

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS CAMPUS DE BOTUCATU
DEPTO. DE PRODUÇÃO VEGETAL – DEFESA FITOSSANITÁRIA

**AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS DE APLICAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O CONTROLE DE *Spodoptera
frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) NA CULTURA DO MILHO**

LUIZ CLÁUDIO GARCIA

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU - SP

Julho - 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS CAMPUS DE BOTUCATU
DEPTO. DE PRODUÇÃO VEGETAL – DEFESA FITOSSANITÁRIA

**AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS DE APLICAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O CONTROLE DE *Spodoptera
frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) NA CULTURA DO MILHO**

LUIZ CLÁUDIO GARCIA

Orientador: Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP - Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU - SP

Julho - 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Garcia, Luiz Cláudio, 1971-
G216a Avaliação de tecnologias de aplicação de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera : Noctuidae) na cultura do milho / Luiz Cláudio Garcia. - Botucatu : [s.n.], 2006.
v, 55 f. : il., color., gráfs, tabs.

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2006

Orientador: Carlos Gilberto Raetano

Inclui bibliografia

1. Milho. 2. Pragas agrícolas - Controle biológico. 3. Lepidoptero. 4. Pulverização. 5. Equipamento de pulverização
I. Raetano, Carlos Gilberto. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu).
Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS DE APLICAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS VISANDO O CONTROLE DE *Spodoptera*
frugiperda (Smith) (Lepidoptera? Noctuidae) NA CULTURA DO
MILHO"

ALUNO: LUIZ CLÁUDIO GARCIA

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS GILBERTO RAETANO


Aprovado pela Comissão Examinadora



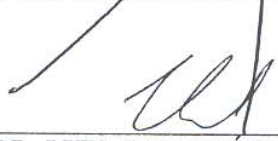
PROF. DR. CARLOS GILBERTO RAETANO




PROF. DR. WILSON BADIALI CROCOMO



DR. ANTONIO BATISTA FILHO



DR. LUIS GARRIGÓS LEITE



DR. HAMILTON HUMBERTO RAMOS

Data da Realização: 21 de julho de 2006.

Dedico à minha esposa, filha, pais e irmãos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano, pela confiança depositada no projeto e a liberdade com que deixou que o mesmo fosse concretizado.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, centro de excelência, onde cursei as disciplinas e realizei parte dos experimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudos concedida e apoio financeiro para realização desta tese.

Ao Dr. Luís Garrigós Leite pela atenção e dedicação ao desenvolvimento desta tese.

À Profa. Dra. Sílvia Renata Siciliano Wilcken, da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP, sempre solícita na contribuição para o desenvolvimento de parte do experimento.

Aos pesquisadores do Centro Experimental do Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Engenharia e Automação do IAC e Centro Nacional de Pesquisa sobre Meio Ambiente (CNPMA) da EMBRAPA, pelo apoio recebido.

Às pessoas que contribuíram para concretização deste sonho, em especial: Fernanda, Rosemery, Lucas, Fernando, Francisco, Roberto, Euclides e Valdete.

SUMÁRIO

	Página
1 RESUMO.....	01
2 SUMMARY.....	02
3 INTRODUÇÃO.....	03
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
4.1 A cultura do milho (<i>Zea mays</i>).....	05
4.2 Lagarta-do-cartucho, <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae).....	06
4.2.1 Descrição e biologia.....	06
4.2.2 Danos.....	06
4.2.3 Manejo Integrado.....	07
4.2.3.1 Controle Químico.....	07
4.2.3.2 Controle Cultural.....	08
4.2.3.3 Controle Biológico.....	09
4.3 Nematóides entomopatogênicos.....	10
4.3.1 <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> (Nematoda: Rhabditida).....	10
4.4 Tecnologia de aplicação de nematóides entomopatogênicos.....	11
4.4.1 Alvo e momento de aplicação.....	12
4.4.2 Fatores do ambiente.....	12
4.4.3 Dosagem.....	13
4.4.4 Equipamentos.....	14
4.4.4.1 Pulverizadores costais, terrestres e aéreos.....	14
4.4.4.2 Pulverizadores eletrostáticos.....	15
4.4.4.3 Pressurização e despressurização da calda.....	15
4.4.4.4 Pontas e filtros.....	15
4.4.5 Volume de aplicação.....	16
4.4.6 Compatibilidade com demais produtos fitossanitários.....	17
4.4.7 Bioinsetigação.....	18
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
5.1 Dosagens de juvenis infectantes em ambiente controlado.....	21
5.2 Técnicas de aplicação dos nematóides entomopatogênicos em ambiente controlado....	22

SUMÁRIO

	Página
5.2.1 Pulverização com o fornecimento de carga elétrica à calda	22
5.2.2 Pulverização com pontas hidráulicas.....	23
5.3 Pulverização do <i>Steinernema</i> sp. na planta de milho em ambiente controlado.....	25
5.4 Compatibilidade entre o <i>Steinernema</i> sp. e tensoativos.....	28
5.5 Pulverização do <i>Steinernema</i> sp., com tensoativo, na planta de milho em ambiente controlado.....	29
5.6 Bioinsetigação do <i>Steinernema</i> sp. na planta de milho em ambiente controlado.....	30
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6.1 Dosagens de juvenis infectantes em ambiente controlado.....	31
6.2 Técnicas de aplicação dos nematóides entomopatogênicos em ambiente controlado ..	33
6.2.1 Pulverização com o fornecimento de carga elétrica à calda	33
6.2.2 Pulverização com pontas hidráulicas.....	35
6.3 Pulverização do <i>Steinernema</i> sp. na planta de milho em ambiente controlado.....	38
6.4 Compatibilidade entre o <i>Steinernema</i> sp. e tensoativos.....	40
6.5 Pulverização do <i>Steinernema</i> sp., com tensoativo, na planta de milho em ambiente controlado.....	41
6.6 Bioinsetigação do <i>Steinernema</i> sp. na planta de milho em ambiente controlado.....	42
7 CONCLUSÕES.....	45
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

1 RESUMO

A tecnologia de aplicação desenvolvida para produtos químicos tem sido utilizada para organismos entomopatogênicos sem o estudo prévio das necessidades de adaptações que visem à manutenção da viabilidade desses agentes de controle biológico. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar o efeito de diferentes tecnologias de aplicação sobre a concentração, viabilidade e eficácia dos juvenis infectantes dos nematóides *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. no controle da lagartas-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), em terceiro instar, na cultura do milho. Testaram-se as dosagens de zero a 400 juvenis infectantes em placa de Petri para controle da lagarta-do-cartucho. As tecnologias de aplicação dos entomopatógenos, em ambiente controlado, abrangeram as pulverizações com pontas hidráulicas e centrífuga, com e sem fornecimento de carga elétrica à calda. Na pulverização do *Steinernema* sp. em plantas de milho sob condição ambiental controlada, com e sem emprego de tensoativo e lâmina de água, as dosagens variaram entre zero e 288 milhões.ha⁻¹. Conclui-se que para matar as lagartas em terceiro instar de *S. frugiperda* em laboratório foram necessários 280 juvenis infectantes de *Steinernema* sp. Pode-se pulverizar os entomopatógenos, sem que haja perda significativa na concentração e viabilidade desses organismos, com equipamentos que forneçam carga elétrica à calda, ponta centrífuga e pontas hidráulicas, exceto àquelas que requerem elementos filtrantes com malha igual a 100. Os tensoativos Break-Thru[®], Extravon[®] e Iharaguen-S[®] não afetaram a viabilidade dos entomopatógenos. A pulverização em plantas de milho (V6) com até 288 milhões de juvenis infectantes de *Steinernema* sp. por hectare, diluídos em volume de calda de até 800 L.ha⁻¹ com 0,01 % de tensoativo ou nesse volume seguido de exposição à chuva artificial (lâmina de água de 6 mm) não proporcionaram adequado controle da praga.

EVALUATION OF SPRAYING TECHNOLOGIES OF ENTOMOPATOGENIC NEMATODES AIMING AT THE CONTROL OF *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) ON CORN PLANTS. Botucatu, 2006. 55p. Tese (Doutorado em Agronomia / Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: LUIZ CLÁUDIO GARCIA

Adviser: Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO

2 SUMMARY

Spraying technologies has been developed to work with agrochemicals, but it has been utilized with entomopatogenic organisms without a prior study of adaptation that will help maintain the viability of the biological control agents. In this way, the objective of this research was to evaluate the effect of different spraying technologies on the concentration, viability and efficiency of the infective juveniles of *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. nematodes to control fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) at the third instar on corn plants. Rates between zero and 400 infective juveniles were tested in a Petri dish against fall armyworm. The study to evaluation spraying technologies stable environment, involved hydraulic nozzles and rotary spray nozzles with and without electrical charge added to the spraying mix. The dosages of *Steinernema* sp. sprayed on corn plants in controlled environment with or without adjuvant agent and water blade, varied of zero at 288 millions ha⁻¹. For killing 100% the fall armyworm in laboratory, it was necessary 280 juvenile infectants of *Steinernema* sp. It is possible to spray entomopatogenic organisms without an significative loss in the concentration and viability of these organisms, with equipment that produces electrical charges to the spraying mix, and with those using hydraulic and rotary nozzles tips, but without mash 100 filtrating elements. Tensioactive agents Break-Thru®, Extravon® and Iharaguen-S® did not affect the viability of the entomopatogens. Spraying corn plants with up to 288 millions of juvenile infectants of *Steinernema* sp. per hectare, diluted in the spraying mix up to 800 L.ha⁻¹, with 0,01% of tensioactive agent or in this volume followed by artificial rain (water blade of 6 mm), was not enough to control the infestation.

Keywords: biological control, application technology, *Steinernema*.

3 INTRODUÇÃO

A forma mais usual de controle de pragas utilizada pelos agricultores é a química; entretanto, outras formas, como a aplicação de produtos biológicos, têm sido desenvolvidas e empregadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Tal fato se explica pela gradual substituição dos agrotóxicos por produtos que minimizem a pressão de seleção sobre populações de insetos resistentes, diminuam o impacto ao meio ambiente e à saúde de agricultores e consumidores (YU, 1992; ALMEIDA, 2001). Porém, a expansão do uso dos bioinseticidas é limitada por diversos fatores; sendo principalmente: o desconhecimento da etiologia e epizootiologia de várias espécies, a influência dos fatores ambientais na eficácia dos entomopatógenos e a dificuldade de produção em escala comercial a custos competitivos em comparação aos inseticidas químicos em formulações comerciais. Portanto, a necessidade premente de pesquisas está relacionada aos estudos sobre etiologia e epizootiologia, produção comercial em meio líquido, formulações adequadas para cada bioinseticida, obtenção de isolados eficientes em condições de umidade relativa baixa e desenvolvimento de métodos adequados de aplicação a campo (MOSCARDI, 2004).

Dentre os vários métodos de aplicação de bioinseticidas a campo a aplicação de líquidos pode contribuir para a melhoria da viabilidade dos organismos utilizados no controle de insetos-pragas. Nesta modalidade, com os equipamentos habitualmente utilizados,

uma formulação é misturada a um líquido apropriado, geralmente a água, e a suspensão submetida à pressão num circuito hidráulico, resultando na aplicação em forma de gotas, ou seja, pulverizada.

O uso de organismos entomopatogênicos em caldas pulverizadas tem seguido os métodos estabelecidos para pulverização de produtos químicos. Partindo do pressuposto que se está pulverizando organismos vivos, as características do entomopatógeno (estrutura de proliferação, resistência à radiação ultravioleta, tamanho, locomoção, forma de infecção), do inseto-alvo (morfologia, habitat e comportamento) e da planta (parte atacada, altura, área foliar) é que devem determinar o momento, a dosagem, o equipamento e o volume de calda empregado na pulverização.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes tecnologias de aplicação da calda contendo juvenis infectantes dos nematóides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* (POINAR et al., 1992) e *Steinernema* sp. na eficácia de controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) na cultura do milho.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 A cultura do milho (*Zea mays*)

O milho, pertencente à família das gramíneas, é uma planta C4, ereta, possui um único colmo. As folhas dispõem-se alternadamente e inserem-se nos nós do colmo em ângulo variando de 30 a 60°. São constituídas de uma bainha invaginante, pilosa de cor verde clara e limbo-verde escuro, estreito e de forma lanceolada, possuindo bordos serrilhados com uma nervura central vigorosa e em forma de canaleta. Entre a bainha e o colmo existe a lígula que é estreita e de natureza membranosa. Possui uma inflorescência masculina e outra feminina separada numa mesma planta. Desenvolve espigas contendo grande quantidade de grãos, sendo atualmente uma fonte importante de carboidratos na alimentação animal e humana. (ALDRICH et al., 1982; EMBRAPA, 1996; FANCELLI & DOURADO NETO, 2000).

A área cultivada no mundo é de 150 milhões de hectares de milho com uma produção que oscila entre 550 a 580 milhões de toneladas. O Brasil é o terceiro maior produtor com aproximadamente 13 milhões de hectares de área plantada, e produção estimada de 41 milhões de toneladas (PEIXOTO, 2002; IBGE, 2005). Um dos fatores limitantes ao crescimento da produção brasileira é a baixa produtividade média nacional, de 3.370 kg.ha⁻¹.

Entre as variáveis que contribuem para tal situação está a ocorrência de pragas (CRUZ et al., 1997; CRUZ, 2002; IBGE, 2005).

4.2 Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

4.2.1 Descrição e biologia

A mariposa apresenta coloração cinza-escuro e 4,0 cm de envergadura. Faz a postura nas folhas de milho, em grupos de 50 a 300 ovos, podendo chegar a 1.000 ovos por fêmea. Os períodos de duração das fases de ovo, larva, pupa e adulto completam-se ao redor de 3, 25, 11 e 12 dias, respectivamente. A partir do segundo estágio de desenvolvimento, as lagartas podem apresentar canibalismo. Quando falta alimento, elas migram em grupos, sendo, por isso, denominadas de lagartas militares. A fase de pupa ocorre no solo ou sob restos culturais, em câmara pupal (CRUZ et al., 1997; GALLO et al., 2002).

4.2.2 Danos

A lagarta-do-cartucho é a praga que causa maior preocupação ao agricultor na cultura do milho. A capacidade de danos da lagarta é influenciada pelo vigor da planta e pelo clima. Na região tropical, os danos podem ser severos, com até 60 % de redução no rendimento de grãos. No milho safrinha, em períodos de seca, a lagarta ocorre desde a emergência até a fase de maturação, causando danos semelhantes aos de outras lagartas. As larvas jovens consomem parte das folhas e mantêm a epiderme intacta, sugerindo o sintoma de raspagem. As lagartas maiores perfuram as folhas e se desenvolvem nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho. Também podem broquear a base da planta e atacar a espiga, à semelhança de outras lagartas. Plantas de milho, infestadas com a lagarta-do-cartucho, sofrem injúrias com maior intensidade na fase de quatro a seis folhas, porém, sem causar redução proporcional no rendimento de grãos. Os danos maiores ocorrem na fase de seis a dez folhas, podendo reduzir o rendimento em 19 %. Na fase até 6 folhas e a partir de 12 folhas, os danos da

lagarta-do-cartucho são inferiores a 9 % da produção de grãos (CRUZ, 2002; GALLO et al., 2002; PAPA, 2003).

Durante períodos com temperaturas elevadas e baixos teores de água no solo, a planta reduz o crescimento e a possibilidade de tolerar os danos da praga, enquanto a lagarta consome maior quantidade de alimento e pode causar até a morte das plantas (CRUZ, 2002; PAPA, 2003).

4.2.3 Manejo Integrado

Na concepção de manejo integrado, a meta não é simplesmente extinguir a praga; o mais importante é a redução da população a um limite compatível com a produção econômica da cultura e a conseqüente manutenção da qualidade ambiental. Por isso o controle é recomendável nas lavouras em que o potencial de rendimento seja superior a 5,0 t.ha⁻¹ (CRUZ, 1995).

Entre as dificuldades, para o controle dessa praga, pode-se destacar a localização da lagarta nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho e a decisão de controle baseado no sintoma externo de folhas perfuradas, sem comprovar a presença de larvas no interior do “cartucho” (GALLO et al., 2002).

4.2.3.1 Controle Químico

A principal forma de controle da lagarta-do-cartucho tem ocorrido através de produtos químicos (Tabela 1). A conseqüência dessa prática é o registro - em todo mundo - de seleções de populações resistentes às principais classes de inseticidas (YOUNG & McMILLIAN, 1979; WOOD et al., 1981; YU, 1992; YU & NGUYEN, 1994; LEIBEE & CAPINERA, 1995; DIEZ-RODRIGUES, 2000).

A resistência a inseticidas é atualmente considerada um problema mundial, sendo documentada em mais de 440 espécies de insetos e ácaros (TABASHNIK & ROUSH, 1990). É um processo evolucionário e seu desenvolvimento é simplesmente uma

questão de pressão de seleção e tempo (HOY, 1995). Portanto, o desenvolvimento de qualquer tática de manejo deverá diminuir a velocidade de estabelecimento de populações com alta frequência de genes que conferem resistência a determinado agente de controle.

Tabela 1. Inseticidas químicos para controle de *Spodoptera frugiperda* - na cultura do milho - com base no mecanismo de ação (ANDREI, 1999).

Mecanismo de Ação	Grupo Químico	Ingrediente ativo
Inibidores da biossíntese da quitina	Derivados de uréia	clorfluazuron, diflubenzuron, lufenuron, novaluron, teflubenzuron e triflumuron
Inibidores da enzima acetilcolinesterase	Carbamatos	carbaril, metomil e tiodicarb
Agonistas de ecdisteróides	Diacilhidrazinas	metoxyfenozide e tebufenozide
Moduladores de canais de sódio	Piretróides	alfametrina, betacyflutrina, cipermetrina, cyfluthrina, deltametrina, esfenvalerate, fenvalerate, fenpropatrina, lambdacialothrina, permetrina e zetacipermetrina
Moduladores de receptores da acetilcolina	Naturalyte	spinosad
Inibidores da enzima acetilcolinesterase	Organofosforados	clorpirifós, fenitrothion, piridafention, paration metílico, triclorfon e triazofós.

4.2.3.2 Controle Cultural

O calendário recomendado na região deve ser baseado em parâmetros agroecológicos e, preferencialmente, seguido pelos produtores de uma região definida (PAPA, 2003). Assim, há necessidade do estabelecimento de um único momento de semeadura do milho na região atendendo aos pré-requisitos climáticos e não coincidindo a época de maior susceptibilidade da cultura (estádios V6 a V10) com o histórico de explosão populacional da

praga na região (MAGALHÃES et al., 1995; FANCELLI & DOURADO NETO, 2000).

O emprego de culturas armadilhas, combinação de variedades precoces e tardias para não sobrecarregar os períodos dos tratamentos fitossanitários, cultivares modificados geneticamente (milho *Bt*) e cultivares resistentes ao inseto por antibiose também são estratégias interessantes a serem adotadas no manejo. Na condução de um experimento sobre as interações inseto-planta, Viana & Potenza (2000) distinguiram diferenças significativas na fisiologia das pupas de *S. frugiperda* alimentadas com diferentes variedades de milho (Tabela 2). O genótipo CMS 14C causou antibiose e o genótipo BR 201 favoreceu o desenvolvimento dos insetos.

Tabela 2. Duração, massa, sobrevivência de pupas e razão sexual de *Spodoptera frugiperda*, criada em quatro genótipos de milho (T: 26 ±1 °C; UR: 70%; fotofase: 14L e 10E) (VIANA & POTENZA, 2000).

Genótipo	Pupas			Razão Sexual
	Duração Dias	Massa mg	Sobrevivência %	
CMS 14C	11,6ab ¹	203,0bc ¹	72	0,36
CMS 24	11,0c	192,5c	78	0,69
Zapalote Chico	11,8 ^a	211,9ab	78	0,28
BR 201	11,2bc	218,0a	88	0,52
C.V. (%)	8,6	10,3		

1 - Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

4.2.3.3 Controle Biológico

Dentre os inimigos naturais da *S. frugiperda* destacam-se o *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e o *Doru luteipes* Scudder (Dermaptera: Forficulidae). O *T. remus* atua efetivamente parasitando ovos, além de apresentar alta capacidade de dispersão e de busca pelo hospedeiro (FIGUEIREDO et al., 1999; CRUZ, 2002). O inseto *D. luteipes*, conhecido como “tesourinha”, tem-se apresentado como um predador eficiente (REIS et al., 1988; ALVARENGA, et al., 1992; CRUZ, 1995; CRUZ et al., 1999).

O vírus de poliedrose nuclear de *S. frugiperda* (SfMNPV) vem sendo

citado na literatura como alternativa ao controle químico (MOSCARDI & KASTELIC, 1985; EMBRAPA, 1996; CRUZ et al., 1997). Os nematóides entomófagos (*Heterorhabditis* sp., *Hexameris* sp. e *Steinernema* spp.) também têm apresentado grande potencial de controle dessa praga devido a sua patogenicidade em condições de laboratório (FERRAZ, 1998; GALLO et al., 2002; MACHADO et al., 2002; SILVA et al., 2003).

4.3 Nematóides entomopatogênicos

Nematóides entomopatogênicos são inócuos às plantas, visto que não são providos de estilete (estrutura do corpo através da qual o parasito de planta se alimenta do conteúdo das células vegetais). São denominados entomopatogênicos porque vivem e atuam em associação com bactérias simbióticas, as quais são patogênicas aos insetos. Essas são encontradas na natureza somente em associação com nematóides entomopatogênicos ou em insetos por eles parasitados. Os entomopatogênicos são os únicos nematóides que têm sido utilizados em larga escala pelo homem na agricultura (AGUILLERA, 2001).

No cenário mundial destacam-se três gêneros de nematóides entomopatogênicos: *Heterorhabditis*, *Neosteinernema* e *Steinernema* (Van DRIESHE & BELLOWS Jr, 1996; FERRAZ, 1998). No Brasil os nematóides do gênero *Heterorhabditis* estão sendo estudados no controle de *Migdolus fryanus*, na cana-de-açúcar e bicho-furão (*Ecyitolopha aurantiana*) em citros. Já o *Steinernema* apresentou potencial para o controle biológico do moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*) e do gorgulho da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*) (AGUILLERA, 2001).

4.3.1 *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida)

Esses nematóides caracterizam-se por vários aspectos favoráveis ao seu uso na prática. Primeiro, por terem a capacidade de se locomoverem no solo à procura de hospedeiros para os quais são atraídos por diferencial no teor de CO₂ e possivelmente por componentes fecais. Segundo, por terem uma extensa lista de hospedeiros, o que ajuda na sobrevivência em condições de campo. Podem ser multiplicados em laboratório, tanto “in vivo”

quanto “in vitro”. Além disso, podem ser armazenados antes de serem aplicados (FERRAZ, 1998; AGUILLERA, 2001).

Os juvenis infectantes das famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae apresentam ausência de estilete, formato cilíndrico, corpo maleável, órgãos internos em única cavidade e tamanho médio de 0,7 e 1,0 mm, respectivamente. O ciclo desses nematóides consiste na fase de ovo, quatro estádios juvenis e um estágio adulto. No terceiro estágio juvenil o organismo se torna infectante, os quais são formados quando a fonte de alimento, ou seja, tecidos do inseto hospedeiro morto e, conseqüentemente células bacterianas, estão em vias de exaustão. Esses juvenis infectantes retêm a cutícula do segundo estágio, encapsulam células da bactéria simbiótica, principalmente *Xenorhabdus nematophilus*, e têm o trato digestivo desativado. Nesta fase, portanto, não se alimentam e estão aptos a suportar condições ambientais inadequadas, enquanto localizam um novo hospedeiro. Quando isso ocorre, invadem o corpo do inseto através de aberturas naturais, ou até mesmo através da cutícula intacta, quando se trata de *Heterorhabditis*. Ao alcançar a cavidade do corpo liberam na hemolinfa células da bactéria simbiótica que se multiplicam rapidamente e matam o inseto por septicemia em período de aproximadamente 24 a 48 h. Os nematóides então se desenvolvem, alimentando-se da bactéria e alcançam o estágio adulto. No gênero *Steinernema*, nessa primeira geração formam-se machos e fêmeas, enquanto no gênero *Heterorhabditis*, formam-se apenas fêmeas hermafroditas. A partir da segunda geração, formam-se machos e fêmeas. Os adultos da primeira geração apresentam corpo bastante desenvolvido, com alta capacidade reprodutiva, multiplicam-se rapidamente e, dessa forma, colonizam o inseto em curto espaço de tempo. As bactérias simbióticas produzem antibióticos, impedindo que outros microrganismos se desenvolvam no inseto morto. Fêmeas produzem ovos que dão origem a juvenis e o ciclo se repete por cerca de três gerações até que haja indução, por falta de alimento, para formação de juvenis infectantes, os quais abandonam o hospedeiro e migram no solo em busca de novo hospedeiro (KAYA & STOCK, 1997; FERRAZ, 1998; AGUILLERA, 2001).

4.4 Tecnologia de aplicação de nematóides entomopatogênicos

Com o advento da utilização de organismos entomopatogênicos em maior escala, no controle de pragas de culturas anuais e perenes, torna-se necessário o desenvolvimento

de tecnologias de aplicação mais apropriada para formulações com organismos vivos. Geralmente, os mesmos equipamentos de aplicação utilizados no controle químico dos insetos são empregados para entomopatógenos. Portanto, as informações, equipamentos e pesquisas sobre tecnologia de aplicação de organismos entomopatogênicos são escassos (ALVES et al., 1998; MOSCARDI, 2004).

O desenvolvimento de tecnologia de aplicação para organismos entomopatogênicos é uma atividade que deve envolver um grande número de pesquisadores e especialistas, promovendo uma ação interdisciplinar. Dessa forma, pode-se minimizar o desperdício de energia, recursos e produtos; aperfeiçoando o processo e viabilizando-o economicamente (MATUO, 1987; MATTHEWS, 2000; RAMOS, 2000).

4.4.1 Alvo e momento de aplicação

Partindo-se do pressuposto que os alvos são as lagartas de *S. frugiperda* no interior das folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho, o momento da aplicação é aquele em que dano da praga é maior do que o custo de seu controle. Segundo Cruz (2002), Gallo et al. (2002) e Papa (2003), tal período ocorre entre os estádios V6 a V10.

Silva (1999) obteve os melhores resultados no controle da lagarta-do-cartucho com aplicações, de produtos fitossanitários químicos, logo que surgiam os primeiros sintomas de ataque na cultura do milho, apenas sobre a fileira das plantas, dirigindo-se o jato da pulverização para o interior das folhas centrais da planta de milho.

4.4.2 Fatores do ambiente

Fatores abióticos podem influir na eficácia da aplicação de nematóides. Recomenda-se aplicação noturna para diminuir os efeitos deletérios da radiação solar e temperaturas altas sobre a viabilidade dos entomopatógenos. A radiação UV (na escala de 290 a 400 nm) pode causar danos que variam conforme o comprimento dos juvenis infectantes e o tempo de exposição. Temperaturas, do ar ou da calda, acima de 32⁰C, no momento da aplicação,

reduzem significativamente a viabilidade dos juvenis infectantes (POINAR, 1986; GAUGLER, BEDNAREK & CAMPBELL, 1992).

A viabilidade dos juvenis infectantes é afetada pela umidade disponível. Esse nível varia conforme a espécie, formulação, superfície e a temperatura da planta. Geralmente, os estudos apontam para perdas significativas de viabilidade abaixo dos 60% de umidade relativa (GLAZER, 1992; BAUR, KAYA & THURSTON, 1995). Entretanto, as condições ambientais para a dispersão dos nematóides são mais restritivas do que aquelas para sobrevivência. Os nematóides requerem uma película da água 2 a 5 mm para se movimentarem; sendo que películas mais grossas impedem o movimento porque os juvenis não podem se mover de forma direcional. Conseqüentemente, as circunstâncias que mantêm uma película fina da água sobre a superfície da folha, mas não depositam a água adicional (tal como o orvalho), são as ideais para a persistência e a mobilidade (CROLL, 1970).

Os limites de velocidade de vento seguem as recomendações para a aplicação dos produtos fitossanitários químicos, de 3 a 10 km.h⁻¹ (RAMOS, 2000).

4.4.3 Dosagem

Avaliando a patogenicidade de *Heterorhabditis* sp. (CCA), *Steinernema glaseri* (CCA) e *Steinernema* sp. (CB-5) no controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), Machado et al. (2002) aplicaram 400 juvenis infectantes por lagarta em placa de Petri, com 16 dias de idade. Após 72 horas da aplicação dos nematóides *Steinernema glaseri*, *Steinernema* sp. e *Heterorhabditis* sp foram obtidos 100, 93 e 70% de controle das lagartas, respectivamente. Considerando a existência do canibalismo e que, geralmente, há uma lagarta por “cartucho”, seriam necessários, pelo menos, 24 milhões de juvenis infectantes.ha⁻¹ – com população de 60.000 plantas - para o controle da praga.

Segundo Silva et al. (2003), para se obter um controle de 100% da lagarta-do-cartucho, em terceiro ínstar, em 72 horas, há necessidade de se distribuir pelo menos um juvenil infectante.cm⁻² de *Steinernema glaseri*, em região utilizada pela lagarta como abrigo e local de alimentação. Considerando que, na média, a região das folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho apresenta 600 cm² e que o número de plantas.ha⁻¹ é de 60.000, seriam necessários 36 milhões de juvenis infectantes.ha⁻¹ para o controle dessa praga.

4.4.4 Equipamentos

Nematóides entomopatogênicos podem ser aplicados com equipamentos desenvolvidos para agroquímicos, incluindo pulverizadores costais, pulverizadores de barra com ou sem assistência de ar, aéreos e eletrostáticos (GEORGIS, 1990; SHETLAR, 1999; SUMMER et al., 2000). Devido às características do alvo e do momento da aplicação somente os termonebulizadores, dos equipamentos citados, não são empregados no controle da *S. frugiperda* na cultura do milho (CRUZ, 1995).

4.4.4.1 Pulverizadores costais, terrestres e aéreos

A pulverização pode ser considerada como um processo mecânico de geração de gotas; onde, partindo-se de um volume grande de líquido, produz-se um grande número de pequenas partículas desse líquido, chamadas de “gotas”. O processo se dá pelo fornecimento de energia potencial a um determinado líquido, através da pressurização, forçando-o a passar por um circuito hidráulico e a sair por uma peça com orifício, chamada de “ponta de pulverização”. A geometria da ponta faz o líquido emergir em pequenos ligamentos que se quebram, posteriormente, em pequenas gotas. Dependendo do alvo que se quer ou pretende atingir com a pulverização necessita-se de um tamanho de gota adequado, independente do equipamento de aplicação. Os fatores que influenciam no tamanho da gota gerado na pulverização são: propriedades do líquido (viscosidade, densidade e tensão superficial), ponta (tipo, vazão e ângulo do jato) e pressão de trabalho (MATTHEWS, 2000).

Existe uma grande variedade de pulverizadores, porém, comparando-se o pulverizador costal aos equipamentos mais sofisticados, como os autopropelidos ou aviões, não se observam diferenças nos princípios de funcionamento (RAMOS, 2000).

4.4.4.2 Pulverizadores eletrostáticos

Vários processos podem ser utilizados para produzir gotas com carga elétrica, mas a indução eletrostática é o único pelo qual isso pode ser feito com o uso de baixa tensão. A indução eletrostática ocorre entre dois corpos mantidos sob diferentes potenciais, separados por determinada distância. Nessa situação forma-se um campo elétrico, sendo que as cargas positivas se acumulam no corpo mantido em potencial positivo, e as cargas negativas, no outro corpo. Assim, se um dos corpos é um fluxo de líquido serão acumuladas cargas na sua superfície, as quais posteriormente serão levadas com as gotas. Na medida que as cargas são levadas pelas gotas, novas cargas fluem para a superfície do líquido que está sendo pulverizado, no sentido de se restabelecer o equilíbrio da indução (COFFEE, 1979; CHAIM et al., 2002).

No processo de pulverização eletrostática é criado um campo eletromagnético entre a superfície a ser tratada e as gotas. Quando são formadas nas pontas as gotas saem carregadas eletricamente e são atraídas pela diferença de potencial à superfície das plantas (MATUO, 1990; MATTHEWS, 2000).

4.4.4.3 Pressurização e despressurização da calda

Alguns experimentos buscaram avaliar a influência do número de passagens, pressurização e despressurização da calda no circuito hidráulico do pulverizador na viabilidade dos juvenis infectantes dos nematóides entomopatogênicos. Não houve diferença significativa em nenhuma das variáveis testadas a pressões de 400 (KLEIN & GEORGIS, 1994; MATTHEWS, 1997), 1.407 (GARCIA et al., 2005), 2.000 (GEORGIS, 1990) e 2.110 kPa (POINAR, 1986).

4.4.4.4 Pontas e filtros

A ponta é um dos componentes mais importantes do pulverizador, pois dela depende a vazão e a qualidade da aplicação. Para cada modelo e tamanho de ponta existe um filtro mais adequado. As pontas de menor vazão exigem filtros mais finos (malha superior a 80) e

para as pontas de maior vazão, os filtros podem ser mais grossos (malha inferior a 50) (RAMOS, 2000). A numeração do filtro corresponde ao número de aberturas na extensão de uma polegada. As aberturas das malhas são 0,08; 0,14; 0,18; 0,30; 0,60 e 1,00 mm para os filtros 200, 100, 80, 50, 30, e 20 (BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL – BCPC, 1991).

Poinar (1986) e Georgis (1990) afirmaram que os nematóides podem ser aplicados com pontas com aberturas maiores que 0,05 mm (malha inferior a 200). Klein & Georgis (1994) pulverizando *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema* sp. com pontas de pulverização XR8001 (malha 100), TK-VS2 flood jet (malha 50) e FL-5SV fulljet (malha 50), não detectaram influência significativa na viabilidade e concentração desses entomopatógenos. A viabilidade e concentração do nematóide *Steinernema feltiae* também se mantiveram estáveis quando pulverizados com pontas de aberturas de 5x2 e 5x3 mm, concluíram Nilson & Gripwall (1999).

Shetlar (1999) aconselha a remoção de todos os filtros dos equipamentos de irrigação e pulverização, com malha igual ou superior a 50, para permitir que os nematóides atravessem o sistema hidráulico. Garcia et al. (2005), alerta que os filtros do sistema hidráulico do pulverizador podem impedir a passagem do nematóide *S. glaseri*, pois o comprimento médio da forma infectiva empregada em seu experimento foi de 1,13 mm e o tamanho da abertura de filtros com malha 50 - compatível com as pontas comumente utilizadas na aplicação de produtos fitossanitários - é de 0,30 mm; valor este 74% inferior ao tamanho médio do entomopatógeno.

Sarro et al. (2003) procuraram verificar qual a quantidade de nematóides remanescente no interior das folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho após a aplicação de 1,0 ml.planta⁻¹ de calda. Na aplicação com pipeta, foram recuperados 51, 32, 33 e 24%, respectivamente às concentrações de 50, 100, 200 e 400 juvenis infectantes.ml⁻¹ de *Steinernema* sp.; o que corresponde a 0,15, 0,13, 0,27 e 0,48 nematóide.cm⁻². Não houve uma recuperação significativa de nematóides quando a aplicação se deu com a ponta de jato plano EF 8003 (filtro do bico com malha 50), vazão de 0,5 L.min⁻¹.

4.4.5 Volume de aplicação

Em tecnologia de aplicação o volume de calda utilizado nunca deve ser premissa da calibração e sim a consequência da mesma. Calibra-se um pulverizador para colocar

a quantidade necessária de calda sobre o alvo selecionado. Quanto menor o volume de água necessário para isso, maior a capacidade de trabalho dos pulverizadores e menor o custo da operação (GARCIA & RAMOS, 2004).

Silva (1999), pulverizando produtos fitossanitários químicos, obteve os melhores resultados no controle da lagarta-do-cartucho, na cultura do milho, com volume de calda de 300 L.ha⁻¹.

A umidade pré e pós-aplicação são essenciais para o movimento, persistência e infecção do nematóide (SIMONS & POINAR, 1973). O volume de aplicação varia com o solo, compactação, estrutura, cultura, inseto alvo, comportamento do inseto alvo, formulação e arquitetura da planta. A literatura traz valores entre 935 a 2.800 L.ha⁻¹ (KAYA, 1986; BERG et al., 1987).

4.4.6 Compatibilidade com demais produtos fitossanitários

Rovesti & Deseö (1990) pesquisaram a compatibilidade de *S. carpocapsae* e *S. feltiae* com 75 formulações comerciais de produtos fitossanitários. Os resultados indicaram que as formas juvenis infectivas de ambas as espécies toleraram a maioria dos produtos testados, sendo que, entre os fungicidas, dodine foi o mais tóxico; e, entre os herbicidas, alachor e paraquat. Entre as formulações de inseticidas, acaricidas e nematicidas, os mais prejudiciais foram parathion, aldicarb, methomyl, flubenzimina e fenamifós.

Verificando a compatibilidade do nematóide *Steinernema* sp. com produtos fitossanitários utilizados na cultura da banana, Almeida et al. (2004) concluíram que o Finale 200 SL (herbicida não seletivo, ingrediente ativo glufosinato-sal de amônio e grupo químico das homoalaninas substituídas), Iharol 760 EW (acaricida, adjuvante e inseticida; ingrediente ativo óleo mineral e grupo químico dos hidrocarbonetos alifáticos) e Piritilen (inseticida; ingrediente ativo óleo mineral e grupo químico dos hidrocarbonetos alifáticos) afetaram a viabilidade do entomopatógeno. Somente o Diurex Agricur 500 SC (herbicida seletivo, ingrediente ativo diurom e grupo químico das uréias) não apresentou efeito deletério sobre a viabilidade dos juvenis infectantes quando do emprego associado aos produtos químicos.

Ao estudarem a compatibilidade de plantas inseticidas com nematóides entomopatogênicos Barbosa et al. (2004) concluíram que sementes e talos de *Piper frutescens*,

talos de *Abizia niopoides*, cascas de *Anadenanthera macrocarpa* e ramos de *Petiveria alliacea* afetam negativamente a viabilidade dos juvenis infectantes de *Steinernema anomali*, *Heterorhabditis* sp. (isolado PI) e *Heterorhabditis* sp. (isolado CCA).

Os resultados do experimento de Cintra et al. (2003) permitem afirmar que há compatibilidade de aplicação do *Heterorhabditis* sp. com *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*.

4.4.7 Bioinsetigação

A aplicação de bioinseticidas através de sistemas de irrigação é denominada de bioinsetigação. Uma das vantagens dos bioinseticidas pulverizados via água de irrigação é que esses agentes de controle podem ser aplicados a qualquer momento, pois os sistemas de irrigação podem ser operados em climas secos ou úmidos e a qualquer hora do dia e da noite. Dependendo do sistema de irrigação usado, a aplicação do bioinseticida é mais uniforme do que com os sistemas convencionais, deixando praticamente todas as folhas das plantas molhadas (VALICENTE, 1994).

Os métodos mais usados na veiculação de bioinseticidas via água de irrigação são: aspersão convencional, pivô central e aspersão sob copa (VALICENTE, 1994). Segundo Valicente e Costa (1995) o controle da *S. frugiperda* com Baculovirus foi eficiente. Mantendo-se a mesma dose do *Baculovirus spodoptera* para três lâminas de água, 3, 5 e 7 mm, não houve diferença significativa entre as mortalidades das larvas, que foram de 78, 79 e 79%, respectivamente. Resultados complementares comprovam que, com a mesma lâmina de água de 6 mm, a mortalidade foi proporcional às doses de *B. spodoptera* usadas, partindo de 27 % da testemunha a 90 % com a dose de 2×10^{12} poliedros.ha⁻¹.

5 MATERIAL E MÉTODOS

A partir de criações estoque dos nematóides *Heterorhabditis indica* (POINAR, KARUNAKAR & DAVID, 1992) e *Steinernema* sp. (Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico) e do lepidóptero *Spodoptera frugiperda* (Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico e da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP), foram realizados os experimentos para avaliar a viabilidade do uso desses entomopatógenos no controle da lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*) na cultura do milho. Os juvenis infectantes dos nematóides apresentaram o comprimento médio de 0,52 e 1,05 mm, para *H. indica* e *Steinernema* sp., respectivamente (Figura 1).

A multiplicação dos nematóides seguiu o método proposto por Bedding (1981). A lagarta-do-cartucho foi criada em dieta artificial de Nalin (1991).

Na criação, os ovos da *S. frugiperda*, obtidos em gaiolas de oviposição, foram acondicionados em placas de Petri (9,0 cm de diâmetro x 2,0 cm de altura), forradas com papel filtro umedecido. A seguir, as placas foram lacradas com fita adesiva. Após a eclosão as larvas foram transferidas para tubos de vidro (8,5 cm de comprimento x 2,5 cm de diâmetro), contendo dieta artificial, permanecendo até o terceiro ínstar. O processo se deu em sala climatizada (Fitotron) com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

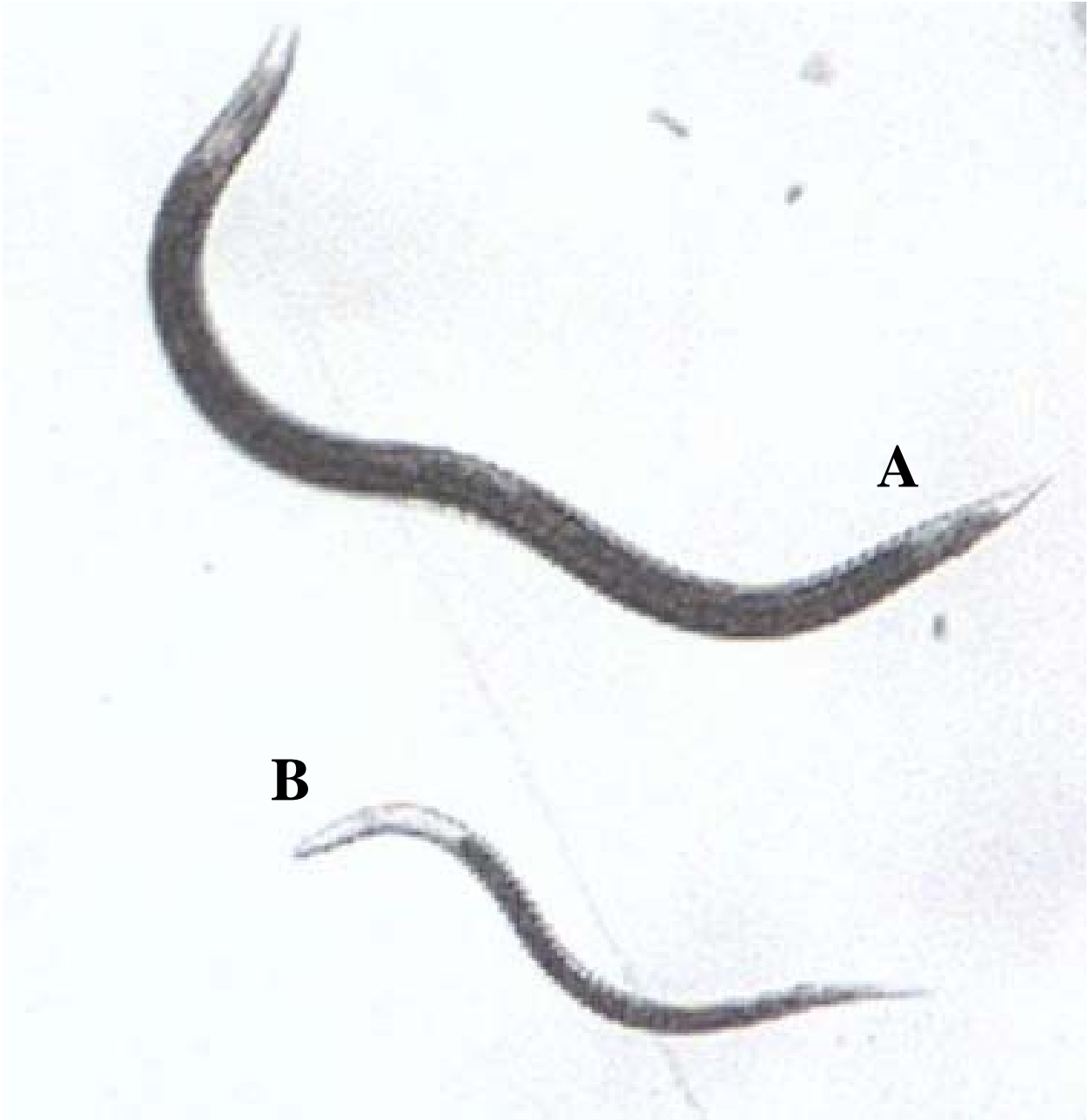


Figura 1. Juvenis infectantes dos nematóides *Steinernema* sp. (A) e *Heterorhabditis indica* (B) com comprimento médio de 1,05 e 0,52 mm, respectivamente.

A definição do tamanho da amostra seguiu o método proposto por Kranz (1988). Para os experimentos que envolveram infecção das lagartas de *S. frugiperda* de terceiro ínstar optou-se pela menor dosagem (50 juvenis infectantes), por apresentar a maior variabilidade de dados já que representava a pior situação de controle. A estabilização da média e do desvio padrão da porcentagem de lagartas mortas pelos juvenis infectantes de *Heterorhabditis indica* e

Steinernema sp. estabilizou-se com 7 lagartas por repetição, no intervalo entre 2 a 15 lagartas. Para os experimentos que envolviam análise de viabilidade de juvenis infectantes de *H. indica* e *Steinernema* sp., houve estabilização da média e do desvio padrão com 50 indivíduos contabilizados por placa de Petri. Porém, como havia disponibilidade de nematóides, optou-se por 100 indivíduos por repetição, seja em placa de Petri ou lâmina de Peters. Buscou-se, assim, minimizar o efeito das variáveis não controladas sobre o método empregado na coleta de dados do experimento.

As condições climáticas do ambiente em todos os experimentos foram mantidas abaixo de 26^oC e acima de 66% de UR do ar. O pH médio da água destilada, empregada como solvente na calda, foi de 6,8. Portanto dentro dos limites sugeridos por Poinar (1986), Gaugler, Bednarek & Campbell (1992), Glazer (1992) e Baur, Kaya & Thurston (1995). Como as pulverizações ocorreram em laboratório não houve influência da velocidade do vento.

A homocedasticidade das variâncias foi determinada pelo teste de Hartley, observando a indicação, ou não, da transformação dos dados (BANZATTO & KRONKA, 1995).

5.1 Dosagens de juvenis infectantes em ambiente controlado

Essa etapa do experimento foi realizada no Laboratório de Controle Biológico, do Instituto Biológico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições (7 lagartas por repetição). Os tratamentos consistiram nas seguintes dosagens dos entomopatógenos *H. indica* e *Steinernema* sp.: zero (testemunha), 50, 100, 200 e 400 juvenis infectantes por inseto.

As concentrações de nematóides (porcentagem de juvenis infectantes viáveis por ml) foram determinadas em microscópio estereoscópio com aumento de 40x com o auxílio da lâmina de Peters. Os juvenis infectantes foram liberados sobre papel filtro (49 mm de diâmetro) acondicionado em funil de Buchner, que por sua vez estava acoplado a um kitassato (1,0 L) com auxílio de uma cortiça. O kitassato foi ligado a uma bomba de vácuo, com pressão de sucção de 42 kPa. Tal procedimento se fez necessário para que se extraísse o excesso de água, já que se trabalhou com a mesma diluição de calda, variando-se o volume conforme a dosagem aplicada em cada tratamento. Após 30 segundos de sucção o papel filtro foi transferido para uma placa de Petri de mesmo diâmetro e altura de 13 mm. Foi adicionado à placa 0,3 ml de água

destilada - em todos os tratamentos – para facilitar o deslocamento dos nematóides sem prejudicar o desenvolvimento do inseto.

Após a aplicação das diferentes dosagens as lagartas foram transferidas dos tubos de vidro para placas de Petri. As lagartas foram mantidas nas placas de Petri por 14 horas, sem acesso à dieta, no Fitotron. Após esse período, as lagartas foram transferidas para tubos de vidro esterilizados com novas dietas. A mortalidade das lagartas foi avaliada 48 horas após a aplicação dos entomopatógenos. As lagartas permaneceram em sala climatizada (Fitotron) com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

As possíveis diferenças entre as estimativas das variâncias dos tratamentos foram determinadas pelos testes F e regressão polinomial.

5.2 Técnicas de aplicação dos nematóides entomopatogênicos em ambiente controlado

Com o objetivo de se verificar a compatibilidade das técnicas de pulverização desenvolvidas para produtos fitossanitários químicos, no controle da lagarta-do-cartucho na cultura do milho, com juvenis infectantes dos nematóides entomopatogênicos *H. indica* e *Steinernema* sp., escolheram-se diferentes equipamentos, pontas de pulverização e elementos filtrantes disponíveis no mercado.

5.2.1 Pulverização com o fornecimento de carga elétrica à calda

A etapa do experimento referente ao sistema de pulverização dotado de carga elétrica às gotas foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Aplicação do Centro Nacional de Pesquisa sobre Meio Ambiente (CNPMA) da EMBRAPA, com equipamentos dessa instituição e do Laboratório de Tecnologia de Aplicação de Defensivos Agrícolas da Faculdade de Ciências Agrônomicas / UNESP.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos consistiram em determinar a viabilidade de juvenis infectantes, de *H. indica* e *Steinernema* sp., em calda sem e com fornecimento de corrente elétrica por 10, 20, 30 40, 50, 60 minutos e a testemunha. Considerou-se como testemunha a recontagem de juvenis infectantes viáveis na calda sem o fornecimento de corrente, ao final de 80 minutos,

objetivando identificar uma possível queda da viabilidade no decorrer do período de avaliação. A viabilidade foi determinada pela contagem, em microscópio estereoscópio (40x), de 100 juvenis infectantes (Figura 2) em placa de Petri (cada placa de Petri correspondeu a 1 repetição), após 10 minutos da interrupção de fornecimento de corrente elétrica.

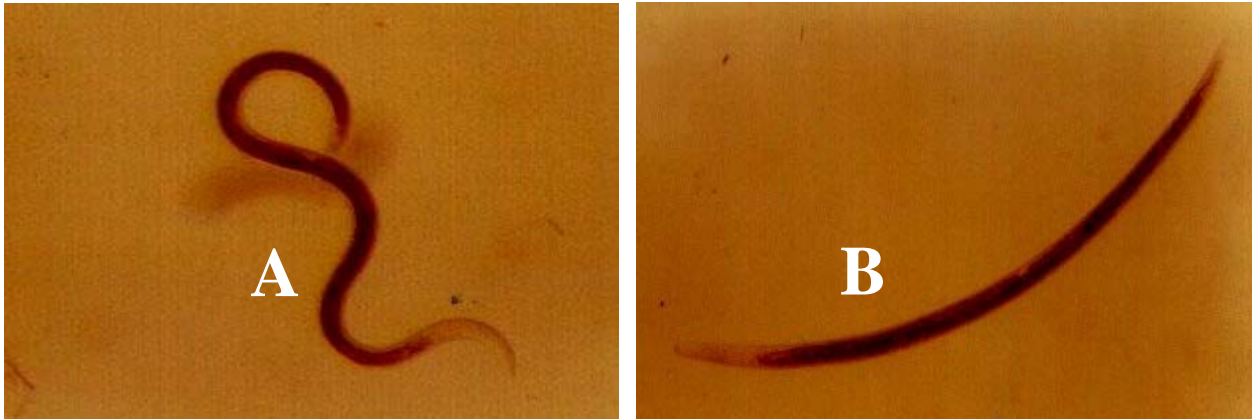


Figura 2. Juvenis Infectantes de *Steinernema* sp. em microscópio óptico (40x), viável (A), ou não (B).

Para realização desta etapa uma carga elétrica, de alta voltagem e baixa amperagem, foi fornecida à calda pelo processo de indução. Para isso, uma bateria de 12 volts (V) enviou corrente a um transformador, que a converteu em 40 kV negativos com 1,0 μ A. Essa corrente foi enviada, através de fios condutores, para um recipiente de 2,0 L de calda com 4.000 juvenis infectantes, isolado do meio de forma que não houvesse diferença de potencial entre as extremidades do recipiente.

Empregou-se o teste F para a comparação de estimativas das variâncias. Como se trabalhou com níveis crescentes de tempo, ajustou-se a variação dos dados através da aplicação de regressão polinomial.

5.2.2 Pulverização com pontas hidráulicas

Os testes referentes às técnicas de aplicação com pontas hidráulicas foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico, do Instituto Biológico, com equipamentos de tecnologia de aplicação do Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Engenharia e Automação – IAC, e Laboratório de Tecnologia de Aplicação de Defensivos

Agrícolas da Faculdade de Ciências Agronômicas / UNESP.

Na análise da concentração de juvenis infectantes de *H. indica* e *Steinernema* sp. optou-se pelo delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos consistiram na testemunha (coleta da calda que não passou pelo circuito hidráulico do pulverizador) e na coleta da calda após a passagem pelo circuito hidráulico com malhas de filtro 25, 50 e 100 (somente no bico). Utilizou-se ponta D8, com difusor DC-45, por demandar filtro com maior malha (25), não afetando assim os demais tratamentos. A coleta da calda foi realizada em Becker de 1,0 L no tanque para a testemunha (com calda em agitação) e a 5,0 cm da ponta de pulverização para os demais tratamentos. A concentração foi determinada pela contagem, em microscópio estereoscópio (40x), do número total de juvenis infectantes por lâmina de Peters.

Na análise da viabilidade de juvenis infectantes de *H. indica* e *Steinernema* sp. optou-se também pelo delineamento inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 5 repetições. Os tratamentos foram constituídos pela testemunha 1 (coleta da calda que não passou pelo circuito hidráulico); coleta da calda após a passagem pelo circuito hidráulico com as pontas: centrífuga, D3 (DC-25), D8 (DC-45), AI 11003VS e AI 110015VS (Tabela 3) e a testemunha 2 (recontagem de juvenis infectantes viáveis da calda que não passou pelo circuito hidráulico do pulverizador, ao final de 190 minutos, objetivando identificar possível queda na viabilidade durante o período de avaliação). A viabilidade foi determinada pela contagem, em microscópio estereoscópio (40x), de 100 juvenis infectantes viáveis por placa de Petri, após 10 minutos da passagem da calda pelo sistema hidráulico.

Na pulverização com ponta hidráulica centrífuga empregou-se o pulverizador costal Micro Plex[®], com acionamento da rotação da ponta por duas pilhas elétricas de 1,5 V, tanque em polietileno com capacidade de 5,0 L e fornecimento de calda à ponta por gravidade (GENO, 2004). Já na pulverização com as pontas hidráulicas convencionais optou-se pela variação da forma do jato, tamanho da malha dos filtros, vazão e tamanho das gotas (Tabela 3).

Para as demais pontas hidráulicas utilizou-se o pulverizador costal manual PJH[®], tanque em polietileno com capacidade de 20 L, bomba tipo pistão duplo, câmara de compensação em latão, válvula de pressão constante em 200 kPa e filtro somente na ponta (JACTO, 2001). O número de passagens, pressurização e despressurização, a qual foram submetidos os nematóides presentes na calda circulante no sistema hidráulico do pulverizador,

não são suficientes para afetar a viabilidade dos entomopatógenos, conforme constatações de Poinar (1986), Georgis (1990), Klein & Georgis (1994), Matthews (1997) e Garcia et al. (2005).

Tabela 3. Tecnologia de aplicação empregada na pulverização dos nematóides entomopatogênicos *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. a 200 kPa (exceto na ponta centrífuga).

Ponta	Pulverizador	Forma do Jato	Filtro	Vazão (L.min ⁻¹)	Tamanho de gota
Centrífuga	Micro Plex [®]	-	25 ⁽¹⁾	0,11	média a grossa
D3 - DC25	PJH [®]	cônico vazio	25 ⁽²⁾	0,63	fina a muito fina
D8 - DC45	PJH [®]	cônico vazio	25 ⁽²⁾	2,70	fina a muito fina
AI 11003VS	PJH [®]	jato plano	50 ⁽²⁾	0,96	extremamente grossa
AI 110015VS	PJH [®]	jato plano	100 ⁽²⁾	0,48	muito grossa

(1) Somente no tanque.

(2) Somente no bico.

Fonte: Jacto (2001), TeeJet (2003) e Geno (2004).

Empregou-se o teste F para a comparação de estimativas das variâncias e a comparação de médias pelo teste t, a 5,0 % de probabilidade. Apesar de se trabalhar com níveis crescentes de tamanho de malha - na análise de concentração de nematóides - não se optou pela determinação do ponto ótimo devido à limitação do tamanho de malha dos filtros existentes no mercado.

5.3 Pulverização do *Steinernema* sp. na planta de milho em ambiente controlado

Com a determinação prévia da dosagem necessária para matar 100% das lagartas de *S. frugiperda* em placa de Petri e da tecnologia de aplicação compatível com o *Steinernema* sp., buscou-se definir a dosagem necessária para controlar o referido inseto no interior das folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho. Esta etapa do experimento foi realizada no Departamento de Defesa Fitossanitária, FCA - UNESP.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 4 repetições. Cada repetição foi constituída por 7 plantas infestadas com 1 lagarta

por planta. Os tratamentos foram: testemunha 1 (300 juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. em placa de Petri com lagarta de terceiro ínstar), testemunha 2 (lagartas de terceiro ínstar alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho sem aplicação de calda), testemunha 3 (lagartas de terceiro ínstar alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho com aplicação de 800 L.ha⁻¹ de água), 300, 400, 500 e 600 juvenis infectantes viáveis por planta.

A preparação da testemunha 1 seguiu o método descrito no subcapítulo 5.1. A dosagem foi calculada para a população de 60.000 plantas por hectare. Procedeu-se a determinação da concentração e porcentagem de juvenis infectantes viáveis por ml, com o auxílio da lâmina de Peters, em microscópio esteroscópico com aumento de 40x.

Escolheu-se a cultivar de milho BR 201 (peneira 22L e lote 78), por apresentar-se suscetível ao ataque da *S. frugiperda*, no experimento conduzido por Viana & Potenza (2000). A semeadura foi realizada em vasos com capacidade para 3,0 L, contendo o substrato resultante da mistura proporcional de solo, esterco curtido de gado e areia. Os vasos foram acondicionados em casa-de-vegetação com ambiente controlado (25±10⁰C; UR 70±10 %).

A pulverização ocorreu no Laboratório de Tecnologia de Aplicação de Defensivos Agrícolas, FCA – UNESP, 45 dias após a emergência das plantas de milho. Para a definição do volume de calda a ser aplicado considerou-se o início do escorrimento do produto aplicado para o interior das folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho (GARCIA & RAMOS, 2004). Tal escorrimento ocorreu com 800 L.ha⁻¹. Na pulverização empregou-se a ponta AVI 11002 a 200 kPa, tamanho de gota muito grossa e deslocamento da barra a 0,98 km.h⁻¹ (TEEJET, 2003).

Às folhas centrais, ou “cartucho”, de cada planta de milho foi transferida uma lagarta em terceiro ínstar de *S. frugiperda*, 60 minutos antes da aplicação da calda. Os vasos, com as plantas de milho em estágio V6, foram enfileirados sob o centro do jato da ponta posicionada na barra de pulverização. A distância entre a ponta e a altura máxima da planta de milho foi de 0,6 m (Figura 3).

Após 10 minutos do término da pulverização cortou-se a ponta das folhas superiores e as folhas centrais, ou “cartucho” da planta de milho, para envolver a planta em tecido-não-tecido (TNT); prendendo-se este à base do “cartucho” por meio de elástico. Tal procedimento foi necessário para prevenir a fuga das lagartas (Figura 4).



Figura 3. Pulverização em ambiente controlado ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $68\pm 2\%$) do entomopatógeno *Steinernema* sp. para o controle das lagartas de *Spodoptera frugiperda*, terceiro ínstar, após infestação artificial nas folhas centrais das plantas de milho.

Após 48 horas da instalação do experimento avaliou-se a porcentagem de mortalidade das lagartas nas diferentes dosagens dos juvenis infectantes. As lagartas

sobreviventes foram transferidas para placas de Petri esterilizadas, com partes das folhas centrais da planta de milho em que estavam alojadas. Novas avaliações de porcentagem de mortalidade foram realizadas com 96 e 144 horas após as pulverizações.



Figura 4. Proteção da planta de milho com tecido-não-tecido (TNT) para prevenir a fuga das lagartas de *Spodoptera frugiperda*, terceiro ínstar, após pulverização do entomopatógeno *Steinernema* sp.

As possíveis diferenças entre as estimativas das variâncias dos tratamentos foram determinadas pelo teste F e regressão polinomial.

5.4 Compatibilidade entre *Steinernema* sp. e tensoativos

Essa etapa do experimento foi realizada no Laboratório de Controle Biológico, do Instituto Biológico. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado,

com 4 tratamentos e 5 repetições (1 placa de Petri por repetição). Os tratamentos consistiram na adição à calda dos tensoativos Break-Thru[®] (copolímero poliéter-polimetil siloxano 750 g.L⁻¹ e poliéter 750 g.L⁻¹), Extravon[®] (alquil-fenol-poliglicoléter 250 g.L⁻¹), Iharaguen-S[®] (polioxietileno alquilfenol éter 200 g.L⁻¹) e a testemunha (calda sem tensoativo). As dosagens dos tensoativos foram 0,1% de Break-Thru[®] e 0,01 % de Extravon[®] e Iharaguen-S[®] em relação à calda (ANDREI, 1999). Escolheram-se estes tensoativos por possuírem composição, grupos químicos e característica iônica distintas.

A concentração do nematóide *Steinernema* sp. foi de 500 juvenis infectantes por repetição, determinada em microscópio esteroscópico com aumento de 40x, com o auxílio da lâmina de Peters. As placas de Petri foram acondicionadas por 24 horas em sala com ambiente controlado. Após este período a viabilidade de 100 nematóides foi avaliada com auxílio da lâmina de Peters, em microscópio esteroscópico com aumento de 40x, conforme método adaptado de Vainio (1992). Empregou-se o teste F para comparação de estimativas de variâncias e a comparação de médias pelo teste t, a 5,0 % de probabilidade.

5.5 Pulverização do *Steinernema* sp., com tensoativo, na planta de milho em ambiente controlado

Como o controle da *S. frugiperda* pelo *Steinernema* sp., pode ser afetada pela má distribuição e falta de umidade para que o nematóide infecte a lagarta; optou-se por adicionar o tensoativo Iharaguen-S[®] a 0,01 % da calda.

O experimento foi realizado no Departamento de Defesa Fitossanitária, FCA - UNESP. O método de cultivo do milho e pulverização foram realizados conforme descrição no subcapítulo 5.3.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 4 repetições. Cada repetição foi constituída por 7 plantas infestadas com 1 lagarta por planta. Os tratamentos foram: testemunha 1 (600 juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. em placa de Petri com lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*), testemunha 2 (lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho sem aplicação de calda), testemunha 3 (lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho com aplicação de 800 L.ha⁻¹ de água + 0,01 % de Iharaguen-S[®]), calda com 600, 1.200, 2.400 e 4.800 juvenis infectantes viáveis por planta + 0,01

% de Iharaguen-S®.

A dosagem, concentração, preparo da testemunha 1, pulverização e avaliação foram descritas no subcapítulo 5.3. As possíveis diferenças entre as estimativas das variâncias dos tratamentos foram determinadas pelo teste F e regressão polinomial.

5.6 Bioinsetigação do *Steinernema* sp. na planta de milho em ambiente controlado

Essa fase do experimento foi realizada no Departamento de Defesa Fitossanitária, FCA - UNESP. O método de cultivo do milho e pulverização foram realizados conforme descrição no subcapítulo 5.3.

Como o controle da *S. frugiperda* pelo *Steinernema* sp., pode ser afetado pela falta de umidade para que os nematóides infectem a lagarta; optou-se por aplicar uma lâmina de água de 6 mm após a pulverização da calda de 800 L.ha⁻¹. A lâmina de água foi obtida no mesmo simulador utilizado na pulverização, com a ponta TK-SS5 10, a 300 kPa e deslocamento da barra a 1,58 km.h⁻¹. A lâmina de água de 6 mm foi suficiente para auxiliar a ação de outros entomopatógenos, em ensaio conduzido por Valicente e Costa (1995).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 4 repetições. Cada repetição foi constituída por 7 plantas infestadas com 1 lagarta por planta. Os tratamentos foram: testemunha 1 (600 juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. em placa de Petri com lagarta de terceiro ínstar de *S. frugiperda*), testemunha 2 (lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho sem aplicação de calda mais lâmina de água), testemunha 3 (lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho com aplicação de 800 L.ha⁻¹ de água mais a lâmina de água), calda com 600, 1.200, 2.400 e 4.800 juvenis infectantes viáveis por planta acrescido de lâmina de água de 6 mm.

A dosagem, concentração, preparo da testemunha 1, pulverização e avaliação foram descritas no subcapítulo 5.3.

As possíveis diferenças entre as estimativas das variâncias dos tratamentos foram determinadas pelo teste F e regressão polinomial.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de viabilidade dos nematóides entomopatogênicos se manteve acima de 90 % em todos os experimentos. O teste de Hartley apontou homocedasticidade das variâncias, não sendo necessário à transformação dos dados (BANZATTO & KRONKA, 1995).

6.1 Dosagens de juvenis infectantes em ambiente controlado

O teste estatístico F acusou diferenças significativas entre as dosagens de juvenis infectantes dos nematóides entomopatogênicos. No caso do nematóide *H. indica* a regressão significativa foi de primeiro grau (Figura 5). Em se tratando do *Steinernema* sp. a regressão polinomial foi significativa para a equação quadrática (Figura 6).

A mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* obtida com a aplicação de 400 juvenis infectantes de *H. indica* ficou em 75% neste experimento, contra 70 % obtido por Machado et al. (2002). Assim, confirma-se a capacidade entomopatogênica do nematóide, sendo a mortalidade diretamente proporcional a dose no intervalo avaliado.

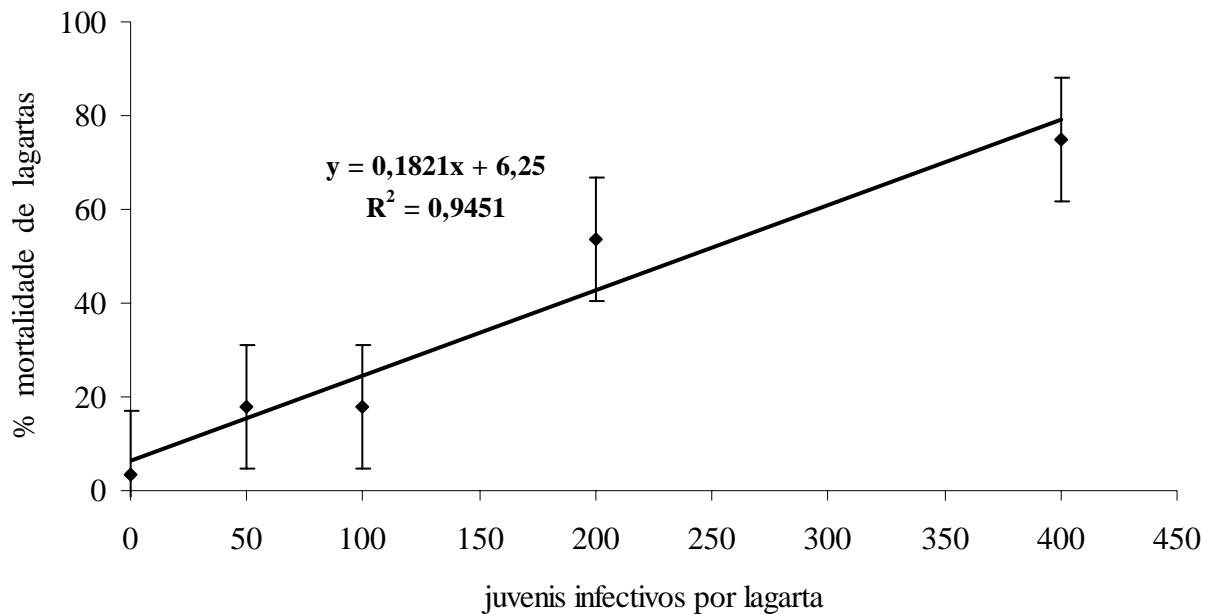


Figura 5. Média da porcentagem de lagartas mortas de *Spodoptera frugiperda*, terceiro ínstar, 48 horas após a aplicação de diferentes dosagens de juvenis infectantes de *Heterorhabditis indica*, em ambiente controlado ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

Ao se derivar à curva obtida pela mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, terceiro ínstar, com diferentes dosagens de juvenis infectantes de *Steinernema* sp. determinou-se que a melhor mortalidade foi alcançada com 280 nematóides. Os resultados corroboram com os dados obtidos por Machado et al. (2002), que também obtiveram 100 % de mortalidade das lagartas. A diferença na dosagem pode ser atribuída ao fato de que Machado et al. (2002) trabalharam com a única dosagem de 400 juvenis infectantes por lagarta.

Assim, os resultados experimentais confirmaram o potencial entomopatogênico dos nematóides *H. indica* e *Steinernema* sp., conforme asseguraram Ferraz (1998), Gallo et al. (2002), Machado et al. (2002), Silva et al. (2003).

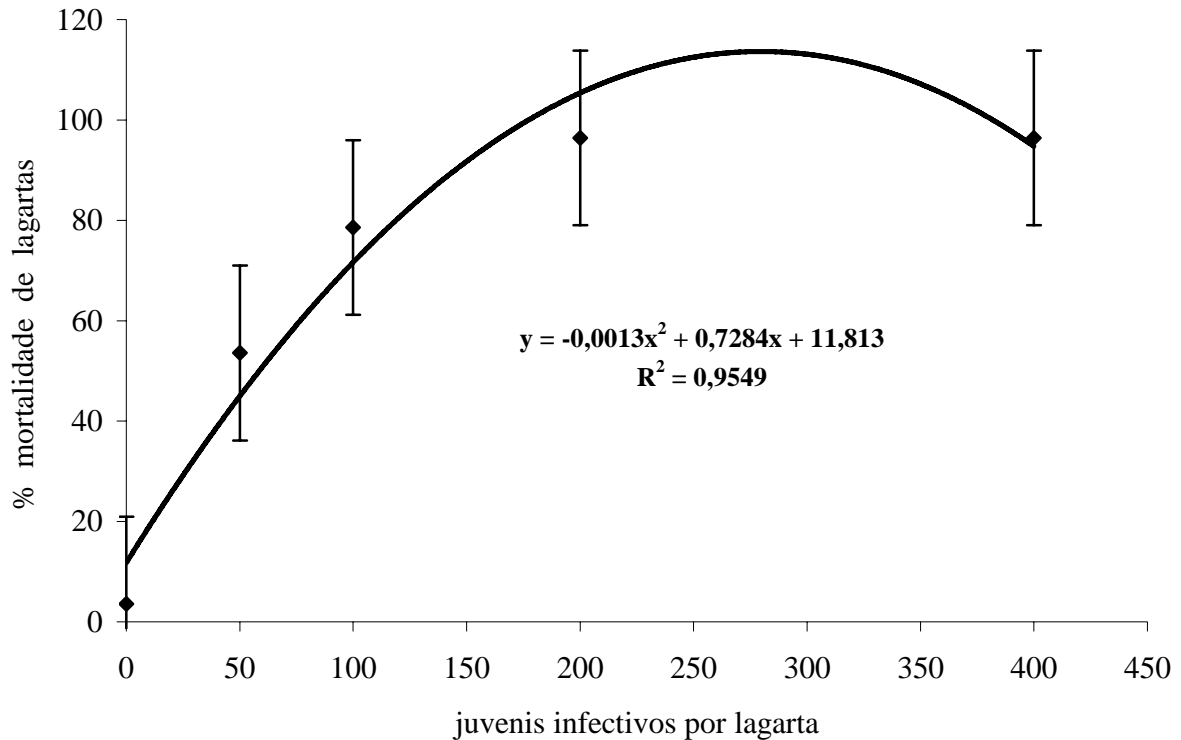


Figura 6. Média da porcentagem de lagartas mortas de *Spodoptera frugiperda*, terceiro ínstar, 48 horas após a aplicação de diferentes dosagens de juvenis infectantes de *Steinernema* sp. em ambiente controlado ($21\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

6.2 Técnicas de aplicação dos nematóides entomopatogênicos em ambiente controlado

6.2.1 Pulverização com o fornecimento de carga elétrica à calda

O teste estatístico F não indicou diferenças significativas entre os tratamentos, dispensando o ajuste da variação dos dados através da aplicação de regressão polinomial (Tabelas 4 e 5). A viabilidade dos juvenis infectantes de *H. indica* e *Steinernema* sp. não foi afetada pelo fornecimento de 40 kV negativos ($1,0\ \mu\text{A}$), no decorrer do tempo, devido ao isolamento do meio. Como não houve diferença de potencial na calda não existiu passagem de corrente elétrica, consequentemente a viabilidade dos entomopatógenos em estudo permaneceu inalterada.

Tabela 4. Viabilidade de juvenis infectantes de *Heterorhabditis indica*, determinada na placa de Petri, em microscópio estereoscópio (40x) - concentração de $1,25 \times 10^6$ indivíduos.L⁻¹ - após exposição a 40 kV negativos (1,0 μ A), em diferentes intervalos de tempo.

Intervalo de tempo (minutos)	Viabilidade (%)
Sem fornecimento de corrente elétrica	96,0 ⁽²⁾
10	95,4
20	95,0
30	95,2
40	95,6
50	94,8
60	95,6
Testemunha ⁽¹⁾	95,6
Média Geral 95,4	Coeficiente de Variação (%) 1,2
	Desvio Padrão 1,2

(1) Recontagem de juvenis infectantes viáveis na calda sem fornecimento de corrente elétrica, ao final de 80 minutos.

(2) NS – não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Viabilidade de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., determinada na placa de Petri, em microscópio estereoscópio (40x) - concentração de $1,25 \times 10^6$ indivíduos.L⁻¹ - após exposição a 40 kV negativos (1,0 μ A), em diferentes intervalos de tempo.

Intervalo de tempo (minutos)	Viabilidade (%)
Sem fornecimento de corrente elétrica	91,0 ⁽²⁾
10	90,8
20	91,4
30	90,6
40	90,6
50	90,8
60	90,8
Testemunha ⁽¹⁾	91,0
Média Geral 90,9	Coeficiente de Variação (%) 1,7
	Desvio Padrão 1,6

(1) Recontagem de juvenis infectantes viáveis na calda sem fornecimento de corrente elétrica, ao final de 80 minutos.

(2) NS – não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

6.2.2 Pulverização com pontas hidráulicas

A concentração de juvenis infectantes na calda coletada após passagem pelo circuito hidráulico do pulverizador foi afetada negativamente quando do emprego da malha 100 (Tabelas 6 e 7). Os demais tratamentos não diferiram entre si, com um grau de confiança superior a 99% de probabilidade.

Tabela 6. Concentração de juvenis infectantes de *Heterorhabditis indica*, determinada na lâmina de Peters, em microscópio óptico (40x), após passagem pelo circuito hidráulico do pulverizador PJH[®] (200 kPa, ponta D8 e difusor DC-45), com diferentes malhas de filtro no bico de pulverização.

Tratamentos	Concentração (juvenis infectantes.ml ⁻¹)		
Testemunha ⁽¹⁾			418,6 a ⁽²⁾
Malha do filtro no bico 25			414,4 a
Malha do filtro no bico 50			410,6 a
Malha do filtro no bico 100			303,0 b
Média Geral	386,7	Erro Padrão da Média	6,0
Coefficiente de Variação (%)	3,4	Desvio Padrão	13,3

(1) Contagem da concentração dos entomopatógenos presentes na calda que não passou pelo circuito hidráulico do pulverizador.

(2) Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste t, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados corroboram com as conclusões obtidas por Nilson & Gripwall (1999), os quais não detectaram diferença significativa na viabilidade e concentração dos nematóides, quando pulverizados com pontas com abertura de 5x2 mm e 5x3 mm.

Pelos dados obtidos neste experimento, é oportuno salientar o alerta feito por Shetlar (1999) e Garcia et al. (2005) sobre a interferência dos filtros do sistema hidráulico do pulverizador sobre estes organismos entomopatogênicos; pois eles podem atuar como barreiras aos juvenis infectantes. Já a insignificante recuperação dos nematóides aplicados nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho, por Sarro et al. (2003), não pode ser explicada pela retenção dos entomopatógenos nos elementos filtrantes do circuito hidráulico do pulverizador. Naquele experimento a ponta utilizada foi a de jato plano EF 8003, cuja malha de filtro requerida

é a 50, que neste experimento não afetou significativamente a concentração dos juvenis infectantes.

Tabela 7. Concentração de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., determinada na lâmina de Peters, em microscópio óptico (40x), após passagem pelo circuito hidráulico do pulverizador PJH[®] (200 kPa, ponta D8 e difusor DC-45), com diferentes malhas de filtro no bico de pulverização.

Tratamentos	Concentração (juvenis infectantes.ml ⁻¹)		
Testemunha ⁽¹⁾			1.464,2 a ⁽²⁾
Malha do filtro no bico 25			1.457,0 a
Malha do filtro no bico 50			1.447,2 a
Malha do filtro no bico 100			689,8 b
Média Geral	1.264,6	Erro Padrão da Média	10,3
Coefficiente de Variação (%)	1,8	Desvio Padrão	23,1

(1) Contagem da concentração dos entomopatógenos presentes na calda que não passou pelo circuito hidráulico do pulverizador.

(2) Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste t, ao nível de 5% de probabilidade.

Por outro lado, os resultados obtidos não confirmaram as conclusões de Poinar (1986) e Georgis (1990), de que os nematóides podem ser aplicados com pontas com aberturas maiores que 0,05 mm. Também não se comprovou os dados obtidos por Klein & Georgis (1994), que pulverizando *H. bacteriophora* e *Steinernema* sp. com a ponta de pulverização XR8001 (malha 100), não detectaram influência significativa na viabilidade e concentração de tais entomopatógenos.

Os juvenis infectantes com comprimento médio de 0,52 (*H. indica*) e 1,05 mm (*Steinernema* sp.) são 42 e 71% maiores que a abertura do filtro de malha 50, conforme relatos da BCPC (1991). Então, a não significância na concentração e viabilidade pode ser atribuída ao formato cilíndrico e/ou maleabilidade do corpo (KAYA & STOCK, 1997). Características estas que não foram suficientes para possibilitar a passagem por apenas um elemento filtrante no circuito hidráulico do pulverizador, cuja malha corresponde a 100 aberturas por polegada, sem que houvesse redução significativa na concentração dos entomopatógenos de maneira a poder comprometer a sua eficácia como agente de controle biológico (Figura 7). Como o objetivo do experimento foi avaliar diversas tecnologias de aplicação no emprego de

nematóides entomopatogênicos, a diferença significativa entre os tratamentos confirmou a necessidade de se estudar esta variável no processo.

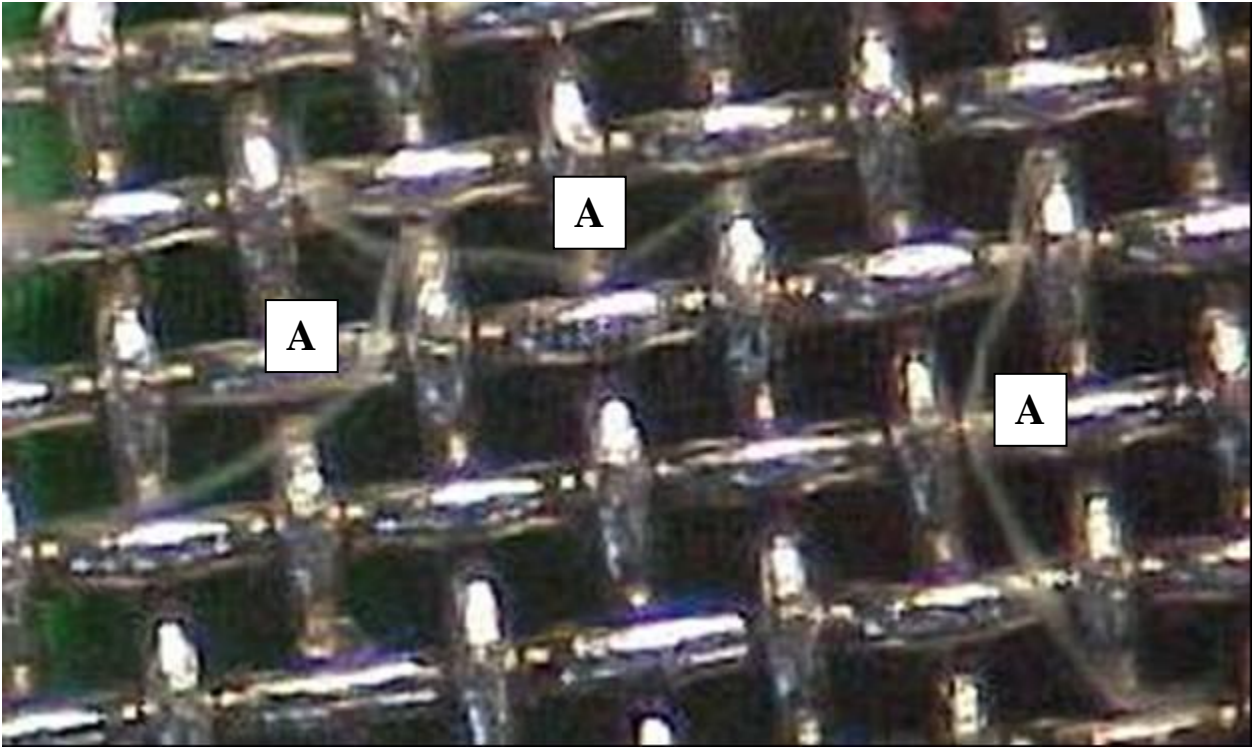


Figura 7. Juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. (A), retidos na malha 100 de um filtro de bico de pulverização, em microscópio estereoscópio (40x).

Para ambos os nematóides a viabilidade de juvenis infectantes foi significativamente menor quando se utilizou a ponta AI 110015-VS (Tabelas 8 e 9). Os demais tratamentos não diferiram entre si.

Ao se avaliar a concentração e viabilidade observa-se que a malha com 100 aberturas por polegada proporcionaram resultados significativamente menores. Portanto, a discussão sobre viabilidade é idêntica à descrita no experimento envolvendo concentração. Da mesma forma, os resultados alcançados confirmam as afirmações de Nilson & Gripwall (1999), Shetlar (1999) e Garcia et al. (2005); não explicam as indagações feitas por Sarro et al. (2003) e contrariam as conclusões de Poinar (1986), Georgis (1990) e Klein & Georgis (1994).

Conseqüentemente, pode-se pressupor que ao se pulverizar *H. indica* e *Steinernema* sp. mais importante do que a ponta é o tamanho da malha dos elementos filtrantes contidos no circuito hidráulico de um pulverizador requerido pela referida ponta. Pois, a forma do filtro e o diâmetro das aberturas da malha 100 agem como retentores e causadores de danos aos

corpos cilíndricos dos nematóides. Fator este de difícil atribuição aos orifícios das pontas devido ao formato destas e da maleabilidade do corpo cilíndrico dos nematóides, conforme BCPC (1991) e Kaya & Stock (1997).

Tabela 8. Viabilidade de juvenis infectantes de *Heterorhabditis indica*, determinada na placa de Petri, em microscópio estereoscópio (40x), após 10 minutos da passagem da calda por diferentes pontas e filtros de pulverização.

Tratamentos	Malha do filtro	Pulverizador	Pressão	Viabilidade (%)
Testemunha 1 ⁽¹⁾	-	-	-	93,6 a ⁽³⁾
AI 110015VS	100 (bico)	PJH [®]	200 kPa	90,2 b
AI 11003VS	50 (bico)	PJH [®]	200 kPa	93,2 a
D3 - DC25	25(bico)	PJH [®]	200 kPa	92,4 a
D8 - DC45	25 (bico)	PJH [®]	200 kPa	92,6 a
Centrífuga	25 (tanque)	Micro Plex [®]	-	92,8 a
Testemunha 2 ⁽²⁾	-	-	-	93,2 a
Média Geral	92,6	Erro Padrão da Média		0,4
Coeficiente de Variação (%)	1,1	Desvio Padrão		1,0

(1) Coleta da calda que não passou pelo circuito hidráulico.

(2) Recontagem de juvenis infectantes viáveis da calda que não passou pelo circuito hidráulico do pulverizador, ao final de 190 minutos, objetivando identificar possível queda na viabilidade durante o período de avaliação.

(3) Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste t, ao nível de 5% de probabilidade.

6.3 Pulverização do *Steinernema* sp. nas plantas de milho em ambiente controlado

Não foi possível a aplicação do teste F e da regressão polinomial devido à falta de variância entre os resultados obtidos dos tratamentos (Tabela 10). A testemunha 1 confirmou a capacidade do nematóide de matar 100% dos insetos em placa de Petri. A testemunha 2 denotou a sanidade das lagartas de *S. frugiperda*, não sendo este fator passível de influência no experimento. A testemunha 3 ratificou a afirmação de que o diluente não afetou a fisiologia das lagartas. Apesar de não se poder aplicar os testes estatísticos pode-se afirmar que não houve controle das lagartas pela ação dos entomopatógenos pulverizados nas plantas de milho.

Tabela 9. Viabilidade de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., determinada na placa de Petri, em microscópio estereoscópio (40x), após 10 minutos da passagem da calda por diferentes pontas de pulverização.

Tratamentos	malha do filtro	pulverizador	Pressão	Viabilidade (%)
Calda			-	81,0 a ⁽²⁾
AI110015VS	100 (bico)	PJH [®]	200 kPa	74,6 b
AI11003VS	50 (bico)	PJH [®]	200 kPa	78,6 a
D3 - DC25	25(bico)	PJH [®]	200 kPa	79,0 a
D8 - DC45	25 (bico)	PJH [®]	200 kPa	79,8 a
Centrífuga	25 (tanque)	Micro Plex [®]	-	81,6 a
Testemunha ⁽¹⁾			-	81,4 a
Média Geral	79,3		Erro Padrão da Média	0,9
Coeficiente de Variação (%)	2,4		Desvio Padrão	1,9

(1) Recontagem de juvenis infectantes viáveis da calda que não passou pelo circuito hidráulico do pulverizador, ao final de 190 minutos, objetivando identificar possível queda na viabilidade durante o período de avaliação.

(2) Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste t, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 10. Controle de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho, pela aplicação de diferentes dosagens de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., em diversos períodos de tempo (calda de 800 L.ha⁻¹, ponta AVI 11002, pressão de 200 kPa e deslocamento da barra a 0,98 km.h⁻¹).

Dosagens de juvenis infectantes viáveis por planta	Controle (%)		
	após 48 h	após 96 h	após 144 h
Testemunha 1 ⁽¹⁾	86 ⁽⁴⁾	86	100
Testemunha 2 ⁽²⁾	zero	zero	zero
Testemunha 3 ⁽³⁾	zero	zero	zero
300	zero	zero	zero
400	zero	zero	zero
500	zero	zero	zero
600	zero	14	14

(1) 300 juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. aplicados em placa de Petri com lagarta.

(2) Lagartas alojadas no “cartucho” da planta de milho sem aplicação de calda.

(3) Lagartas alojadas no “cartucho” da planta de milho com aplicação de 800 L.ha⁻¹ de água.

(4) Não se aplicou os testes estatísticos devido à falta de variância entre os resultados dos tratamentos.

Sarro et al. (2003) não conseguiram recuperação significativa de nematóides pulverizados nas folhas centrais da planta de milho, o que indicaria a falta de controle das lagartas de *S frugiperda*; terceiro ínstar, fato também ocorrido neste experimento.

A ineficácia do controle pode ser atribuída aos seguintes fatores: a) dosagem insuficiente para morte das lagartas em plantas de milho, mesmo seguindo as orientações de Silva et al. (2003); b) tamanho da gota (TEEJET, 2003) insuficiente para conduzir os juvenis infectantes para a planta e distribuí-los sobre as folhas de forma a facilitar a infecção; c) as características das folhas do milho que apresenta nervura central em forma de canaleta e ângulo de inserção das folhas no colmo em até 30° (FANCELLI & DOURADO NETO, 2000), dificultando a formação da película de água necessária para movimentação direcional dos juvenis infectantes às lagartas, conforme alerta Croll (1970); e d) comportamento da lagarta na planta de milho, que dificultem a infecção dos nematóides entomopatogênicos.

A aplicação de volumes de calda além de 800 L.ha^{-1} , com pulverizadores de barra, estão bem acima dos volumes utilizados no controle químico desse inseto (SILVA, 1999); podendo inviabilizar economicamente o controle biológico em estudo. O excesso de água ainda pode formar uma película de água espessa, de tal forma que prejudique a movimentação dos nematóides em direção às lagartas (CROLL, 1970).

6.4 Compatibilidade entre o *Steinernema* sp. e tensoativos

Com base nos resultados (Tabela 11), pode-se afirmar que a viabilidade dos juvenis infectantes de *Steinernema* sp. não foi afetada pela adição dos tensoativos Break-Thru[®] (copolímero poliéter-polimetil siloxano 750 g.L^{-1} e poliéter 750 g.L^{-1}), Extravon[®] (alquilfenol-poliglicoléter 250 g.L^{-1}) e Iharaguen-S[®] (polioxietileno alquilfenol éter 200 g.L^{-1}) à calda.

A compatibilidade dos juvenis infectantes de *Steinernema* sp. com diversos produtos foi estudada por Rovesti & Deseö (1990), Cintra et al. (2003), Almeida et al. (2004) e Barbosa et al. (2004). Porém, nenhum dos autores pesquisou a influência dos tensoativos na viabilidade dos entomopatógenos.

Tabela 11. Viabilidade de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., determinada na placa de Petri, em microscópio estereoscópio (40x), após 24 horas da adição de tensoativos na calda.

Tensoativos	Viabilidade (%)
testemunha ⁽¹⁾	96,5 ⁽²⁾
Break-Thru [®]	94,6
Extravon [®]	95,6
Iharaguen-S [®]	93,7
Média Geral	95,1
Coeficiente de Variação (%)	1,4
Desvio Padrão	1,3

(1) Calda sem adição de tensoativo.

(2) NS – não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

6.5 Pulverização do *Steinernema* sp., com tensoativo, na planta de milho em ambiente controlado

Mesmo com dosagens oito vezes superiores da indicada pelo autor o controle da lagarta foi nulo neste experimento (Tabela 12).

Segundo Silva et al. (2003) para se obter, em 72 horas, um controle de 100% da lagarta de *S frugiperda*, terceiro ínstar, há necessidade de se distribuir pelo menos 01 juvenil infectante.cm⁻² ou 600 juvenis infectantes por planta. Ao se elevar ainda mais a dosagem pode-se inviabilizar economicamente a utilização do *Steinernema* sp.

O volume de calda de 800 L.ha⁻¹ com adição do tensoativo Iharaguen-S[®] com 0,01 % não foi suficiente para fornecer as condições para que o entomopatógeno infectasse as lagartas.

Tabela 12. Controle de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho, pela aplicação de diferentes dosagens de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., em diversos períodos de tempo (calda de 800 L.ha⁻¹ com 0,01 % de Iharaguen-S[®], ponta AVI 11002, pressão de 200 kPa e deslocamento da barra a 0,98 km.h⁻¹).

Dosagens de juvenis infectantes viáveis por planta	Controle (%)		
	após 48 h	após 96 h	após 144 h
Testemunha 1 ⁽¹⁾	90 ⁽⁴⁾	95	95
Testemunha 2 ⁽²⁾	zero	zero	zero
Testemunha 3 ⁽³⁾	zero	zero	zero
600	zero	zero	zero
1.200	10	10	14
2.400	zero	zero	zero
4.800	zero	zero	10

(1) 600 juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. aplicados em placa de Petri com lagarta.

(2) Lagartas alojadas no “cartucho” da planta de milho sem aplicação de calda.

(3) Lagartas alojadas no “cartucho” da planta de milho com aplicação de 800 L.ha⁻¹ de água com 0,01 % de Iharaguen-S[®].

(4) Não se aplicou os testes estatísticos devido à falta de variância entre os resultados dos tratamentos.

6.6 Bioinsetigação do *Steinernema* sp. na planta de milho em ambiente controlado

Mesmo com alto volume de calda e dosagem dos nematóides não se conseguiu matar as lagartas na planta (Tabela 13).

Silva (1999) obteve os melhores resultados no controle químico da lagarta-do-cartucho, na cultura do milho, com volume de calda de 300 L.ha⁻¹. Já Simons & Poinar (1973) e Berg et al. (1987), indicam que a umidade é tão essencial para o movimento, persistência e infecção dos nematóides entomopatogênicos, que a literatura traz valores entre 935 a 2.800 L.ha⁻¹ de calda. Mesmo com volume de calda 21,7 vezes maior que o maior valor encontrado na literatura (KAYA, 1986; BERG et al., 1987) não se alcançou às condições necessárias para o controle das lagartas pelos juvenis infectantes do *Steinernema* sp.

As dosagens testadas foram 8 vezes superiores à recomendada por Silva et al. (2003) e podem inviabilizar economicamente o controle biológico em estudo pelo custo de produção dos entomopatógenos.

Tabela 13. Controle de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda*, alojadas nas folhas centrais ou “cartucho” da planta de milho, pela aplicação de diferentes dosagens de juvenis infectantes de *Steinernema* sp., determinada em diversos períodos de tempo (calda de 800 L.ha⁻¹ - ponta AVI 11002, pressão de 200 kPa e deslocamento da barra a 0,98 km.h⁻¹ - e lâmina de água de 6 mm - ponta TK-SS5 10, a 300 kPa e deslocamento da barra a 1,58 km.h⁻¹).

Dosagens de juvenis infectantes viáveis por planta	Controle (%)		
	após 48 h	após 96 h	após 144 h
Testemunha 1 ⁽¹⁾	95 ⁽⁴⁾	95	95
Testemunha 2 ⁽²⁾	zero	zero	zero
Testemunha 3 ⁽³⁾	zero	zero	zero
600	zero	zero	zero
1.200	zero	zero	zero
2.400	zero	zero	zero
4.800	zero	zero	zero

(1) 600 juvenis infectantes viáveis de *Steinernema* sp. aplicados em placa de Petri com lagarta.

(2) Lagartas alojadas no “cartucho” da planta de milho sem aplicação de calda.

(3) Lagartas alojadas no “cartucho” da planta de milho com aplicação de 800 L.ha⁻¹ de calda mais 6 mm de lâmina de água.

(4) Não se aplicou os testes estatísticos devido à falta de variância entre os resultados dos tratamentos.

Assim, a ineficácia do controle pode estar centrada no tamanho e massa da gota, distribuição dos nematóides no limbo foliar, no hábito do inseto na planta, nas características das folhas do milho e na formação da película de água (Figura 8), conforme já discutido no subcapítulo 6.3. Portanto, o emprego de juvenis infectantes de *Steinernema* sp. para o controle de lagartas de *S. frugiperda* demanda de mais estudos.



Figura 8. Folha de milho após a pulverização de 800 L.ha^{-1} (ponta AVI 11002, pressão de 200 kPa e deslocamento da barra a $0,98 \text{ km.h}^{-1}$) e lâmina de água de 6 mm (ponta TK-SS5 10, a 300 kPa e deslocamento da barra a $1,58 \text{ km.h}^{-1}$).

7 CONCLUSÕES

Para se alcançar 100% de mortalidade das lagartas em terceiro ínstar de *S. frugiperda* em laboratório são necessários 280 juvenis infectantes de *Steinernema* sp.

Equipamentos que forneçam carga elétrica à calda, pontas centrífugas e hidráulicas podem ser usados na pulverização de nematóides entomopatogênicos, sem que haja perda significativa na concentração e viabilidade desses organismos; exceto para pontas que requerem elementos filtrantes com malha igual a 100.

Os tensoativos Break-Thru[®], Extravon[®] e Iharaguen-S[®] não afetam a viabilidade dos entomopatógenos.

A pulverização em plantas de milho (V6) com até 288 milhões de juvenis infectantes de *Steinernema* sp. por hectare, em calda de até 800 L.ha⁻¹ com 0,01 % de tensoativo ou nesse volume seguido da aplicação de lâmina de água de 6 mm, não foram suficientes para o controle da *S. frugiperda*.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILLERA, M. M. Nematóides do bem. **Cultivar**, Pelotas, v. 25, p. 52-54, 2001.

ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. **Modern corn production**. 2. ed. Champaign: A & L Publication, 1982. 371 p.

ALMEIDA, S.G. **Crise socioambiental e conversão ecológica da agricultura brasileira**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 2001. p. 90-98.

ALMEIDA, A.M.B. et al. Compatibilidade de *Steinernema* sp. (Nematoda: Rhabdita) com produtos fitossanitários utilizados na cultura da banana. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20, 2004, Gramado. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 2004. p. 268.

ALVARENGA, C.D.; CRUZ, I.; VENDRAMIM, J.D. Controle integrado do pulgão-verde, *Schizaphis graminum* em sorgo. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988/1991**, Sete Lagoas, v.5, p. 80, 1992.

ALVES, S.B., PEREIRA, R.M., ALMEIDA, J.E.M., LARANJEIRO, A.J. Equipamentos para aplicação de inseticidas microbianos. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 269-87.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo: Andrei, 1999. 672 p.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.

BARBOSA, C.R.C. et al. Compatibilidade de extratos de plantas inseticidas com nematóides entomopatogênicos (Rhabdita: Heterorhabditidae, Steinernematidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20, 2004, Gramado. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 2004. p. 283.

BAUR, M. E., H. K. KAYA, and G. S. THURSTON. Factors affecting entomopathogenic nematode infection of *Plutella xylostella* on a leaf surface. **Entomology Experimental Applied**, Amsterdam, v.77, p. 239- 250, 1995.

BEDDING, R. A. Low cost in vitro mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. **Nematologica**, Leiden (The Netherlands), v. 27, p. 109-114, 1981.

BERG, G. N.; WILLIAN, P.; BEDDING, R. A.; and AKHURST, R. J. A commercial method of application of entomopathogenic nematodes to pasture for controlling subterranean insect pests. **Plant Protection**, Florida, v.4, n.2, p. 174 – 178, 1987.

BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL. **Boom sprayers handbook**. Brighton: British Crop Protection, 1991. 60 p.

CHAIM, A.; CONCEIÇÃO, M.P.Y.P.; FERRACINI, V.L. Eficiência de deposição de agrotóxicos obtida com bocal eletrostático para pulverizador costal motorizado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.4, p. 497-501, 2002.

CINTRA, E.R.R. et al. Compatibilidade de *Heterorhabditis* sp. com *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisoplia*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8, 2003, São Pedro. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 2003. p. 283.

COFFEE, R. A. Electrodynamics energy – a new approach to pesticide application. In: BRITISH CROP PROTECTION CONFERENCE, 1979, Brighton. **Proceedings...** Brighton: British Crop Protection Council, 1979. p. 777-789.

CROLL, N. A. **The behavior of nematodes; their activity, senses and responses**. London: Edward Arnold, 1970. 117p.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 45 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 21).

CRUZ, I. et al. **Manual de identificação de pragas da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 67 p.

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. **Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1999. 39 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 31).

CRUZ, I. **Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 15 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 21).

DIEZ-RODRIGUES, G. I. **Herança e custo do valor adaptativo da resistência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) ao piretróide lambdacialotrina.** 2000. 59 f. Dissertação – Universidade São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

EMBRAPA. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho.** 2. ed. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. 204 p.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. Ecofisiologia e fenologia. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho.** Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 21-54.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, B. S. **Controle microbiano de insetos.** 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 541-70.

FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.11, p. 1975-1982, 1999.

GALLO, D., et al. **Entomologia agrícola.** Piracicaba: FEALQ, 2002. p. 474-84.

GARCIA, LC; RAMOS, H. H. Tecnologia com eficácia. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, ano VI, n.66, p. 3-10 (Caderno Técnico), 2004.

GARCIA, L. C., et al. Pressurização da calda de pulverização na viabilidade de microrganismos entomopatogênicos. **Revista Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 783-790, 2005.

GENO. **Manual de instruções.** Agudos: Apoiotec, 2004. 2 p.

GEORGIS, R. Formulation and application technology. In GAUGLER, R. **Entomopathogenic Nematodes in biological control**. Boston: CRC Press, 1990. p. 173-191.

GAUGLER, R., A. BEDNAREK, and J. F. CAMPBELL. Ultraviolet inactivation of heterorhabditid and steinernematid nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.59, p. 155-160, 1992.

GLAZER, I. Survival and efficacy of *Steinernema carpocapsae* in an exposed environment. **Biocontrol Science and Technology**, London, v.2, p. 101-107, 1992..

HOY, M. A. Multitactic resistance management: an approach that is long overdue. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.78, p. 443-451, 1995.

IBGE. **Comunicação Social**. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=395&id_pagina=1>. Acesso em: 03 de out. 2005.

JACTO. **Catálogo de produtos**. 2. ed. Pompéia: Jacto, 2001. 24 p.

KAYA, H. K., *Steinernema feltiae*: use against foliage feeding insects and effect on non-target insects. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 4, 1986, Wageningen. **Summary...** Montpellier: Society for Invertebrate Pathology, 1986. p. 268.

KAYA, H. K.; STOCK, P. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L. **Manual of Techniques in Insect Pathology**. San Diego: Academic Press, 1997. p. 281-324.

KLEIN, M. G.; GEORGIS, R. Application techniques for entomopathogenic nematodes. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 6, 1994, Montpellier. **Summary...** Montpellier: Society for Invertebrate Pathology, 1994. p. 483-484.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer, 1988. p. 35-50.

LEIBEE, G. L.; CAPINERA, J. L. Pesticide resistance in Florida insects limits management options. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.78, p. 386-399, 1995.

MACHADO, L. A.; LEITE, L. G.; GOULART, R. M.; AGUILLERA, M. M.; HIDALGO, G. G. Patogenicidade de *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida) à lagarta-do-cartucho do milho (Lepidoptera: Noctuidae). CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 19., 2002, Salvador. **Anais...** Manaus: SEB, INPA, 2002. p. 80.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M.; PAIVA, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 27 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 20).

MATTHEWS, G.A. **Pesticide application in plasticulture**. London: Pesticide Outlook, 1997. p. 16-20.

MATTHEWS, G.A. **Application of pesticides to crops**. London: Imperial College Press, 2000. 432 p.

MATUO, T. Enfoque multidisciplinar da tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, 1, 1987, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1987. p. 3-11.

MATUO, T. **Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas**. Jaboticabal: FUNEP, 1990, 139 p.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J.G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja, PR. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa de soja 1984/1985**. Londrina, 1985. p. 128. (Embrapa-CNPSO. Documentos, 15).

MOSCARDI, F. **Situação atual e perspectivas de uso de entomopatógenos (vírus, fungos e bactérias)**. Disponível em: <<http://www.ferobio.ufv.br/relatorio/situaent.htm>>. Acesso em: 12 de abr. 2004.

NALIN, D.N. **Biologia, nutrição quantitativa e controle de população de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) – (Lepdoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais**. 1991. 150f. Tese (Doutorado em agronomia / Entomologia) – Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

NILSON, U.; GRIPWALL, E. Influence of application technique on the viability of the biological control agents *Verticillium lecanii* and *Steinernema feltiae*. **Crop Protection**, Willoughby, v.18, p. 53-59, 1999.

PAPA, G. Manejo integrado de pragas. In: ZAMBOLIM, L.; CONCEIÇÃO, M.Z.; SANTIAGO T. **O que engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. Viçosa: UFV, 2003. p. 203-233.

PEIXOTO, C. M. O milho: O Rei dos cereais - Da sua descoberta há 8.000 anos até as plantas transgênicas. **Seednews**, Pelotas, n. 62, p. 82-85, 2002.

POINAR, G. O., Jr. Entomophagous nematodes. In: FRANS, J. M. (Ed). **Biological plants and health protection**. Stuttgart: Frischler Verlag, 1986. p. 95.

POINAR, G. O.; G. K. KARUNAKAR; H. DAVID. *Heterorhabditis indicus* n. sp. (Rhabditida: Nematoda) from India: separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles. **Fundamental and Applied Nematology**, Leiden, n.15, p. 467-472, 1992.

RAMOS, H.H. Tecnologia de aplicação de agrotóxicos. **Fitopatologia brasileira**, Fortaleza, v. 25 (suplemento), n. 217-474, p. 275-89, 2000.

REIS, L.L.; OLIVEIRA, L.J.; CRUZ, I. Biologia e potencial de *Doru luteipes* no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p. 333-342, 1988.

ROVESTI, L.; DESEÖ, K.V. Compatibility of chemical pesticides with the entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Weiser and *S. feltiae* Filipjev (Nematoda: Steinernematidae). **Nematologica**, Leiden, n.36, p. 237-245, 1990.

SARRO, F. B.; SILVA, R. F.; LABINAS, A. M.; ROSA, J. M. O.; FUKAZAWA, S. R. S.; WILCKEN, S. R. S.; CROCOMO, W. B. Recuperação de *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) do cartucho-do-milho após aplicação. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8, 2003, São Pedro. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 2003. p. 99.

SHETLAR, D. J. Application methods in different cropping systems. In: OPTIMAL USE OF INSECTICIDAL NEMATODES IN PEST MANAGEMENT, 1999, New Jersey. **Proceedings...** New Jersey: Saint Polavarapu, 1999. p. 31-36.

SILVA, M. T. B. Fatores que afetam a eficiência de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* Smith em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p. 383-387, 1999.

SILVA, R. F.; SARRO, F. B.; LABINAS, A. M.; ROSA, J. M. O.; FUKAZAWA, S. R. S.; WILCKEN, S. R. S.; CROCOMO, W. B. Mortalidade de *Spodoptera frugiperda* infectadas por *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae) In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8, 2003, São Pedro. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 2003. p. 101.

- SIMONS, W. R., and POINAR, G. O., Jr. The ability of *Neoplectana carpocapsae* (Steinernematidae: Nematodea) to survive extended periods of desiccation. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, n.22, p. 228, 1973.
- SUMMER, H.R., BADER, M., MULLINIX, B.G. Chemical Application Equipment for Improved Deposition in Cotton. **The Journal of Cotton Science**, Georgia, n.4, p. 19-27, 2000.
- TABASHNIK, B. E.; ROUSH, R. T. Introduction. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p. 1-3.
- TEEJET. **Guia do comprador 202-BR/P**. Wheaton: Spraying Systems Co, 2003. 37 p.
- VAINIO, A. Guideline for laboratory testing of the side-effects of pesticides on entomophagous nematodes *Steinernema* spp. **IOC/WPRS**, Southampton, Bulletin n.15, v.3, p. 145-147. 1992.
- VALICENTE, F.H. Bioinvestigação. In: COSTA, E.F. et al. **Quimigação: aplicação de produtos químicos e biológicos via irrigação**. Brasília: EMBRAPA, CNPMS, 1994. p. 269-280.
- VALICENTE, F.H.; COSTA, E.F. Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com *Baculovirus spodoptera* via água de irrigação. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Brasil, v. 24, n. 1, p. 61-67, 1995.
- Van DRIESCH, R.G.; BELLOWS Jr, S. **Biological control**. New York: Chapman & Hall, 1996, 539 p.
- VIANA, P.A; POTENZA, M.R. Avaliação de antibiose e não-preferência em cultivares de milho selecionados com resistência à lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v.59, n.1, p. 27-33, 2000.

WOOD, K. A.; WILSON, B. H.; GRAVES, J. B. 1981. Influence of host plant on the susceptibility of the fall armyworm to insecticides. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.74, p. 96-98, 1981.

YOUNG, J. R.; McMILLIAN, W. W. Differential feeding by two strains of fall armyworm larvae on carbaryl treated surfaces. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.72, p. 202-203, 1979.

YU, S. J. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.86, p. 680-683, 1992.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N. Inheritance of carbaryl resistance and microsomal oxidases in the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.87, p. 301-304, 1994.