related to the virulence study and one related to the dosage study. *S. brazilense* IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10, *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 and *Heterorhabditis* sp. IBCB n44 were the most virulent ones, differing significantly from the respective control with 45%, 40%, 20% and 31% mortality of insects using the concentration of 240 infective juveniles (IJ)/insect. For the dosage test, the strains IBCB n10, IBCB n24 and IBCB n44 of *Heterorhabditis* noteworthy concerning the virulence for adults of the sugarcane billbug, differing significantly from the control at the higher dosage (1200 IJ/insect) with insect mortality levels of 60%, 65,7% e 74,3%, respectively.

Key words: Biological control, pest management, sugarcane billbug, *Steinernema*, *Heterorhabditis*.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 710 milhões de toneladas colhidas na safra 2009/2010, em área plantada de 8,89 milhões de hectares (PORTAL DO AGRONEGÓCIO, 2010). À medida que as áreas de plantio de cana-de-açúcar vêm se expandindo, ocorre um aumento proporcional de problemas relacionados a insetos pragas, com destaque para o bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae), considerado fator limitante para essa cultura em algumas regiões do Estado de São Paulo (ALMEIDA, 2005).

O dano causado por esse inseto ocorre no rizoma da planta abaixo do nível do solo, local onde a larva se alimenta e se abriga, abrindo galerias circulares e longitudinais na base da brotação. Esse ataque resulta no amarelecimento da folha e na morte do perfilho, consequentemente ocasionando falhas nas rebrotas das soqueiras. Os adultos também se abrigam abaixo do nível do solo e raramente são encontrados voando. As fêmeas colocam entre 60 e 70 ovos ao longo de sua existência na base das touceiras de cana (PRECETTI e ARIGONI, 1990, DEGASPARI et al., 1987).

O foco inicial de *S. levis* como praga da cana-de-açúcar ocorreu em Santa Bárbara do Oeste (SP) em 1978. PRECETTI e ARIGONI (1990) relataram essa praga como responsável por causar a morte de 50% a 60% dos perfilhos ainda na fase de cana-planta, com cinco a sete meses de crescimento, na região de Piracicaba (SP), podendo ocasionar perdas de até 30 t ha⁻¹ por ano (ALMEIDA 2005). Esse curculionídeo vem assumindo grande importância, principalmente por estar se disseminando em áreas onde sua incidência ainda não havia sido registrada nesse Estado (ALMEIDA, 2005).

Estudos de controle do bicudo têm avaliado principalmente o uso de produtos químicos, não havendo até o momento nenhum inseticida registrado contra esse inseto no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diversos métodos alternativos vêm sendo estudados ou recomendados para o controle do inseto (PRECETTI e ARIGONI 1990, DINARDO-MIRANDA 2005, ALMEIDA 2005) sem ainda haver resultados conclusivos quanto à eficiência de campo ou viabilidade de uso.

Para outras espécies de *Sphenophorus* que ocorrem nos EUA e Japão têm-se adotado também o controle biológico com o uso de nematóides entomopatogênicos (NEPs) dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Rhabditida: Steinernematidae/Heterorhabditidae) (SMITH, 1994), contra diversas espécies de curculionídeos, com alta eficiência à forma larval e adulta (SHAPIRO-ILAN et al., 2002). Esses nematóides possuem a capacidade de buscar seu hospedeiro no solo e em ambientes crípticos, invade-o e mata-o no prazo de 24 a 72 horas após liberarem uma bactéria altamente virulenta ao inseto, que se localiza no trato digestivo do agente (FERRAZ, 1998).

No Brasil, nematóides entomopatogênicos já foram avaliados contra larvas do bicudo da cana-de-açúcar em teste de laboratório, sendo bastante virulentos para o inseto (TAVARES et al., 2007). No entanto, novos estudos são necessários procurando comprovar a ação patogênica e selecionar isolados desses agentes também para adultos do bicudo, uma vez que, nessa fase, o inseto permanece enterrado no solo do canavial, tornando-se também alvo potencial para uso de nematóides. Por esse motivo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar em condições de laboratório a virulência de nematóides entomopatogênicos contra adultos de *Sphenophorus levis* e o efeito dos quatro nematóides mais virulentos em três dosagens cada um.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de nematóides avaliados foram obtidos da Coleção de Nematóides Entomopatogênicos do Banco de Entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu” do Instituto Biológico. Esses nematóides foram multiplicados em larvas de *Galleria mellonella* (3.º ao 5.º instar), mais conhecida como “traça dos favos”, as quais foram criadas em dieta artificial segundo metodologia descrita por MACHADO (1988). Os nematóides foram colhidos na forma de juvenis infectivos (JIs) e mantidos em lâmina de água (1 cm de espessura) dentro de bandejas acondicionadas em câmara climatizada, a 17 °C, sendo usados dentro do período de 10 dias após a colheita.

Os adultos do bicudo da cana-de-açúcar foram obtidos a partir de coletas em cultivo de cana-de-açúcar na Usina Maluf, Santo Antônio de Posse (SP). Para a coleta, foram utilizadas armadilhas atrativas formadas por toletes de cana de 30 cm, cortados transversalmente com a face interna colocada sobre o solo ao lado da linha da cultura.

Teste de virulência

Foram avaliados 17 isolados de nematóides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* provenientes de diversos hospedeiros e diferentes regiões geográficas (Tabela 1), quanto à virulência para adultos de *S. levis*. Para isso, foram realizados quatro bioensaios, nos quais foram avaliados três a cinco isolados de nematóides por bioensaio (Tabela 2).

Para cada bioensaio, foram consideradas sete repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por cinco adultos de *S. levis* agrupados em um pote plástico (13 cm de diâmetro por 9 de profundidade), contendo um pedaço de colmo de cana-de-açúcar (6 cm) coberto com 500 g de solo a 10% de umidade, totalizando 35 insetos por tratamento. Para o umedecimento do solo, previamente seco em estufa (100 °C), foi

adicionado água na proporção de 10% (peso de água/peso de solo). Os isolados foram aplicados em suspensão aquosa, com o auxílio de uma pipeta, adicionando-se em cada pote 0,5 mL da suspensão na dose equivalente de 240 JI/inseto (12 JI/cm²). Para o tratamento testemunha foi adicionado apenas água no volume de 0,5 mL/pote. Os potes foram mantidos em sala climatizada (fitotrom) com temperatura de 25 °C. As avaliações foram realizadas 12 dias após a aplicação, contando o número de insetos vivos e mortos.

Os insetos mortos foram transferidos para armadilhas adaptadas de “White” (WHITE, 1927) para confirmar a infecção pelos nematóides, utilizando-se como parâmetro a emergência de juvenis infectivos.

Teste de dosagens

A partir dos resultados, os quatro nematóides com melhor desempenho, ou seja, *S. brazilense* IBCB n6,

Tabela 1. Nematóides dos gêneros *Steinernema* (*S*) e *Heterorhabditis* (*H*) com suas respectivas origens e procedências, utilizados no experimento

Nematóide	Isolado	Origem	Procedência
<i>S. glaseri</i> (Steiner)	IBCB n1	Ovo de <i>Migdolus</i> sp.	Araras (SP)
<i>S. carpocapsae</i> (Weiser)	IBCB n2	Solo	Flórida (EUA)
<i>H. indica</i> Poinar et al.	IBCB n5	Solo – Pomar de citros	Itapetininga (SP)
<i>S. brazilense</i> Nguyen et al.	IBCB n6	Solo - Mata	Porto Murinho (MS)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n8	Solo – Pomar de citros	Itapetininga (SP)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n9	Solo - Mata	Porto Murinho (MS)
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	Solo – Pomar de manga	Santa Fé do Sul (SP)
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n13	Solo - Seringal	Pindorama (SP)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n15	Solo - Mata	Teodoro Sampaio (SP)
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	Larva de <i>S. levis</i>	Piracicaba (SP)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n25	Solo - Mata	Mogi-Guaçu (SP)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n26	Solo - Mata	Mogi-Guaçu (SP)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n31	<i>Scaptocoris castanea</i>	Naviraí (MS)
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n33	<i>Scaptocoris castanea</i>	Naviraí (MS)
<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n36	<i>Scaptocoris castanea</i>	Naviraí (MS)
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n40	Solo	Tabapuã (SP)
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	Solo - Canavial	Santa Adélia (SP)

Tabela 2. Mortalidade de adultos de *Sphenophorus levis* expostos a diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos na dose de 240 juvenis infectivos/inseto, em teste de laboratório (T=25 ± 1°C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas)

Teste	Tratamento	Isolado	Mortalidade %	Erro-padrão da média
Teste 1	Testemunha	----	0 a	0
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n9	15,0 ab	6,1
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n8	30,0 ab	12,2
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n15	30,0 ab	9,3
	<i>S. brazilense</i>	IBCB n6	45,0 b	16,6
Teste 2	Testemunha	----	5,7 a	3,7
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n31	11,4 ab	5,9
	<i>H. indica</i>	IBCB n5	14,3 ab	5,7
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n33	17,1 ab	6,8
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n13	20,0 ab	6,2
Teste 3	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	40,0 b	11,6
	Testemunha	----	0 a	0
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n40	2,9 a	2,9
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n25	11,4 ab	4,0
Teste 4	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	20,0 b	4,0
	Testemunha	----	2,9 a	2,9
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n26	14,3 ab	5,7
	<i>Steinernema</i> sp.	IBCB n36	17,1 ab	5,2
	<i>S. glaseri</i>	IBCB n1	17,1 ab	9,2
<i>S. carpocapsae</i>	IBCB n2	17,1 ab	2,9	
<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	31,4 b	7,4	

Médias seguidas de mesma letra, na coluna e dentro de um mesmo teste, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Heterorhabditis sp. IBCB n10, *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 e *Heterorhabditis* sp. IBCB n44, foram avaliados quanto à virulência para adultos do inseto nas dosagens de 60, 240 e 1200 JI/inseto, as quais equivaleram a 3, 12 e 60 JI/cm² respectivamente. A metodologia foi a mesma utilizada nos ensaios anteriores.

Análise estatística

Para todos os experimentos o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos de mortalidade de insetos foram transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA), comparando-se as médias pelo teste de Tukey (P<0,05) através do software SPSS 10.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de virulência

Nos dezessete nematóides testados observou-se grande variação na virulência para adultos de *S. levis*, proporcionando níveis de mortalidade do inseto entre 2,9% para *Heterorhabditis* sp. IBCB n40 e 45% para *S. brazilense* IBCB n6. Os nematóides mais virulentos foram o *S. brazilense* IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n44, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10 e *Heterorhabditis* sp. IBCB n24, sendo os únicos que diferenciaram significativamente das respectivas testemunhas com 45% (F=2,659; P=0,046), 40% (F=2,561; P=0,017), 20% (F=7,500; P=0,001) e 31% (F=2,316; P=0,02) de mortalidade do inseto (Tabela 2).

Apesar da maioria dos nematóides avaliados pertencerem ao gênero *Steinernema* (10), apenas um desse grupo foi selecionado entre os quatro mais virulentos, sendo os outros três pertencentes ao gênero *Heterorhabditis*. A menor virulência observada para todos os steinernematídeos, exceto para *Steinernema* sp. IBCB n6, deve-se provavelmente, entre outros fatores, ao maior tamanho desses nematóides comparados aos heterorhabditídeos, o que pode dificultar a penetração nas aberturas naturais dos insetos. Os heterorhabditídeos, além de serem menores, possuem pequenos apêndices na região cefálica que permitem aos nematóides penetrar no inseto também rompendo o seu tegumento, pelas regiões membranosas que oferecem pouca resistência (GEDEN et al., 1985).

SEPÚLVEDA-CANO et al. (2008) obtiveram melhor resultado com *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar comparado ao *Steinernema carpocapsae* quando avaliaram a virulência desses agentes para adultos do curculionídeo *Cosmopolites sordidus* (Germar), tendo ressaltado o fato de somente os heterorhabditídeos possuírem a capacidade de penetrar não só pelas aberturas naturais, mas também pela cutícula do hospedeiro.

Outros trabalhos também demonstram maior virulência de heterorhabditídeos sobre coleópteros como em teste realizado contra larvas de *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (BEDDING e MILLER, 1981; DORSCHNER et al., 1989), larvas e pupas de *Cylas formicarius* (Fabricius) (BÉLAIR et al., 2005), adultos de *C. sordidus* (ROSALES e SUÁREZ, 1998) e larvas de *Popillia japonica* Newman (WRIGHT et al., 1988), e sobre outros insetos como ninfas da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (LEITE et al., 2005), além de pré-pupas e pupas do tripes *Frankiniella occidentalis* (Pergande) (CHYZIK et al. 1996).

Em nosso estudo, o nematóide *S. carpocapsae* foi o segundo mais virulento no Teste 4 com 17,1% de mortalidade junto com outros dois nematóides também do gênero *Steinernema*. Esperava-se melhor resultado com o nematóide *S. carpocapsae*, visto que essa espécie e o nematóide *H. bacteriophora* vem sendo recomendados para o controle de insetos do gênero *Sphenophorus* que são pragas de gramados e pastagens nos EUA e no Japão, conhecidos como bicudos-das-gramíneas (GEORGIS e POINAR, 1989; KLEIN, 1990; WATSCHKE et al., 1995). Nesses casos em que o inseto ataca gramados e pastagens, as larvas dos primeiros ínstares cavam galerias no caule e rizoma das plantas, enquanto as dos últimos ínstares alimentam-se externamente dos órgãos subterrâneos (SHAPIRO-ILAN et al., 2002). Esse comportamento nas gramíneas provavelmente deixa esses insetos mais expostos à ação dos nematóides entomopatogênicos comparados ao *S. levis*, cujas larvas penetram no rizoma da cana-de-açúcar, permanecendo no interior do colmo em todos os estádios larvais. Consequentemente, os bicudos-das-gramíneas têm sido eficientemente controlados pelo uso dos nematóides *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae*, conforme tem sido evidenciado em alguns testes de campo. *S. carpocapsae*, na concentração de $2,5 \times 10^9$ JI/ha, proporcionou níveis de controle variáveis de 70,4 a 91,2% para *S. parvulus* Gyllenhal em estudos realizados nos Estados Unidos, e de 77,3 a 96,2% para *S. venatus vestitus* Chittenden em testes no Japão. Já *H. bacteriophora*, na mesma concentração, foi menos eficiente para *S. parvulus*, proporcionando níveis de controle variáveis de 67,0 a 84,1% (GEORGIS e POINAR, 1994; SMITH, 1994). Todos os estágios imaturos desses insetos são suscetíveis aos dois nematóides, o mesmo ocorrendo com os adultos de *S. venatus vestitus* em relação a *S. carpocapsae*. No Japão, *S. carpocapsae* tem sido mais eficiente no controle do *S. venatus vestitus* do que os inseticidas-padrão (média de 84% contra 69%, respectivamente) (SMITH, 1994; KINOSHITA e YAMANAKA, 1998).

No teste de dose, os isolados de *Heterorhabditis* identificados como IBCB n10, IBCB n44 e IBCB n24 destacaram-se quanto à virulência para os adultos do bicudo da cana-de-açúcar, diferindo da testemunha na maior dose (1200 JI/inseto) (F=7,540; P=0,001) com níveis de mortalidade do inseto de 60%, 65,7% e

Tabela 3. Mortalidade de adultos de *Sphenophorus levis* expostos a três dosagens de diferentes nematóides entomopatogênicos, em teste de laboratório (T=25 ± 1 °C, UR=70 ± 10% e fotofase de 12 horas)

Dose	Nematóide	Isolado	Mortalidade %	Erro-padrão da média
Testemunha	-	-	5,7 a	3,7
60 JI/inseto	<i>S. brazilense</i>	IBCB n6	11,4 ab	8,6
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	8,6 ab	4,0
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	31,4 abc	9,6
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	37,1 abcd	10,2
240 JI/inseto	<i>S. brazilense</i>	IBCB n6	8,6 ab	5,9
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	42,9 abcd	9,2
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	42,9 abcd	6,8
1200 JI/inseto	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	45,7 bcd	10,4
	<i>S. brazilense</i>	IBCB n6	40,0 abcd	10,7
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n10	60,0 cd	6,2
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n24	74,3 d	11,3
	<i>Heterorhabditis</i> sp.	IBCB n44	65,7 cd	5,7

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

74,3% respectivamente (Tabela 3). Portanto, os adultos de *S. levis* são suscetíveis a esses nematóides; porém, uma dose relativamente alta de 1200 JI/inseto, é necessária para matar mais de 50% dos insetos. Em teste contra adultos do curculionídeo *Sitona hispidulus* (Fabricius), o nematóide *H. bacteriophora* proporcionou até 48% de mortalidade do inseto na dose de 100 JI/inseto (LOYA e HOWER JR., 2003).

Segundo SMITH (1994), todos os curculionídeos são suscetíveis a nematóides entomopatogênicos em seus estágios imaturos, tendo sido obtido por TAVARES et al. (2007) em teste de casa de vegetação, 69% de mortalidade corrigida (ABBOTT) de larvas de *S. levis* quando expostas ao nematóide *Steinernema* sp. IBCB n6 na dose de apenas 24 JI/inseto.

Para os três nematóides heterorhabditídeos obteve-se um aumento gradativo na mortalidade dos insetos em função do aumento das dosagens. Já o nematóide *S. brazilense* IBCB n6 proporcionou níveis de mortalidade do inseto para as dosagens crescentes, de 11,4%; 8,6% e 40% respectivamente (Tabela 3), não diferindo dos demais nematóides e também da testemunha.

TAVARES et al. (2007) avaliaram a ação do nematóide *S. brazilense* IBCB n6 contra a fase larval de *S. levis* em casa-de-vegetação, não verificando aumento significativo na mortalidade do inseto em função do aumento da dose do agente de 24 (69%) para 600 JI/inseto (73%). A razão para essa pequena resposta na mortalidade do inseto ainda não é bem conhecida, porém pode estar relacionada à tendência do nematóide ser mais atraído para insetos previamente infectados pelo mesmo organismo. O pouco conhecimento da interação entre JIs e o hospedeiro dificulta a interpretação da dinâmica de infecção causada pelos nematóides entomopatogênicos (LEWIS et al., 2002).

Estudos em campo de cana-de-açúcar com o nematóide *S. brazilense* IBCB n6 visando ao controle de *S. levis* vêm demonstrando ganhos na produção de cana (LEITE et

al., 2006), sugerindo que o agente causa mortalidade na população do bicudo sem definir ao certo se o alvo principal são os adultos ou as larvas do inseto, ambos localizados abaixo da superfície do solo; a larva é encontrada dentro do rizoma da planta onde provoca galerias. É interessante salientar que o nematóide *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 foi observado originalmente em lavoura de cana-de-açúcar atacando larva de *S. levis* alojada dentro do rizoma da planta, merecendo ser avaliado em condições de campo quanto à eficiência para o controle do bicudo da cana-de-açúcar, juntamente com o isolado IBCB n44, sendo os mais virulentos para adultos do inseto.

4. CONCLUSÕES

1. Todos os isolados avaliados são patogênicos a adultos do bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis*.
2. Os nematóides *S. brazilense* IBCB n6, *Heterorhabditis* sp. IBCB n10, *Heterorhabditis* sp. IBCB n24 e *Heterorhabditis* sp. IBCB n44 são os mais virulentos contra adultos desse inseto.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.C. Bicudo da cana-de-açúcar. Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba: 2005. p.1-3. (Boletim Técnico C.T.C.)
- BEDDING, R.A.; MILLER, L.A. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control black vine weevil, *Otiobrychus sulcatus*, in potted plants. *Annals of Applied Biology*, v.99, p.211- 216, 1981.

- BÉLAIR, G.; WRIGHT, D.J.; CURTO, G. Vegetable and Tuber Crop Applications. In: GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U. & SHAPIRO-ILAN, D.I. (EDS.), *Nematodes as Biocontrol Agents*. Cambridge, CABI Publishing, 2005. p. 255-264.
- CHYZIK, R.; GLAZER, I.; KLEIN, M. Virulence and efficacy of different entomopathogenic nematode species against western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). *Phytoparasitica*, v.24, p.103-110, 1996.
- DEGASPARI, N.; BOTELHO, P.S.M.; ALMEIDA, L.C.; CASTILHO, H.J. *Biologia de Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col.: Curculionidae), em dieta artificial e no campo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.22, p.553-558, 1987.
- DORSCHNER, K.W.; AGUDELO-SILVA, F.; BAIRD, C.R. Use of heterorhabditid and steinernematid nematodes to control black vine weevils in hop. *Florida Entomologist*, v.72, p.544-556, 1989.
- FERRAZ, L.C.C.B. Nematóides Entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.541-569.
- GEDEN, C.J.; AXTELL, R.C.; BROOKS, W.M. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *S. glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). *Journal of Entomological Science*, v.20, p.331-339, 1985.
- GEORGIS, R.; POINAR JR, G.O. Field effectiveness of entomophilic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. In: Leslie, A.R.; Metcalf, R.L. (Ed.). *Integrated Pest Management for Turfgrass and Ornamentals*. Boca Raton, CRC, 1989. p. 213-224.
- GEORGIS, R.; POINAR JR, G.O. Nematodes as bioinsecticides in turf and ornamentals, In: Leslie, A. (Ed.). *Integrated Pest Management for Turf and Ornamentals*. Boca Raton: CRC, 1994. p.477-489.
- KINOSHITA, M.; YAMANAKA, S. Development and prevalence of entomopathogenic nematodes in Japan. *Japanese Journal of Nematology*, v.28, p.42-45, 1998.
- KLEIN, M.G. Efficacy against soil-inhabiting insect pests, In: GAUGLER, R.; KAYA, H.K. (Ed.). *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton: CRC, 1990. p.195-214.
- LEITE, L.G.; MACHADO, L.A.; GOULART, R.M.; TAVARES F.M.; BATISTA FILHO, A. Screening of entomopathogenic nematodes (Nemata: Rhabditida) and the efficiency of *Heterorhabditis* sp. against the Sugarcane Root Spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Fabr.) (Hemiptera: Cercopidae). *Neotropical Entomology*, v.34, p.785-790, 2005.
- LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; GINARTE, C.M.A.; CARREGARI, L.C.; BATISTA FILHO, A. Nematóides entomopatogênicos no controle de pragas. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Org.). *Controle Biológico de pragas: na prática*. Piracicaba: CP 2, 2006. p.45-53.
- LEWIS, E.E.; BARBAROSA, B.; GAUGLER, R. Mating and sexual communication of *Steinernema carpocapsae* (Nemata: Steinernematidae). *Journal of Nematology*, v.34, p.328-331, 2002.
- LOYA, L. J.; HOWER JR, A. A. Infectivity and reproductive potencial of the Oswego strain of *Heterorhabditis bacteriophora* associated with life stages of the clover root curculio, *Sitona hispidulus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.83, p.63-72, 2003.
- MACHADO, L.A. Criação de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In: CRUZ, B.B. (Ed). *Pragas das Culturas e Controle Biológico*. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p.8-35.
- PORTAL DO AGRONEGÓCIO. <http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=35322>. Acesso em 16 de fev. 2010.
- PRECETTI, A.A.C.; ARRIGONI, E.B. Aspectos bioecológicos e controle do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera, Curculionidae) em cana-de-açúcar. Piracicaba: Cooperativa de Produtores de Cana, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo, São Paulo, 1990. p.3-15. (Boletim Técnico COPERSUCAR)
- ROSALES, L.C.; SUÁREZ, Z. Nematodos entomopatogênicos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Entomología Venezolana*, v.13 p.123- 140, 1998.
- SEPULVEDA-CANO, P.A.; LOPEZ-NUNEZ, J.C.; SOTO-GIRALDO, A. Effect of two entomopathogenic nematodes on *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *Revista Colombiana de Entomología*, v.34, p.62-67, 2008.
- SHAPIRO-ILAN, D.I.; GOUGE, D.H.; KOPPENHÖFER, A.M. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In: GAUGLER, R. (Ed). *Entomopathogenic Nematology*. : New Jersey: Rutgers University, 2002. p.333-355.
- SMITH, K.A. Control of insect pests with entomopathogenic nematodes. 1994. Disponível em: <<http://www.ftc.agnet.org/library/article/tb139a.html>>. Acesso em: 21 set. 2005.
- TAVARES, F.M.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; SILVA, A. C.; AMBRÓS, C.M. 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*, v.31, p. 12-19, 2007.
- WATSCHKE, T.L.; P.H. DERNOEDEN, D.J. SHETLAR. *Managing Turfgrass Pests*. Boca Raton: CRC, 1995. 384p.
- WHITE, G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. *Science*, v.66, p.302-303, 1927.
- WRIGHT, R.J.; VILLANI, M.G. & AGUDELO-SILVA, F. Steinernematid and heterorhabditid nematodes for control of larval European chafers and Japanese beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) in potted yew. *Journal of Economic Entomology*, v. 81, p. 152-157, 1988