

EFICIÊNCIA DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS E INSETICIDAS QUÍMICOS CONTRA *Sphenophorus levis* E *Leucothyreus* sp. EM CANA-DE-AÇÚCAR¹

Luís Garrigós Leite², Fernando Martins Tavares², Paulo Sérgio Machado Botelho³, Antonio Batista Filho², Ricardo Antonio Polanczyk⁴, Fabio Silber Schmidt²

ABSTRACT

EFFICIENCY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES AND CHEMICAL INSECTICIDES AGAINST *Sphenophorus levis* AND *Leucothyreus* sp. ON SUGARCANE

The sugarcane billbug, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Dryophthoridae), is an important pest of sugarcane crops in the São Paulo State, Brazil. Their larvae damage plants rhizome, causing losses of up to 30 t ha⁻¹ year⁻¹ of sugarcane. In order to evaluate the effectiveness of entomopathogenic nematodes and chemical insecticides against the sugarcane billbug and the scarab beetle *Leucothyreus* sp., three field trials were carried out in Brazil. For the first one, 10 treatments were considered: 1) thiametoxan (Actara 250WG) 500 g ha⁻¹ of commercial product (c.p.); 2) thiametoxan 1.0 kg ha⁻¹ c.p.; 3) thiametoxan 1.5 kg ha⁻¹ c.p.; 4) *Steinernema brazilense* 10⁸ infective juveniles (IJ) ha⁻¹ + thiametoxan 250 g ha⁻¹ c.p.; 5) *S. brazilense* (10⁸ IJ ha⁻¹) + thiametoxan 500 g ha⁻¹ c.p.; 6) *Heterorhabditis indica* (10⁸ IJ ha⁻¹) + thiametoxan 250 g ha⁻¹ c.p.; 7) *H. indica* (10⁸ IJ ha⁻¹) + thiametoxan 500 g ha⁻¹ c.p.; 8) *S. brazilense* (10⁸ IJ ha⁻¹); 9) *H. indica* (10⁸ IJ ha⁻¹); and 10) Control. The second one consisted of five treatments: 1) thiametoxan (Actara 250WG) 800 g ha⁻¹ c.p.; 2) fipronil (Regente 800WG) 250 g ha⁻¹ c.p.; 3) *S. brazilense* (10⁸ IJ ha⁻¹); 4) *S. brazilense* (10⁸ IJ ha⁻¹) + thiametoxan 200 g ha⁻¹ c.p.; and 5) Control. In the third one, all treatments already mentioned for the second trial plus the mixture *S. brazilense* (10⁸ IJ ha⁻¹) + fipronil (Regente 800WG) 62.5 g ha⁻¹ c.p. were considered. All treatments with the insecticides and nematodes provided higher sugarcane yield, when compared to their respective controls, which were most damaged by *S. levis*, but without statistical significance. *S. brazilense* was more efficient on controlling this pest, if compared to *H. indica*, but without statistical significance. *S. brazilense* provided a 50% control of *Leucothyreus* sp. larvae, meanwhile the best treatments against this scarab were the mixtures of this nematode with fipronil (78%) and thiametoxan (83%).

KEY-WORDS: *Steinernema brazilense* Nguyen, Ginarte, Leite, Santos & Harakava 2010; *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David 1992; biological control; sugarcane billbug; scarab beetle.

RESUMO

O bicudo-da-cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Dryophthoridae), é uma importante praga em canaviais do Estado de São Paulo. Suas larvas destroem o rizoma da planta, causando prejuízos de até 30 t ha⁻¹ ano⁻¹ de cana. Três experimentos de campo foram conduzidos para avaliar a eficácia de nematoides entomopatogênicos e de inseticidas químicos no controle do bicudo-da-cana-de-açúcar e do escarabeídeo *Leucothyreus* sp. O primeiro consistiu de 10 tratamentos: 1) tiametoxam (Actara 250WG) 500 g ha⁻¹ de produto comercial (p.c.); 2) tiametoxam 1,0 kg ha⁻¹ p.c.; 3) tiametoxam 1,5 kg ha⁻¹ p.c.; 4) *Steinernema brazilense* 10⁸ juvenis infectivos (JI) ha⁻¹ + tiametoxam 250 g ha⁻¹ p.c.; 5) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 500 g ha⁻¹ p.c.; 6) *Heterorhabditis indica* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 250 g ha⁻¹ p.c.; 7) *H. indica* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 500 g ha⁻¹ p.c.; 8) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹); 9) *H. indica* (10⁸ JI ha⁻¹); e 10) Testemunha. No segundo, foram considerados cinco tratamentos: 1) tiametoxam (Actara 250WG) 800 g ha⁻¹ p.c.; 2) fipronil (Regente 800WG) 250 g ha⁻¹ p.c.; 3) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹); 4) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam (Actara 250WG) 200 g ha⁻¹ p.c.; e 5) Testemunha. O terceiro incluiu todos os tratamentos do segundo experimento, mais a mistura *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + fipronil (Regente 800WG) 62,5 g ha⁻¹ p.c. Todos os tratamentos com inseticidas e nematoides proporcionaram maior produção de cana, quando comparados às respectivas testemunhas, que foram mais danificadas por *S. levis*, mas sem diferenças significativas. O nematoide *S. brazilense* foi mais eficaz no controle deste inseto, quando comparado com *H. indica*, mas sem diferenças significativas. *S. brazilense* proporcionou 50% de controle das larvas de *Leucothyreus* sp., e os melhores tratamentos para controle deste inseto foram as misturas do nematoide com fipronil (78%) e tiametoxam (83%).

PALAVRAS-CHAVE: *Steinernema brazilense* Nguyen, Ginarte, Leite, Santos & Harakava 2010; *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David 1992; controle biológico; bicudo-da-cana-de-açúcar; escarabeídeo.

1. Trabalho recebido em maio/2011 e aceito para publicação em fev./2012 (nº registro: PAT 14348).
2. Instituto Biológico, Centro Experimental, Campinas, SP, Brasil. E-mails: lgleite@biologico.sp.gov.br, steinerfer@hotmail.com, batistaf@biologico.sp.gov.br, schmidtfs@yahoo.com.br.
3. Universidade Federal de São Carlos, Centro de Ciências Agrárias, Araras, SP, Brasil. E-mail: pbotelho@cca.ufscar.br.
4. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Fitossanidade, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: rapolanc@fcav.unesp.br.

INTRODUÇÃO

O bicudo-da-cana-de-açúcar [*Sphenophorus levis* (Vaurie 1978) (Coleoptera: Dryophthoridae)] é uma importante praga em canaviais do Estado de São Paulo. As larvas deste inseto destroem o rizoma da planta, causando prejuízos de até 30 t de cana ha⁻¹ ano⁻¹, além de reduzirem a longevidade do canavial (Preceti & Arrigoni 1990).

A importância de *S. levis* como praga da cana-de-açúcar, no Brasil, somente foi estabelecida a partir de 1977, sendo que, em 1989, o inseto foi detectado em 14 municípios da região de Piracicaba, interior do Estado de São Paulo, causando a morte de 50-60% dos perfilhos, ainda na fase de cana-planta, com cinco a sete meses de crescimento. Em 2005, *S. levis* encontrava-se distribuído em mais de 40 municípios, incluindo as regiões central, sul, nordeste e leste do Estado (Preceti & Arrigoni 1990, Dinardo-Miranda 2005).

Há dois picos populacionais, sendo que, para adultos, o menor ocorre nos meses de outubro e novembro e o maior em março, e, para as larvas, um em dezembro e o outro, de maior intensidade, entre junho e julho. Estes dados sugerem a ocorrência de duas gerações anuais da praga, em épocas bem definidas (Degaspari et al. 1987, Preceti & Arrigoni 1990).

Para o controle deste inseto, tem sido utilizado um conjunto de medidas, que consistem na destruição mecânica da soqueira, na época apropriada, uso de iscas tóxicas, manutenção da área com soqueira destruída livre de vegetação hospedeira, por um período prolongado de mais de três meses, e plantio com aplicação de fipronil (Regente 800 WG), na dose de 250 g ha⁻¹ de produto comercial (p.c.) (Preceti & Arrigoni 1990, Almeida 2005, Dinardo-Miranda 2005). Entretanto, apesar de todas estas medidas, ainda tem ocorrido incremento nas populações da praga, sendo frequentes, nos últimos anos, registros de novas áreas infestadas.

Outra praga da cana-de-açúcar que tem merecido atenção, no Estado de São Paulo, são os besouros escarabeídeos (Coleoptera: Scarabaeidae), cujas larvas atacam o sistema radicular da planta (Macedo & Macedo 2006). Estes insetos têm sido encontrados com frequência, em diversas regiões do Estado, principalmente em cana crua. No município de Sidrolândia (MS), foram registradas até 53,65 larvas m⁻², sendo *Anomonyx* sp. a espécie mais abundante, representando 87,99% do total (Coutinho et al. 2011).

Nos EUA e Japão, algumas espécies do gênero *Sphenophorus* são pragas importantes em gramados, sendo eficientemente controladas pelo uso de nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Estes organismos também têm sido utilizados em diversas regiões do mundo, no controle de larvas de escarabeídeos e de outros insetos (Grewal et al. 2005).

Uma das razões para o sucesso no uso destes agentes se deve à associação que possuem com bactérias simbiotes dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, armazenadas no intestino dos juvenis infectivos, os quais invadem o corpo do hospedeiro e liberam estas bactérias, causando a morte rápida do inseto. O nematoide alimenta-se intensamente da bactéria e dos tecidos do inseto morto, reproduzindo-se por várias gerações. Em consequência da escassez de nutrientes, milhares de juvenis infectivos (JI) deixam o cadáver do inseto, em busca de novos hospedeiros (Ferraz 1998).

O presente estudo teve por objetivo avaliar, em campo, a eficiência de nematoides entomopatogênicos e inseticidas químicos no controle do bicudo-da-cana-de-açúcar e de larvas do escarabeídeo *Leucothyreus* sp. (Coleoptera: Scarabaeidae).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três experimentos em cana-de-açúcar, instalados em períodos chuvosos (outubro a janeiro), sendo as aplicações realizadas sempre em um intervalo de, no máximo, três dias após as chuvas, portanto, em condições de umidade no solo propícias para a atuação de nematoides entomopatogênicos.

Os nematoides utilizados nos ensaios foram *Heterorhabditis indica* Poinar, Karunakar & David 1992 e *Steinernema brazilense* Nguyen, Ginarte, Leite, Santos & Harakava 2010.

O nematoide *H. indica* foi isolado a partir de amostra de solo coletada em área de cultivo de citros, no município de Itapetininga (SP), e o nematoide *S. brazilense* a partir de amostra de solo coletada em área de mata nativa, no município de Porto Murtinho (MS), estando armazenados, desde o ano 2000, na coleção de entomopatógenos “Oldemar Cardin de Abreu” do Instituto Biológico (IB-APTA). Para a realização dos experimentos de campo, estes nematoides foram produzidos *in vitro*, pelo processo da esponja (Bedding 1984), e usados na forma de juvenis infectivos (JI), com 5 a 10 dias, após serem extraídos

do meio de cultura. Os inseticidas químicos usados foram o tiametoxam (Actara 250WG®) e o fipronil (Regente 800 WG®).

Experimento 1

O Experimento 1 foi instalado em fevereiro de 2004, em área de colheita manual da fazenda São Gerônimo, Usina São João, em Araras (SP), no talhão 7, cultivado com a variedade SP 87-0344. O canavial encontrava-se no seu 3º corte e com 5,5 meses de idade.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: 1) tiametoxam (Actara 250 WG) 500 g ha⁻¹ p.c.; 2) tiametoxam 1,0 kg ha⁻¹ p.c.; 3) tiametoxam 1,5 kg ha⁻¹ p.c.; 4) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 250 g ha⁻¹ p.c.; 5) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 500 g ha⁻¹ p.c.; 6) *H. indica* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 250 g ha⁻¹ p.c.; 7) *H. indica* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 500 g ha⁻¹ p.c.; 8) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹); 9) *H. indica* (10⁸ JI ha⁻¹); e 10) Testemunha.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições, sendo cada parcela constituída por cinco linhas de 15,0 m, com bordadura de três linhas entre blocos e 2,0 m entre parcelas. A aplicação dos produtos foi realizada no período da tarde, em ambos os lados das linhas de cana da parcela, com pulverizador costal manual regulado para a vazão de cerca de 300 L ha⁻¹, com o jato dirigido à base das plantas (30%) e para o solo (70%). Nas parcelas testemunhas, não foram efetuadas aplicações.

As avaliações foram feitas na colheita da cana (dezembro de 2004), quando o canavial tinha 15 meses de idade, 10 meses depois da aplicação dos produtos. A cana de cada parcela foi colhida sem o uso de fogo e seu peso determinado com o auxílio de um dinamômetro acoplado a trator. As falhas de cana superiores a 0,5 m, nas linhas, foram medidas, para corrigir os dados de produção de cana, os quais foram transformados em t ha⁻¹. Posteriormente ao corte, foi aberta uma trincheira (0,5 m de largura × 0,5 m de comprimento × 0,3 m de profundidade), em cada uma das três linhas centrais da parcela, arrancando-se touceiras ali existentes, para examinar os eventuais danos nos rizomas. Para determinar o percentual de dano, foram contadas as canas existentes nas três trincheiras e aquelas que apresentavam sintomas de ataque do inseto (cada trincheira considerada como repetição), sendo, posteriormente, calculada a percentagem de canas danificadas pela praga, na parcela.

Experimento 2

O Experimento 2 foi instalado no final de outubro de 2005, em área de colheita manual da Fazenda Recanto, Usina São João, em Araras (SP), no talhão 11, cultivado com a variedade SP 90-3414. O canavial encontrava-se no 2º corte, com 5 meses de idade.

Foram avaliados os seguintes tratamentos: 1) tiametoxam (Actara 250WG) 800 g ha⁻¹ p.c.; 2) fipronil (Regente 800WG) 250 g ha⁻¹ p.c.; 3) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹); 4) *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + tiametoxam 200 g ha⁻¹ p.c.; e 5) Testemunha.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com cinco repetições, sendo cada parcela constituída por cinco linhas de 10,0 m, com bordadura de três linhas entre blocos e 2,0 m entre parcelas. Os produtos foram aplicados seguindo-se a mesma metodologia descrita no Experimento 1, sendo as avaliações realizadas na colheita da cana (junho de 2006), quando o canavial tinha 12 meses de idade, 7 meses após a aplicação dos produtos. A colheita da cana e posterior quantificação, bem como a avaliação dos danos, foram realizadas como descrito anteriormente, excetuando-se o fato de que, neste experimento, houve queima prévia da palha.

Experimento 3

O Experimento 3 foi instalado no final de novembro de 2005, em área de colheita mecanizada da Fazenda Santana, Zona 26, Talhão 142, Usina Costa Pinto, em Piracicaba (SP), cultivado com a variedade SP 80-3280. O canavial encontrava-se no 3º corte, com 1,8 meses de idade. Foram considerados todos os tratamentos do segundo experimento, mais a mistura *S. brazilense* (10⁸ JI ha⁻¹) + fipronil (Regente 800WG) 62,5 g ha⁻¹ p.c. O delineamento experimental foi o mesmo do Experimento 2, só que com seis repetições.

Para a aplicação dos produtos, a palha que cobria o solo, nas parcelas, foi retirada na faixa de 30,0 cm ao lado das plantas, e os produtos foram aplicados seguindo-se a mesma metodologia descrita no Experimento 1.

As avaliações iniciaram-se aos 40 dias após a aplicação, no que se refere à população de larvas do escarabeídeo *Leucothyreus* sp. (família Scarabaeidae, tribo Geniatiini, subfamília Rutelinae). Para isto, foi aberta, em cada uma das três linhas centrais da parcela, uma trincheira (0,5 m largura × 0,5 m de com-

primento \times 0,3 m de profundidade), arrancando-se as canas da touceira ali existentes, para examinar o número de larvas do escarabeídeo ao redor das raízes das plantas e presentes no solo.

Também foram feitas avaliações na colheita da cana (setembro de 2006), quando o canavial tinha 11 meses de idade, 9 meses após a aplicação dos produtos, no que se refere à população de larvas do escarabeídeo, conforme metodologia já descrita, além de se avaliar, também, a produção de colmos e percentagem de plantas danificadas pelo bicudo-da-cana-de-açúcar, conforme metodologias empregadas no Experimento 2.

Análise estatística

Os dados de produção, danos e população de *Leucothyreus* sp. foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se o *software* SPSS 10.0. Para os dados de produção e de percentagem de plantas danificadas, as médias foram transformadas em \sqrt{x} e $\arcsen \sqrt{x}/100$, respectivamente (com nível de significância de 5%). Já para os dados de população de *Leucothyreus* sp., as médias foram transformadas em $\log(x+1)$ (com nível de significância de 5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos, nos três experimentos, quanto à produção de colmos ha^{-1} e percentagem de plantas danificadas (Figuras 1, 2 e 3). Porém, todos os tratamentos com os inseticidas e nematoides proporcionaram maior produção de cana que as respectivas testemunhas, o que já era esperado, visto que as testemunhas, nos três experimentos, foram os tratamentos mais atacados pelo bicudo, com índices de dano alcançando 31% no primeiro experimento, 14% no segundo e 49% no terceiro. Assim, o aumento na produção pode ser creditado, em parte, ao controle do bicudo, como sugerem os dados de danos ocasionados pelo inseto, nos três experimentos.

Experimento 1

No primeiro ensaio, o tratamento com *S. brazilense* proporcionou ganho na produção de cana de 16 t ha^{-1} acima da testemunha (102 t ha^{-1}), apresentando-se como mais eficaz para o controle do

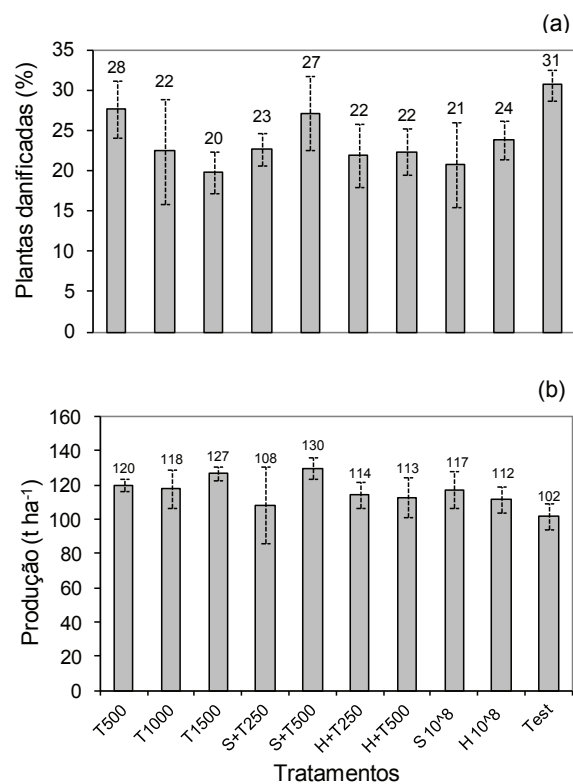


Figura 1. Percentagem de plantas danificadas por *Sphenophorus levis* (a) e produção de colmos ha^{-1} (b), para os tratamentos do Experimento 1 (Usina São João, Araras, SP, safra 2004). T = tiametoxam; S = *Steinernema brazilense*; H = *Heterorhabditis indica*; Test = Testemunha. Barra = média; Traço = erro padrão. Não se detectaram diferenças significativas pela análise de variância, a 5% ($C.V._{\text{Dano}} = 35,13\%$; $F_{\text{Dano}} = 0,813$; $P_{\text{Dano}} = 0,608$) ($C.V._{\text{Prod.}} = 15,59\%$; $F_{\text{Prod.}} = 1,077$; $P_{\text{Prod.}} = 0,400$).

bicudo, quando comparado a *H. indica*, com ganho de 10 t ha^{-1} , embora as diferenças não apresentem significado estatístico. O maior ganho obtido com *S. brazilense* pode ser resultante de maior proteção às plantas contra o ataque do bicudo, já que o mesmo resultou em 21% de plantas atacadas, enquanto *H. indica* resultou em 25% (Figura 1). Em laboratório, *S. brazilense* apresentou-se mais virulento que *H. indica*, nas doses de 2,4-60 JI cm^{-2} , ocasionando 23-50% de mortalidade em adultos de *S. levis* (Tavares et al. 2009) e 69-73% de mortalidade em larvas, em teste de casa-de-vegetação (Tavares et al. 2007).

O ganho obtido na produção com *S. brazilense* (16 t ha^{-1}) ficou próximo aos obtidos com o inseticida tiametoxam, nas duas menores doses [18 t ha^{-1} (500 g ha^{-1} p.c.) e 17 t ha^{-1} (1,0 kg ha^{-1} p.c.)], sendo o melhor tratamento a mistura de *S. brazilense* +

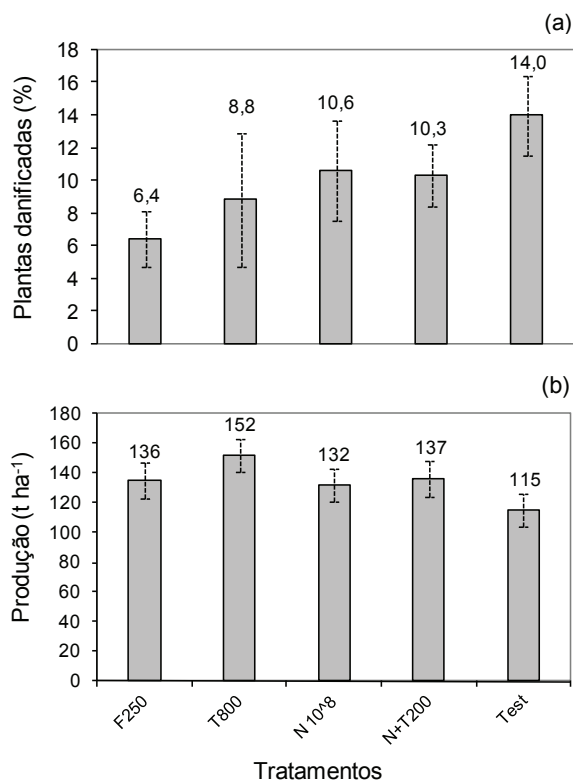


Figura 2. Percentagem de plantas danificadas por *Sphenophorus levis* (a) e produção de colmos ha⁻¹ (b), para os tratamentos do Experimento 2 (Usina São João, Araras, SP, safra 2005-2006). T = tiametoxam; F = fipronil; N = *Steinernema brazilense*; Test = Testemunha. Barra = média; Traço = erro padrão. Não se detectaram diferenças significativas pela análise de variância, a 5% (C.V._{Dano} = 16,2%; F_{Dano} = 0,976; P_{Dano} = 0,438) (C.V._{Prod.} = 9,3%; F_{Prod.} = 1,611; P_{Prod.} = 0,210).

tiametoxam 500 g ha⁻¹ p.c., com ganho de 28 t ha⁻¹. Apesar da elevada produção obtida com esta mistura, não está claro se houve sinergismo, já que este efeito não foi observado no tratamento *S. brazilense* + tiametoxam 250 g p.c. ha⁻¹.

O efeito sinérgico já foi evidenciado em teste de laboratório, quando se avaliaram misturas de diferentes concentrações de *H. indica* (isolado IBCB n05) e *S. brazilense* (isolado IBCB n06), com subdoses dos inseticidas fipronil e tiametoxam, obtendo-se mais de 74% de mortalidade de adultos do inseto, para as misturas de *S. brazilense* com tiametoxam (Tavares et al. 2009). Neste mesmo estudo, os nematoides *H. indica* e *S. brazilense* não foram afetados pelos inseticidas e ainda se reproduziram nos adultos de *S. levis* mortos nas diferentes combinações nematoides-inseticidas, o que destaca este estágio do

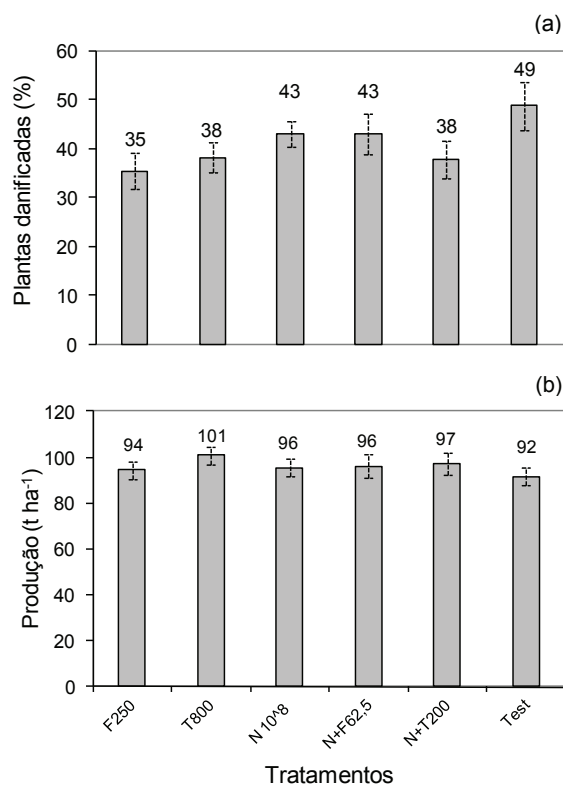


Figura 3. Percentagem de plantas danificadas por *Sphenophorus levis* (a) e produção de colmos ha⁻¹ (b), para os tratamentos do Experimento 3 (Usina Costa Pinto, Piracicaba, SP, safra 2005-2006). T = tiametoxam; F = fipronil; N = *Steinernema brazilense*; Test = Testemunha. Barra = média; Traço = erro padrão. Não se detectaram diferenças significativas pela análise de variância, a 5% (C.V._{Dano} = 23,51%; F_{Dano} = 1,658; P_{Dano} = 0,175) (C.V._{Prod.} = 10,44%; F_{Prod.} = 0,524; P_{Prod.} = 0,756).

inseto como importante fonte de inóculo para a reciclagem dos nematoides no ambiente, principalmente em áreas tratadas com a mistura de *S. brazilense* + tiametoxam.

Experimento 2

Os índices de dano (6,4-14%) apresentaram-se bem abaixo daqueles no primeiro experimento (20-31%), entretanto, os ganhos na produção foram ainda mais elevados para os tratamentos com *S. brazilense* (17,2 t) e tiametoxam (37,2 t), nas respectivas doses (Figura 2).

O nematoide *S. brazilense* proporcionou ganho na produção de cana de 17 t ha⁻¹ acima da testemunha (115 t ha⁻¹), ficando próximo ao do inseticida fipronil 250 g p.c. ha⁻¹ (ganho de 20 t ha⁻¹). Com-

parativamente, não houve acréscimo expressivo no ganho de produção, no tratamento com a mistura de *S. brazilense* + tiametoxam 200 g p.c. ha⁻¹ (aumento de 21 t ha⁻¹), e o melhor tratamento foi tiametoxam 800 g ha⁻¹ p.c. (ganho na produção de 37 t ha⁻¹). O maior ganho de produção resultante da aplicação do inseticida tiametoxam 800 g ha⁻¹ p.c. pode ser atribuído, principalmente, a um efeito fitotônico deste produto nas plantas, já que o índice de dano obtido neste tratamento (8,8%) não se destacou, em relação aos demais, exceto pela testemunha (14%) (Figura 2).

O inseticida tiametoxam tem proporcionado ganhos de produção de cana-de-açúcar mesmo em áreas onde, aparentemente, não há ocorrência de pragas (em experimentos destinados a avaliar este efeito), o que tem indicado que o produto apresenta efeito fitotônico à cultura e que contribui para explicar os aumentos de produção, nos tratamentos que receberam o inseticida. Em testes com plantas de soja, o tiametoxam (Cruiser®), além de agir positivamente nos processos associados à germinação, estimulou a capacidade de absorção de macros e micronutrientes pelas plantas (Syngenta 2006).

Experimento 3

O dano no terceiro experimento (35-49%) foi superior àqueles obtidos no segundo (6,4-14%), resultando em menores ganhos na produção, para todos os tratamentos (3-9 t ha⁻¹).

O nematoide *S. brazilense* proporcionou ganho na produção de cana de 4 t ha⁻¹ acima da testemunha (com rendimento de 92 t ha⁻¹), superando o inseticida fipronil 250 g ha⁻¹ p.c., com 3 t ha⁻¹. As misturas de *S. brazilense* + fipronil 62,5 g p.c. ha⁻¹ e *S. brazilense* + tiametoxam 200 g p.c. ha⁻¹ resultaram em ganhos de 5 t ha⁻¹ e de 6 t ha⁻¹ na produção de cana, respectivamente, e o inseticida tiametoxam, novamente, proporcionou o maior ganho na produção (9 t ha⁻¹), o que deve ser creditado, principalmente, ao efeito fitotônico do produto.

Na avaliação de larvas do escarabeídeo *Leucothyreus* sp., feita 40 dias após a aplicação dos produtos (Figura 4a), o tratamento *S. brazilense* controlou 50% da população, tendo os inseticidas fipronil 250 g ha⁻¹ p.c. e tiametoxam 800 g ha⁻¹ p.c. controlado 58%, não havendo diferença significativa entre estes tratamentos e a testemunha (C.V. = 69,45%; F = 2,631; P = 0,741).

Os melhores tratamentos foram as misturas do nematoide com subdoses dos inseticidas, proporcionando mais de 75% de controle do inseto, com diferenças significativas, em relação à testemunha, somente para *S. brazilense* + tiametoxam (83% de controle) (C.V. = 53,1%; F = 2,322; P = 0,049).

Este ensaio sugere que as misturas nematoide + inseticidas podem ter proporcionado efeitos sinérgicos na mortalidade do inseto, assim como observado por Tavares et al. (2009), quando avaliaram o efeito destas misturas, porém, contra adultos de *S. Levis*, em condições de laboratório.

Diversos fatores ou combinações de fatores têm sido relatados como possíveis causas dos efeitos de sinérgismo obtidos com misturas de nematoides + inseticidas, estando estes fatores, geralmente, mais associados aos efeitos que os inseticidas causam no inseto do que aqueles provocados pelo nematoide.

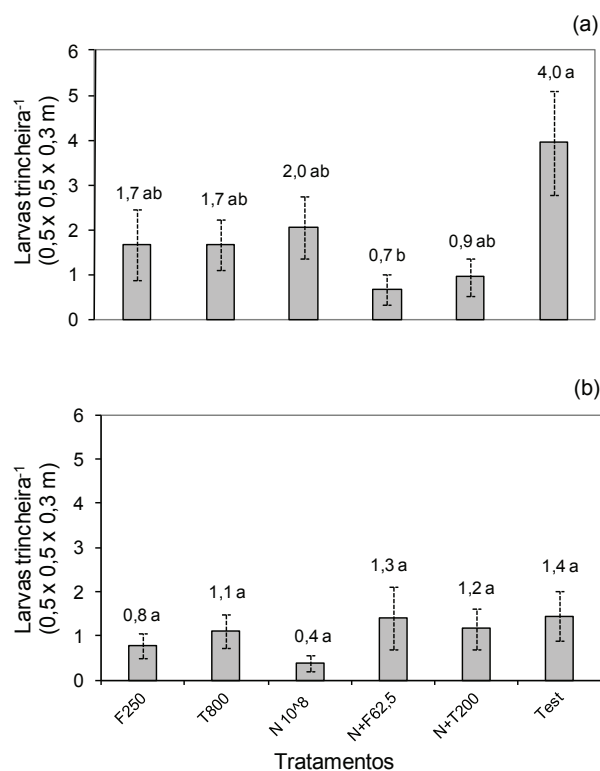


Figura 4. População do escarabeídeo *Leucothyreus* sp., nos tratamentos com os inseticidas fipronil (F) e tiametoxam (T), e com o nematoide *Steinernema brazilense* (N), aos 40 dias após a aplicação (a) e na colheita da cana (b) (Usina Costa Pinto, Piracicaba, SP, safra 2005-2006). Test = Testemunha. Barra = média; Traço = erro padrão (6 repetições por tratamento e três amostras por repetição). Médias seguidas pela mesma letra não diferem, significativamente, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Em teste com larvas do escarabeídeo *Cyclocephala* sp., o sinergismo obtido com a mistura de *H. bacteriophora* + imidacloprido foi causado por mudanças no comportamento do inseto, quando afetado pelo inseticida, deixando de limpar a cutícula ou mandíbula, como geralmente faz, para eliminar ou remover nematoides e outros inimigos naturais (Gaugler et al. 1994).

Em teste com larvas do crisomelídeo *Diabrotica* sp., a maior eficácia da combinação nematoide-inseticida pode ser devida aos efeitos que o inseticida causa no inseto, como paralização e convulsão, tornando-o um alvo mais fácil e susceptível ao nematoide. Além disto, o aumento da atividade metabólica e a redução nos movimentos direcionais do inseto resultam em aumento na concentração de CO₂ ao seu redor, o qual é utilizado por nematoides entomopatogênicos para localizar o hospedeiro (Nishimatsu & Jackson 1998).

Os efeitos de sinergismo obtidos nas combinações nematoide-inseticida também podem ser provocados pelos efeitos de estresse que o inseticida causa no inseto, afetando a sua fisiologia e seus mecanismos de defesa humoral, tornando-o, conseqüentemente, mais susceptível a infecções causadas por nematoides (Cui et al. 1993, Wang et al. 1994). O aumento na eficácia da combinação nematoide-inseticida também pode ter resultado do aumento na movimentação do nematoide, conforme já observado para *S. carpocapsae* (Ishibashi & Takii 1993).

Na avaliação de *Leucothyreus* sp., feita na colheita da cana (Figura 4b), não houve diferença significativa entre os tratamentos (C.V. = 55,9%; F = 0,787; P = 0,567). A infestação permaneceu abaixo de 1,4 larvas trincheira⁻¹ e, no tratamento com *S. brazilense*, observou-se menor densidade populacional (0,4 larvas trincheira⁻¹).

Neste Experimento 3, realizado na Usina Costa Pinto, verificou-se maior diversidade e densidade de insetos subterrâneos, quando comparados àqueles realizados na Usina São João. Isto pode estar relacionado ao sistema de colheita sem queima da planta, adotado na primeira Usina, resultando no acúmulo de palha na superfície do solo e, conseqüentemente, em condições mais favoráveis para o aparecimento e aumento populacional de insetos subterrâneos.

Na Usina Costa Pinto, apesar da ocorrência de *Leucothyreus* sp., os efeitos provocados por este inseto à cultura foram bem menores, ou não se somaram àqueles provocados pelo bicudo-da-cana-de-açúcar, já que a população do escarabeídeo manteve-se den-

tro de limites suportáveis pela planta, de até 5 larvas touceira⁻¹ (Macedo & Macedo 2006).

Os dados sugerem que o nematoide *S. brazilense*, além de controlar o bicudo-da-cana-de-açúcar, pode, também, colonizar larvas do escarabeídeo *Leucothyreus* sp., sendo que a patogenicidade a este inseto foi confirmada em laboratório.

Nematoides entomopatogênicos têm sido avaliados para o controle de larvas de escarabeídeos em doses geralmente acima de 10⁹ JI ha⁻¹ (Grewal et al. 2005), bastante superiores, portanto, à concentração avaliada no presente ensaio. Atualmente, são comercializadas quatro espécies de nematoides para o controle de larvas de escarabeídeos, em diversos países: *H. bacteriophora* Poinar 1975, *H. zealandica* Poinar 1990, *H. marelata* Liu & Berry 1996 e *S. glaseri* (Steiner 1929).

O nematoide *S. brazilense* apresenta-se como uma alternativa viável para o controle do bicudo-da-cana-de-açúcar, podendo ser recomendado, isoladamente, na concentração de 10⁸ JI ha⁻¹, com resultados satisfatórios no ganho de produção de cana, semelhantes àqueles obtidos com o inseticida fipronil 250 g ha⁻¹ p.c., porém, sem afetar o meio ambiente e a um custo economicamente aceitável. Para as misturas do nematoide *S. brazilense* com o inseticida tiametoxam, nas subdoses de 200 g ha⁻¹ e 250 g ha⁻¹ p.c., os acréscimos obtidos foram pequenos e dificultam conclusões, quanto às vantagens econômicas com o uso destas combinações, no controle do bicudo.

Nematoides entomopatogênicos vêm sendo utilizados no controle de *Sphenophorus* spp., pragas de gramados e pastagens, nos EUA e Japão, conhecidas como bicudos-das-gramíneas (Georgis & Poinar 1989, Klein 1990, Watschke et al. 1995).

As larvas dos primeiros ínstares destes insetos cavam galerias no caule e rizoma das plantas, enquanto as dos últimos ínstares alimentam-se, externamente, dos órgãos subterrâneos (Shapiro-Ilan et al. 2002). Este comportamento, nas gramíneas, provavelmente deixa os insetos mais expostos à ação dos nematoides entomopatogênicos, se comparados a *S. levis*, cujas larvas penetram no rizoma da cana-de-açúcar, permanecendo no interior do colmo, em todos os estádios larvais. Conseqüentemente, os bicudos-das-gramíneas têm sido eficientemente controlados pelo uso dos nematoides *H. bacteriophora* e *S. carpocapsae*. Este último, na concentração de 2,5×10⁹ JI ha⁻¹, proporcionou níveis de controle variáveis de 70,4-91,2%,

para *S. parvulus*, em estudos realizados nos Estados Unidos, e de 77,3-96,2%, para *S. venatus vestitus*, em testes no Japão (Kinoshita & Yamanaka 1998). *H. bacteriophora*, na mesma concentração, foi menos eficiente para *S. parvulus*, proporcionando níveis de controle variáveis de 67,0-84,1% (Georgis & Poinar 1994, Smith 1994).

Todos os estádios imaturos destes insetos são susceptíveis aos dois nematoides, o mesmo ocorrendo com os adultos de *S. venatus vestitus*, em relação a *S. carpocapsae*. No Japão, *S. carpocapsae* tem sido mais eficiente no controle de *S. venatus vestitus* do que os inseticidas padrões (média de 84% contra 69%, respectivamente) (Smith 1994, Kinoshita & Yamanaka 1998).

A concentração de 10^8 JI ha⁻¹, utilizada para *S. brazilense*, no presente estudo, é bastante inferior, se comparada às doses dos nematoides *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* que estão sendo recomendadas para o controle dos bicudos-das-gramíneas, na ordem de $2,5 \times 10^9$ JI ha⁻¹. Em teste com o nematoide *S. brazilense*, para o controle de larvas do bicudo-da-cana-de-açúcar, em casa-de-vegetação, a concentração de 2,4 JI cm⁻², equivalente à mesma usada no presente estudo (10^8 JI ha⁻¹), proporcionou 69% de mortalidade do inseto, não diferindo, significativamente, das doses maiores (12 JI cm⁻² e 60 JI cm⁻², ambas com 73% de mortalidade) (Tavares et al. 2007). Para adultos deste inseto, a menor concentração proporcionou 23% de mortalidade, em teste de laboratório (Tavares et al. 2009).

CONCLUSÕES

1. Os inseticidas químicos tiametoxam e fipronil, os nematoides *S. brazilense* e *H. indica*, e as misturas dos nematoides com subdoses dos inseticidas geraram aumento na produção de cana, em áreas infestadas com *S. levis*, embora sem significância estatística.
2. O nematoide *S. brazilense* foi mais eficaz que o *H. indica* no controle de *S. levis*, mas sem diferir estatisticamente.
3. As misturas de *S. brazilense* (10^8 JI ha⁻¹) com subdoses de fipronil 62,5 g ha⁻¹ p.c. e de tiametoxam 200 g ha⁻¹ p.c. foram mais eficazes no controle de *Leucothyreus* sp., se comparadas aos tratamentos com o nematoide e com os inseticidas nas doses de 250 g p.c. ha⁻¹ e 800 g p.c. ha⁻¹, respectivamente, aplicados isoladamente.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento da pesquisa; à Usina São João e à Usina Costa Pinto, pelo apoio; e ao pesquisador Dr. Sérgio Ide, do Instituto Biológico, pela identificação do escarabeídeo *Leucothyreus* sp.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. C. *Bicudo da cana-de-açúcar*: informação técnica. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005.
- BEDDING, R. A. Large scale production, storage and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Annals of Applied Biology*, San Francisco, v. 104, n. 1, p. 117-120, 1984.
- COUTINHO, G. V. et al. Bionomic data and larval density of Scarabaeidae (Pleurosticti) in sugarcane in the central region of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 55, n. 3, p. 389-395, 2011.
- CUI, L.; GAUGLER, R.; WANG, Y. Penetration of steinernematid nematodes (Nematoda: Steinernematidae) into Japanese beetle larvae, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, Maryland, v. 62, n. 1, p. 73-78, 1993.
- DEGASPARI, N. et al. Biologia de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col.: Curculionidae), em dieta artificial e no campo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 22, n. 3, p. 553-558, 1987.
- DINARDO-MIRANDA, L. L. Nematoides e pragas de solo em cana-de-açúcar. *Informações Agronômicas*, Ribeirão Preto, v. 110, n. 1, p. 25-32, 2005. Encarte técnico.
- FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Coord.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: Fealq, 1998. p. 541-570.
- GAUGLER, R.; WANG, Y.; CAMPBELL, J. F. Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: defenses against entomopathogenic nematode attack. *Journal of Invertebrate Pathology*, Maryland, v. 64, n. 3, p. 193-199, 1994.
- GEORGIS, R.; POINAR JUNIOR, G. O. Field effectiveness of entomophilic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. In: LESLIE, A. R.; METCALF, R. L. (Eds.). *Integrated pest management for turfgrass and ornamentals*. Boca Raton: CRC, 1989. p. 213-224.
- GEORGIS, R.; POINAR JUNIOR, G. O. Nematodes as bioinsecticides in turf and ornamentals. In: LESLIE, A. (Ed.). *Integrated pest management for turfgrass and ornamentals*. Boca Raton: CRC, 1994. p. 477-489.

- GREWAL, P. S.; KOPPENHÖFER A. M.; CHOO, H. Y. Lawn, turfgrass and pasture applications. In: GREWAL, P. S.; EHLERS R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds.). *Nematodes as biocontrol agents*. Wallingford: CAB Publishing, 2005. p. 115-146.
- ISHIBASHI, N.; TAKKI, S. Effects of insecticides on movement, nictation, and infectivity of *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology*, Bethesda, v. 25, n. 2, p. 204-213, 1993.
- KINOSHITA, M.; YAMANAKA, S. Development and prevalence of entomopathogenic nematodes in Japan. *Japanese Journal of Nematology*, Tokyo, v. 28, special issue, p. 42-45, 1998.
- KLEIN, M. G. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Eds.). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Boca Raton: CRC, 1990. p. 195-214.
- MACEDO, D.; MACEDO, N. Solo minado. *Cultivar*, Pelotas, v. 91, n. 1, p. 19-21, 2006.
- NISHIMATSU, T.; JACKSON, J. J. Interaction of insecticides, entomopathogenic nematodes, and larvae of the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, Lanham, v. 91, n. 2, p. 410-441, 1998.
- PRECETTI, A. A. C.; ARRIGONI, E. A. Aspectos bioecológicos e controle do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera, Curculionidae) em cana-de-açúcar. *Boletim Técnico da Cooperativa de Produtores de Cana, Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo*, Piracicaba, ed. especial, p. 3-15, 1990.
- SHAPIRO-ILAN, D. I.; GAUGE, D. H.; KOPPENHÖFER, A. M. Factors affecting commercial success: case studies in cotton, turf and citrus. In: GAUGLER, R. (Ed.). *Entomopathogenic nematology*. Wallingford: CAB International, 2002. p. 333-355.
- SMITH, K. A. Control of weevils with entomopathogenic nematodes. In: SMITH, K. A.; HATSUKADE, M. (Eds.). *Control of insect pests with entomopathogenic nematodes*. Taipei: Food and Fertilizer Technology Center, 1994. p. 1-13.
- SYNGENTA. *Cientistas brasileiros descobrem indutor de vigor e produtividade para soja*. 2006. Disponível em: <http://www.syngenta.com.br/cs/releases_2006_21.asp>. Acesso em: 12 jan. 2011.
- TAVARES, F. M. et al. Efeitos sinérgicos de combinações entre nematoides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) e inseticidas químicos na mortalidade de *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). *BioAssay*, Piracicaba, v. 4, n. 7, p. 1-10, 2009.
- TAVARES, F. M. et al. 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, v. 31, n. 1, p. 12-19, 2007.
- WANG, Y.; CAMPBELL, J. F.; GAUGLER, R. Infection of entomopathogenic nematodes *Steinernema glaseri* and *Heterorhabditis bacteriophora* against *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, Maryland, v. 66, n. 2, p. 178-184, 1994.
- WATSCHKE, T. L.; DERNOEDEN, P. H.; SHETLAR, D. J. *Managing turfgrass pests*. Boca Raton: CRC, 1995.