

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Efeito de inseticidas na qualidade da cana-de-açúcar e
microbiota da fermentação etanólica sob infestação de
*Sphenophorus levis***

Bruno de Moraes Nunes

Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2012

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Efeito de inseticidas na qualidade da cana-de-açúcar e
microbiota da fermentação etanólica sob infestação de
*Sphenophorus levis***

Bruno de Moraes Nunes

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton.

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia (Microbiologia Agropecuária).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2012

Nunes, Bruno de Moraes
N972 Efeito de inseticidas na qualidade da cana-de-açúcar e
e microbiota da fermentação etanólica sob infestação de
Sphenophorus levis / Bruno de Moraes Nunes. --
Jaboticabal, 2012
iii, 41 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
2012

Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton
Banca examinadora: Leonardo Lucas Madaleno, Odair
Aparecido Fernandes
Bibliografia

1. Bicudo-da-cana. 2. Matéria-prima. 3. Contaminantes
na fermentação. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 663.52:633.61

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BRUNO DE MORAES NUNES – nasceu 01 de junho de 1982, em Ituiutaba - Minas Gerais. Em março de 2005, ingressou no curso de Agronomia, na Universidade do Estado de Minas Gerais, campus fundacional de Ituiutaba. Durante a faculdade, foi bolsista FAPEMIG por dois anos, na ocasião em que realizou o projeto de levantamento de fungos nematófagos em Ituiutaba – MG. Estagiou em laboratórios de pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) e Universidade Estadual Paulista (UNESP). Em fevereiro de 2010 formou-se Engenheiro Agrônomo e em março do mesmo ano, iniciou o curso de mestrado no programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (UNESP). Atualmente é professor das disciplinas Fitopatologia (prática) e Produção e Tecnologia de Sementes da Universidade do Estado de Minas Gerais, campus fundacional de Ituiutaba.

Todos os caminhos são iguais. Um que leva a glória e outro a perdição. Há tantos caminhos tantas portas. Mas somente um tem coração.

Raul Seixas

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer imensamente a Deus por iluminar meu caminho durante o curso de mestrado.

Aos meus pais Milton Nunes de Souza e Lázara Maria Alves Moraes de Souza pela vida e pela oportunidade de estudar e sempre me apoiarem neste propósito.

A professora Dra. Márcia Justino Rossini Mutton pela paciência, ensinamentos nas aulas, pela confiança e oportunidade de me orientar na realização desta pesquisa.

Ao professor Dr. Ely Nahas pelo seu exemplo profissional e ensinamentos na disciplina de fisiologia de micro-organismos.

A professora Dra. Margarete Camargo pelas ótimas aulas práticas da disciplina de fitopatologia geral.

Ao professor Dr. Miguel A. Mutton pelo companheirismo e suporte durante a condução de diversos experimentos.

Aos professores Dr. Leonardo Lucas Madaleno e Dr. Odair A. Fernandes pela participação na banca examinadora da dissertação de mestrado e as relevantes considerações feitas.

Ao técnico do laboratório de tecnologia do açúcar e do álcool Sérgio Luís Nobukuni pela paciência, atenção e imensa ajuda nas análises laboratoriais, e acima de tudo pela amizade.

Ao técnico do laboratório de microbiologia de solo Luiz Carlos de Assis pelos ensinamentos e pela paciência que teve comigo.

Aos colegas de pós-graduação Gustavo Costa, Nayara Abrão (Nay), Osânia Ferreira, Juliana Roviero, Igor Masson, Lidyane Freita, Rita e Fernanda Ferrari, pelo companheirismo e aprendizado, durante o curso de mestrado.

Ao meu amigo, engenheiro agrônomo Alysson Luís Gobbi pelos ensinamentos e o grande companheirismo.

Aos estagiários do laboratório de tecnologia do açúcar e do álcool Larissa Jocalelli (Loló), Lisa, Priscila Barbosa, Rodolfo Felipe (Rudolf Diesel), Matheus L. Cacia (Mathew's), Bruna A. Santos e em especial a Juliana Costa (Jú), pela ajuda na condução dos experimentos, companheirismo, aprendizado, amizade e os melhores momentos passados dentro e fora do laboratório.

Aos funcionários do departamento de Tecnologia Bete, Renata, Andréia, Wladimir, José Carlos e ao Osmar da Produção Vegetal, pela atenção e auxílio que me foi dado.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP, e ao Programa de Microbiologia Agropecuária pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida para a realização desta pesquisa.

Ao pessoal da Usina São Carlos – Grupo Louys Dreyfus Commodities por ceder a área experimental, recursos técnicos e humano, indispensáveis para a realização desta pesquisa. Em especial ao Diego (Dieguinho) e a equipe do Dautro.

SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	ii
Summary.....	iii
I INTRODUÇÃO.....	1
II REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Bicudo da cana-de-açúcar (<i>Sphenophorus levis</i>).....	3
2.2 Efeito de inseticidas na cana-de-açúcar.....	4
2.3 O processo fermentativo.....	6
2.4 Fatores que afetam a fermentação.....	6
III MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Ensaio de campo, delineamento experimental e tratamentos.....	10
3.2 Levantamento de <i>S. levis</i>	10
3.3 Colheita dos colmos.....	11
3.4 Análises convencionais, não-convencionais e microbiológicas.....	11
3.5 Fermentações em laboratório.....	12
3.6 Análises microbiológicas e do glicerol nos vinhos.....	13
3.7 Determinação de nutrientes.....	13
3.8 Análises estatísticas.....	13
IV RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4.1 Controle de <i>S. levis</i>	14
4.2 Análises convencionais, não convencionais e de nutrientes... ..	15
4.3 Micro-organismos nos mostos e na fermentação etanólica	22
4.4 Acidez, pH, Brix e glicerol no processo fermentativo.....	28
V CONCLUSÕES.....	30
VI REFERÊNCIAS.....	31

**EFEITO DE INSETICIDAS NA QUALIDADE DA CANA-DE-AÇÚCAR E
MICROBIOTA DA FERMENTAÇÃO ETANÓLICA SOB INFESTAÇÃO DE
*Sphenophorus levis***

RESUMO - As medidas de controle utilizadas no controle de *Sphenophorus levis* ainda são consideradas insuficientes e alguns dos inseticidas utilizados tem demonstrado efeito fisiológico na cana. Os objetivos desta pesquisa foram avaliar em condições de campo, a eficiência de inseticidas (imidaclopride, etiprole, α -cipermetrina, tiametoxam+ λ -cialotrina e mistura dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*+*Metarhizium anisopliae*) no controle de adultos do *S. levis* e os efeitos dos inseticidas sobre a qualidade da matéria-prima sadia, analisando-se parâmetros convencionais (Brix, Pureza, Pol, ART, AR, ATR e Fibra) e não-convencionais (acidez total e volátil, compostos fenólicos e nutrientes) e a microbiota presente durante a fermentação etanólica. Não foi observada eficiência dos inseticidas no controle de adultos de *Sphenophorus levis*. O inseticida tiametoxam+ λ -cialotrina provocou atraso na maturação da cana-de-açúcar, indicada através dos resultados obtidos para os parâmetros convencionais (Pol, Pureza, ART, AR e ATR), não-convencionais (acidez total e teores de nutrientes), e microbiológicos (número de micro-organismos totais, fungos e leveduras no mosto). Os micro-organismos contaminantes não afetaram as leveduras durante a fermentação etanólica. A aplicação do inseticida etiprole na cana-de-açúcar resultou em melhor qualidade da matéria-prima e menor impacto sobre a viabilidade dos brotos durante a fermentação etanólica.

Palavras-chave: bicudo-da-cana, matéria-prima, contaminantes da fermentação.

**EFFECT OF INSECTICIDES ON SUGARCANE QUALITY AND
MICROORGANISMS OF ETHANOLIC FERMENTATION UNDER
Sphenophorus levis ATTACK**

SUMMARY - The control measures used to *Sphenophorus levis* are not still enough and moreover, some of the insecticides have demonstrated physiological effect on sugarcane. The objectives of this research were evaluate the insecticides effect (imidacloprid, ethiprole, α -cypermethrin and thiamethoxam+ λ -cyhalothrin and mixing of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* + *Metarhizium anisopliae*) on *S. levis* adults under field conditions and the insecticides effects upon sugarcane quality, analyzing conventional parameters (Brix, Purity, Pol, ART, AR, ATR and fiber) and non-conventional (total and volatile acidity, phenolic compounds and nutrients), and microbiota during ethanolic fermentation. The insecticides were not efficient to control adults of *Sphenophorus levis*. The insecticide thiamethoxam + λ -cyhalothrin caused delay in sugarcane crop maturity, as shown by the results obtained for the conventional parameters (Pol, Purity, ART, AR and ATR), non-conventional (and total acidity levels nutrients) and microbiological (number of total microorganisms, fungi and yeast in wort). The microbial contaminants found in sugarcane juice did not interfere upon the yeast dynamic during ethanolic fermentation. The sugarcane treated with insecticide etiprole showed higher results for the quality parameters and reduced negative impacts on yeast bud viability present during ethanolic fermentation.

Keywords: sugarcane weevil, raw material, microbial contaminants.

I INTRODUÇÃO

Em áreas infestadas pelo bicudo-da-cana *Sphenophorus levis* (VAURIE, 1978) ocorrem perdas de 50 a 60% dos perfilhos, resultando em prejuízos médios de 20 a 23 t cana ha⁻¹ ano (ALMEIDA et al., 2011). Esta praga teve a ocorrência confirmada em 126 municípios do Estado de São Paulo e devido ao rápido aumento de suas populações nas áreas infestadas, considera-se que as medidas de controle utilizadas até agora sejam insuficientes (ARRIGONI, 2012).

Em pesquisas realizadas nos últimos anos, DINARDO-MIRANDA & FRACASSO (2010) utilizaram inseticidas químicos e LEITE et al. (2012) químicos+biológicos no controle de *S. levis*.

A eficiência dos inseticidas tiametoxam, fipronil, imidaclopride e misturas com nematóides entomopatogênicos na mortalidade de larvas e adultos de *S. levis*. foi confirmada por TAVARES et al. (2009), em condições de laboratório.

DINARDO-MIRANDA & FRACASSO (2010) conduzindo estudos em área infestada por *S. levis*, verificaram que a aplicação de imidaclopride, fipronil e tiametoxam, no plantio da cana-de-açúcar, incrementavam a produtividade da cultura sem reduzir significativamente a praga.

Posteriormente LEITE et al. (2012) observaram que a aplicação dos inseticidas tiametoxam, fipronil, imidaclopride e misturas com nematóides entomopatogênicos, na cana-de-açúcar, resultou em menor número de plantas danificadas por *S. levis*, e gerou incrementos de produção, mas não relataram sobre a redução das populações do inseto.

Inseticidas são estudados quanto a sua eficiência no controle de pragas, mas podem provocar efeitos fisiológicos capazes de influenciar o desenvolvimento de culturas e que não têm sido devidamente avaliados por serem pouco conhecidos (PEREIRA, 2010). Alguns inseticidas são capazes de provocar alterações fisiológicas e morfológicas nas plantas (CASTRO, 2006).

O tiametoxam vem proporcionando aumento de produção da cana-de-açúcar não só pela diminuição dos danos causados por insetos, mas também, pelo efeito fisiológico

nas plantas, como observado por Soares (2006), PEREIRA et al. (2010a), PEREIRA et al. (2010b), PEREIRA (2010) e LEITE et al. (2012).

MADALENO (2006) observou aumento da acidez total (parâmetro de qualidade) da cana nas parcelas tratadas tardiamente com tiametoxam, indicando que o inseticida pode ter alterado o pico de maturação e prolongado a fase de crescimento da cana, favorecendo a qualidade da matéria-prima.

Existem poucos estudos na literatura que contemplam o efeito fisiológico de tiametoxam e outros inseticidas sobre a qualidade da matéria-prima.

SILVA (2003) considera que a qualidade da matéria-prima, é um fator de extrema importância, visto que o processamento de material de baixa qualidade, afeta, por exemplo, o desempenho das leveduras durante a fermentação etanólica, levando a diminuição no teor alcoólico dos vinhos (RAVANELI, 2010).

Na presente pesquisa a aplicação dos inseticidas foi realizada em meados de fevereiro, em canavial de 8,5 meses de idade, infestado por adultos *S. levis* e cigarrinha-das-raízes. Através de uma única aplicação, após o levantamento da população de adultos por meio de iscas, avaliou-se o controle de adultos a fim de evitar novas re-infestações da praga e ao mesmo tempo, da cigarrinha-das-raízes, já que o pico populacional deste inseto coincide com o de adultos de *S. levis*.

Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar em condições de campo, a eficiência de inseticidas (imidaclopride, etiprole, α -cipermetrina, tiametoxam+ λ -cialotrina e mistura dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*+*Metarhizium anisopliae*) no controle de adultos do *S. levis* e os efeitos dos inseticidas sobre a qualidade da matéria-prima sadia, analisando-se parâmetros convencionais (Brix, Pureza, Pol, ART, AR, ATR e Fibra) e não-convencionais (acidez total e volátil, compostos fenólicos e nutrientes) e a microbiota presente durante a fermentação etanólica.

II REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bicudo da cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*)

O bicudo da cana-de-açúcar é um besouro pertencente à família Curculionidae e foi encontrado pela primeira vez na região de Piracicaba-SP em 1977 e descrito por Vaurie em 1978 (DEGASPARI et al., 1987). Sua ocorrência era restrita a essa região até a década de 90, mas já é encontrado em outros locais, como Minas Gerais, Paraná e Mato Grosso do Sul (ALMEIDA et al., 2011). A disseminação desse besouro pode ter ocorrido pelo transporte de mudas, visto que o inseto voa pouco, apresentando baixa capacidade de dispersão (DEGASPARI et al., 1987).

Os adultos de *S. levis* apresentam coloração castanho-escuro com manchas pretas no dorso, listras longitudinais nos élitros e, geralmente, são encontrados abaixo do nível do solo (DEGASPARI et al., 1987). Alcançam entre 9 e 12 mm de comprimento, sendo que a fêmea é maior e apresenta, em condições de laboratório, maior longevidade que o macho (PRECETTI & ARRIGONI, 1990).

As larvas são ápodas e apresentam coloração branca e por serem muito sensíveis ao calor e a desidratação, possuem hábitos subterrâneos. O período médio de desenvolvimento dura cerca de 50 dias (ALMEIDA et al., 2011).

As fêmeas perfuram a base do colmo e dos perfilhos, abaixo do nível do solo, onde realizam a deposição dos ovos, dando origem às larvas 7 a 12 dias após a postura, que escavam galerias no interior dos colmos deixando-os cheios de serragem fina. Em consequência do ataque, ocorre amarelecimento das folhas e morte dos perfilhos, resultando muitas vezes, em falha na rebrota das touceiras, onde é possível observar o aparecimento de plantas invasoras (DINARDO-MIRANDA, 2005).

Em experimentos conduzidos em telados, sobre quatro níveis populacionais de *S. levis*, ARRIGONI (2000) determinou perdas de 0,55% a 2,08% na produção agrícola, de 0,08% a 0,33% na TPH e de 1,63% a 13,34% na margem de contribuição no sistema agroindustrial a cada 1% de colmos infestados pela praga.

Na cana-de-açúcar ocorrem dois picos populacionais da praga na forma adulta: o primeiro no período de fevereiro a março e o segundo nos meses de outubro e novembro. PEREZ (2009) em ensaio compreendido nos meses de outubro a novembro, empregou iscas tóxicas para avaliar a mortalidade de adultos *S. levis* no campo e registrou uma média de $0,9 \pm 0,11$ *S. levis* Isca⁻¹.

Para larvas, ocorrem também dois picos populacionais, sendo um nos meses de maio e julho, e o outro no mês de novembro (TERÁN & PRECETTI, 1983). Portanto, nos períodos de maio a novembro, especialmente nos três primeiros meses, ocorrem os maiores danos nas plantas de cana-de-açúcar, já que a fase larval é a que causa maiores prejuízos na cultura (ALMEIDA, 2005).

Dentre as medidas utilizadas em seu controle, inclui-se a eliminação mecânica das soqueiras, (PRECETTI & ARRIGONI, 1990), distribuição de iscas tratadas com inseticidas químicos (ALMEIDA, 2005) ou microbianos (BADILLA & ALVES, 1991), utilização de nematóides entomopatogênicos (LEITE et al., 2012), entre outras, como também a possibilidade de utilizar plantas geneticamente modificadas (POLANCZYK et al., 2004).

O sistema de colheita mecanizada da cana pode contribuir para um progressivo aumento das infestações desse besouro, em função da maior quantidade de palha que é depositada na superfície do solo, servindo de abrigo para o besouro e dificultando seu controle (DINARDO-MIRANDA, 2005).

2.2 Efeito de inseticidas na cana-de-açúcar

Alguns inseticidas como tiametoxam e aldicarb são capazes de provocar alterações na fisiologia e morfologia dos vegetais, e são classificados como bioativadores, pois atuam na síntese e ação de hormônios, melhoram a nutrição mineral e geram aumento de produtividade (CASTRO, 2006).

PEREIRA et al. (2010a) observaram que a aplicação de tiametoxam nas cultivares de cana RB867515 e SP80-1816, proporcionou aumento da massa seca das raízes em até 3,7 vezes e também incrementos no diâmetro dos colmos.

PEREIRA et al. (2010b) verificaram que a aplicação do inseticida tiametoxam (Actara 250 WG) em canavial livre da cigarrina-das-raízes *M. fimbriolata* não afetou a qualidade tecnológica da cana, independente da dosagem utilizada (100, 150 e 200 g de ingrediente ativo ha⁻¹), mas contribuiu para a produtividade de colmos, demonstrando o efeito fisiológico do inseticida na planta.

MADALENO (2006) observou o aumento da massa seca de alguns parâmetros biométricos (folhas, bainhas e colmos) e da acidez total da cana, em decorrência da aplicação tardia de tiametoxam indicando possível efeito fisiológico deste inseticida.

PEREIRA (2010) ao realizar a aplicação foliar de tiametoxam na cana soca, verificou aumento da área foliar, comprimento de raízes, diâmetro do cilindro vascular e número de metaxilemas.

Em experimento de campo, LEITE et al. (2012) observaram que o controle químico de *S. levis* com tiametoxam (Actara 250 WG) e fipronil (Regente 800 WG) geraram aumento na produção da cana em virtude do menor número de plantas danificadas pelo inseto, entretanto quando experimentaram a dosagem de 800 g ha⁻¹ p.c (Actara 250 WG) notaram maior ganho de produção em relação aos demais tratamentos, e consideraram que isso tenha ocorrido em função do efeito fisiológico do produto na cana, já que o índice de dano deste tratamento não se diferenciou dos demais, exceto pela testemunha.

DINARDO-MIRANDA et al. (2002), em ensaio avaliando a eficiência de inseticidas no controle da cigarrinha-das-raízes e os reflexos sobre alguns parâmetros tecnológicos, observaram diferenças de 2% na Pol e 6,3% na Pureza da cana tratada com Aldicarbe 150G (12 kg ha⁻¹) em relação à não tratada, não podendo avaliar o efeito fisiológico dos inseticidas pois havia interferência de pragas.

DINARDO-MIRANDA et al. (2006) observaram aumento da produtividade da cana em decorrência da redução das populações de *M. fimbriolata* ocasionada pela aplicação dos inseticidas imidaclopride, aldicarb e tiametoxam, mas não observaram influência dos inseticidas nos teores de açúcar (pol da cana) e fibra.

2.3 O processo fermentativo

Na usina alcooleira, o etanol é produzido através da fermentação realizada por leveduras, utilizando o caldo de cana, cuja composição, varia em função de diversos fatores que afetam a cultura da cana-de-açúcar, como a temperatura, variedade, estágio de maturação, condições hídricas, sistema de cultivo, propriedades químicas, físicas e microbiológicas do solo e o ataque de pragas e doenças (SILVA, 2003).

A eficiência da fermentação é diretamente afetada pelos componentes do caldo proveniente da matéria-prima entregue na indústria (MUTTON & MUTTON, 2002). O caldo é uma solução aquosa, que contém quantidade variável de substâncias orgânicas, entre as quais, 90% é representada pela sacarose (PAYNE, 1989). A sacarose após ser hidrolisada em glicose e frutose, pela enzima invertase, é prontamente fermentada a etanol por *S. cerevisiae* (RUDOLF et al. 2007).

Na fermentação etanólica, primeiro as leveduras convertem a glicose em piruvato através da glicólise. Depois o piruvato é convertido em acetaldeído pela ação da enzima piruvato-descarboxilase ocorrendo liberação de dióxido de carbono. Então, o acetaldeído é subsequentemente convertido em etanol pela ação da álcool-desidrogenase (KAVANAGH, 2005).

2.4 Fatores que afetam a fermentação

Diversos fatores influenciam a produção de etanol. Dentre eles estão as condições de cultivo (temperatura, pressão osmótica, pH e oxigenação) (ORTIZ-MUÑIZ et al., 2010), aspectos microbiológicos (contaminação bacteriana) (NOBRE et al., 2007) e nutricionais (GUTIERREZ, 1991; BENNETT et al., 1999).

As condições empregadas na fermentação devem conduzir a máxima conversão de açúcares em etanol, a fim de minimizar a geração de co-produtos da fermentação, tais como o glicerol e alcoóis superiores (LIMA et al., 2001; NEVOIGT, 2008). A levedura direciona parte dos intermediários glicolíticos às rotas metabólicas

correspondentes para a formação destes metabólitos, significando perdas na produção de etanol (PATRASCU et al., 2009).

O glicerol é o principal co-produto envolvido no processo fermentativo, pois mesmo na ausência de condições estressantes, é produzido pela levedura, como resultado da manutenção do balanço redox citosólico (NADH), particularmente sob condições anaeróbicas. Mas minimizando a formação de glicerol e redirecionando o fluxo de carbono em direção à formação de etanol, é possível obter aumentos no rendimento alcoólico em no mínimo 10% (NEIVOGT, 2008).

Quando *S. cerevisiae* cresce em alta concentração de glicose, as células funcionam sob um sistema regulatório de controle chamado repressão catabólica ou repressão por glicose. Mesmo na presença de oxigênio as células fermentam e acumulam etanol. Durante a produção de etanol, para se multiplicar, a levedura utiliza energia proveniente da glicólise e da via fermentativa, ao invés da respiração pela via oxidativa (MOAT et al., 2002).

A temperatura ótima para a produção de etanol varia entre 26 e 35 °C. Temperaturas mais baixas prolongam o tempo de fermentação e aumentam o rendimento alcoólico, enquanto mais altas, favorecem a contaminação bacteriana e aumentam a sensibilidade das leveduras à toxidez do etanol (LIMA et al., 2001).

S. cerevisiae utiliza a glicólise sob condições de pH neutro ou levemente ácido e sob condições anaeróbicas (MOAT et al., 2002). Nos mostos industriais, os valores de pH geralmente se encontram na faixa de 4,5 a 5,5. Fermentações conduzidas em meios mais ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, pelo fato de restringir o crescimento do fermento, com a conseqüente redução da produção de glicerol e da contaminação bacteriana (LIMA et al., 2001).

A presença de micro-organismos contaminantes, afeta o processo fermentativo, podendo causar floculação do fermento, formação de goma, inibição e queda da viabilidade das leveduras devido às toxinas e ácidos orgânicos excretados no meio (NOBRE et al., 2007). Os ácidos, láctico e acético, produzidos por agentes contaminantes são responsáveis por causar grandes prejuízos à fermentação, devido a

sua toxicidade e pelo consumo de açúcares durante sua formação (OLIVA-NETO & YOKOYA, 1997).

O aumento das concentrações de etanol no meio causa redução da taxa de fermentação e viabilidade das leveduras (NEIVOGT, 2008). Em geral, o crescimento das leveduras cessa em torno de 6-9% m/v etanol, mas a produção de etanol, em algumas cepas, pode continuar até mais que 15% etanol. A capacidade das células de tolerar estresses é um dos importantes critérios na seleção de cepas para o emprego na indústria (PATRASCU et al., 2009).

Para que uma fermentação ocorra com bons rendimentos é importante prover para o micro-organismo, um substrato que contenha fontes utilizáveis de carbono, nitrogênio e outros elementos essenciais, em quantidades e relações apropriadas, caso contrário, o processo fermentativo pode ser prejudicado. A cana-de-açúcar constitui-se como fonte de nutriente complexa, rica em sacarose e geralmente é capaz de atender os requerimentos nutricionais dos micro-organismos (CARLILE et al., 2001).

As leveduras utilizam os açúcares encontrados na cana-de-açúcar como principal fonte de carbono e energia, mas alguns aspectos devem ser considerados quanto às fontes de nitrogênio e fósforo utilizadas, pois influenciam na produção de metabólitos secundários. *S. cerevisiae* utiliza o nitrogênio nas formas amoniacal (forma preferida), amídica ou amínica, não metaboliza o nitrato e possui baixa capacidade de utilizar proteínas do meio (LIMA et al., 2001). A quantidade ideal de nitrogênio assimilável na fermentação é de 300 a 350 ppm de N total no mosto (STUPIELLO & HORII, 1981).

No meio de cultivo, as fontes de nitrogênio como a glutamina, são utilizadas primeiro e as de pouca preferência como a prolina são utilizadas depois, quando as preferenciais tiverem sido consumidas (CHEN & KAISER, 2002). Porém a utilização de aminoácidos como fonte de nitrogênio, proporciona um aumento nos níveis dos álcoois superiores (n-propanol, iso-butanol, n-butanol, iso-amílico), ocorrendo decréscimo na produção de etanol (SILVA et al., 2006).

O fósforo é um elemento de extrema importância no armazenamento e transferência de energia nas células. Este mineral é indispensável à absorção do carboidrato e a sua posterior conversão a etanol. As fontes de fosfato também

influenciam o metabolismo das leveduras, afetando a produção de metabólitos secundários (SILVA et al., 2006). Para uma fermentação eficiente, que produza bons rendimentos alcoólicos, são recomendados em torno de 50 a 100 ppm de fósforo no mosto (AMORIM, 1985).

Os micronutrientes como zinco, cobre e manganês, desempenham importante papel no metabolismo das leveduras, pois agem como co-fatores em várias reações enzimáticas, resultando em maiores rendimentos alcoólicos na fermentação (STEHLIK-TOMAS et al., 2004)

III MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Ensaio de campo, delineamento experimental e tratamentos

O ensaio foi realizado durante a safra 2010/2011, nos meses de dezembro a março, em área localizada no município de Guariba-SP. Utilizou-se a cultivar de cana SP80-3280 (3º corte), 13,1 meses de idade, de maturação média-tardia, considerada suscetível à broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*) e a cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*).

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso com seis repetições. A área total de cada parcela era constituída de 2.400 m² (30 m x 80 m) possuindo 1.600 m² de área útil.

Os tratamentos utilizados foram: inseticidas químicos imidaclopride (neonicotinóide – sistêmico), etiprole (fenilpirazol – contato), α -cipermetrina (Piretróide – contato) e tiametoxam+ λ -cialotrina (neonicotinóide – sistêmico + piretróide – contato), nas respectivas dosagens de 480 g, 500 g, 20 mL e 494 mL de i.a ha⁻¹ e inseticida biológico (mistura dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*) na dosagem de 5.10¹³ e 2.10¹² conídios viáveis mL⁻¹, além do tratamento controle, no qual não se empregou qualquer produto.

A aplicação dos inseticidas nas parcelas foi realizada entre os dias 16 e 18 de fevereiro. Utilizou-se pulverizador costal de pressão constante (300 L ha⁻¹) equipado com bico tipo leque simples, com jato dirigido na base das touceiras (30%) e para o solo (70%), em ambos os lados das linhas da cana sem haver remoção da palha.

3.2 Levantamento de *S. levis*

Para a quantificação dos insetos no campo empregou-se iscas tóxicas confeccionadas utilizando-se toletes de cana medindo 30 cm de comprimento, cortados longitudinalmente, e imersos em solução contendo 100 L de água + 1,251 L de carbaril por 12 horas. Depois foram distribuídas, cerca de 100 iscas tóxicas ha⁻¹.

Os levantamentos populacionais da praga foram realizados antes e após a aplicação dos tratamentos no campo. A primeira distribuição de iscas foi realizada em 4 de janeiro e avaliada em 19 de janeiro/2011. A segunda distribuição de iscas foi realizada em 10 de março/2011 e avaliada em 25 de março do mesmo ano.

3.3. Colheita dos colmos

No dia 3 de junho/2011 foi realizada a colheita, selecionando-se aleatoriamente, 10 colmos (sem danos visíveis causados por pragas) dentro da área útil das parcelas. Os colmos foram cortados na base, despalhados e despontados na altura da gema apical. Em seguida, procedeu-se a extração do caldo utilizando uma moenda elétrica de pequeno porte. As amostras do caldo foram peneiradas, envasadas, identificadas e congeladas.

3.4 Análises convencionais, não convencionais e microbiológicas

O Brix foi determinado por refratometria a 20°C (SCHENEIDER, 1979), a Pol segundo SCHENEIDER (1979), e Pureza, Fibra, açúcares redutores (AR) e açúcar total recuperável (ATR), calculados de acordo com CONSECANA (2008). Determinou-se o pH por leitura direta em peagômetro digital com correção de temperatura, açúcares redutores totais (ART) (LANE & EYNON, 1934) e acidez total por meio da titulação do caldo em agitação com NaOH. A acidez volátil de acordo com Villela et al. (1973). Os compostos fenólicos totais foram quantificados segundo FOLIN & CIOCALTEAU (1927) adaptado por PRESOTTI (2005).

As análises microbiológicas foram realizadas através da diluição em série até a concentração de 10^{-3} e então alíquotas de 100 μ L dessa diluição foram transferidas para placas contendo os seguintes meios:

-seletivo para bactérias lácticas MAN et al. (1960) (MRS) - peptona 1%, extrato de carne 1%, extrato de levedura 0,5%, glicose 2%, hidrogenofosfato de potássio 0,2%, tween 80 1%, citrato de diamônio 0,2%, acetato de sódio 0,5%, sulfato de magnésio

heptahidratado 0,01%, sulfato de manganês tetra hidratado 0,005%, agar 1,2%, com adição de cicloheximida (100mg/L).

-seletivo para leveduras e fungos totais Wallerstein Laboratories Nutrient (WLN) de acordo com (GREEN & GRAY, 1950, modificado por OLIVEIRA & PAGNOCA, 1988) glicose 5%, KH_2PO_4 55mg, KCl 42,5mg, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 12,5mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 12,5mg, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,25g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,25g, extrato de levedura 0,4%, caseína 0,5%, verde de bromocresol 2,2 mg, agar 2%, água destilada 1000mL com adição dos antibióticos ampicilina e ácido nalidíxico (100mg/L cada).

-enumeração de micro-organismos totais Plate Count Agar (PCA) triptona 0,5%, extrato de levedura 0,25%, glicose 0,1%, agar 1,5%.

3.5 Fermentações em laboratório

Utilizou-se como agente fermentativo a levedura de panificação *Saccharomyces cerevisiae*, multiplicada, empregando-se quantidade de fermento na proporção 30 g L⁻¹ de mosto previamente preparado, com pH e temperatura, ajustados para respectivamente 4,0 e 30 °C (mesma temperatura de incubação). Ao mesmo tempo que se fez a multiplicação do fermento, este foi gradualmente adaptado à mais altas concentrações de açúcares, utilizando-se mostos com concentrações crescentes de 2, 4, 8, 12 e 16 °Brix.

As fermentações foram conduzidas em Erlenmeyers de 1 L. A quantidade de açúcares, a temperatura e o pH dos mostos, foram respectivamente ajustados para 16°, 30 °C e 4,0. O mosto foi adicionado em duas etapas, começando com 15 g de fermento adaptado + 150 mL de mosto para formar o pé-de-cuba e o restante (335 mL) adicionado 1 hora depois, caracterizando o início do processo fermentativo.

O monitoramento da quantidade de açúcares (Brix) na fermentação foi realizado com o auxílio de um sacarímetro. O final das fermentações estabelecido quando o Brix se manteve inalterado em intervalos de 30 minutos.

3.6 Análises microbiológicas e do glicerol nos vinhos

As análises microbiológicas foram realizadas no início e ao final das fermentações, através de contagem direta de leveduras ao microscópio ótico com auxílio da câmara de Neubauer de acordo com LEE et al. (1981) e também pelo plaqueamento dos vinhos utilizando-se três meios de cultura, conforme item 3.4. Para o meio MRS utilizou-se a diluição 10^{-3} e para os meios WLN e PCA, diluição de 10^{-6} . As diluições foram determinadas mediante ensaios preliminares.

O teor de glicerol foi determinado no vinho delevurado, segundo COPERSUCAR (1988).

Os açúcares redutores residuais totais (ARRT) foram quantificado segundo LANE & ENYON (1934).

3.7 Determinação de Nutrientes

Os nutrientes foram determinados realizando a digestão nitroperclórica das amostras de cana desfibrada e do caldo. As amostras foram diluídas em 50 vezes e as leituras do potássio, cálcio, magnésio, ferro, manganês e zinco, feitas por espectrometria de absorção atômica (MALAVOLTA et al., 1997).

3.8 Análises estatísticas

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F. As médias referentes às análises microbiológicas dos meios MRS, WLN e PCA, foram transformadas para $\text{Log}(x)$ e comparadas pelo teste de Tukey. As médias dos açúcares redutores no caldo foram transformadas para $\text{Log}(x)$. Com exceção das análises microbiológicas dos meios de cultura, as demais médias foram comparadas pelo teste T de Student (LSD). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2003).

IV RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Controle de *S. levis*

Os resultados obtidos para a população de adultos de *S. levis*, estimada antes da aplicação dos inseticidas, mostram a homogeneidade desses insetos em toda a área amostrada (Tabela 1). No levantamento feito após a aplicação dos inseticidas, a população de adultos permaneceu homogênea, pois não houve diferenças entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. População de adultos de *S. levis* antes e depois da aplicação de Inseticidas (02/2011). Cultivar SP80-3280.Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Antes (<i>S. levis</i> Isca⁻¹)	Depois (<i>S. levis</i> Isca⁻¹)
imidaclopride	1,90A	1,74A
etiprole	2,40A	1,86A
α -cipermetrina	1,82A	1,61A
tiametoxam+ λ -cialotrina	2,20A	1,85A
biológico	1,99A	1,91A
controle	2,12A	1,70A
Teste F	0,808*	0,186 ^{ns}
DMS	0,6990	0,7582
C.V.	28,37	35,84

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

Resultados semelhantes foram observados por DINARDO-MIRANDA & FRACASSO (2010) estudando os inseticidas imidaclopride, fipronil e tiametoxam, no plantio da cana-de-açúcar.

PEREZ (2009) conduziu experimento empregando o mesmo tipo de iscas utilizadas na presente pesquisa, e justificou que o reduzido número de adultos encontrados, seria em função da época do ensaio, compreendido nos meses de outubro a novembro.

As amostragens de insetos apresentadas na Tabela 1 indicam que o número total de adultos após a aplicação dos inseticidas, em média, 1,78 *S. levis* Isca⁻¹, 14,15% menor que o número de adultos observados antes da aplicação dos inseticidas, em média, 2,07 *S. levis* Isca⁻¹, poderia ter sido em virtude da segunda avaliação ter sido realizada ao final do pico populacional da praga. Estudos realizados por DEGASPARI et al (1987), avaliando o pico populacional dos insetos entre janeiro e março, confirmam estas conclusões.

A ineficiência dos inseticidas demonstrada na Tabela 1 pode ser atribuída, em parte, à palha residual, uma vez que esta não foi removida no momento da aplicação, dificultando o contato dos inseticidas com o inseto. De acordo com GIOMETTI et al. (2011), os adultos se abrigam abaixo do nível do solo e raramente são encontrados voando.

Esses resultados demonstram, por exemplo, que o sistema de colheita da cana crua impõe dificuldades no controle de *S. levis*, e contribui para a sobrevivência deste inseto, que utiliza a palha acumulada como abrigo (ARRIGONI, 2011).

4.2. Análises convencionais, não-convencionais e de nutrientes

É possível verificar que os inseticidas utilizados na presente pesquisa não afetaram significativamente ($P \leq 0,05$) os parâmetros tecnológicos Brix, Pol, Pureza e ART (Tabela 2).

Foram observadas algumas alterações entre os tratamentos avaliados para os resultados da Pol, Pureza e ART, que foram maiores ($P \leq 0,05$) para o etiprole quando comparado com tiametoxam+ λ -cialotrina. A Pol também foi maior para o tratamento etiprole em relação a α -cipermetrina.

O Brix foi significativamente maior ($P \leq 0,05$) para imidaclopride se comparado a tiametoxam+ λ -cialotrina e α -cipermetrina.

A quantidade de ART foi maior nas parcelas tratadas com os inseticidas, imidaclopride, etiprole, α -cipermetrina e biológico, diferindo ($P \leq 0,05$) do tratamento

controle. A menor quantidade de ART foi observada para tiametoxam+ λ -cialotrina, que diferiu ($P \leq 0,05$) dos demais tratamentos.

Tabela 2. Parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar tratada com diferentes inseticidas (06/2011). Cultivar SP80-3280. Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Brix (%)	Pureza (%)	Pol (%)	ART (%)
imidaclopride	17,31A	85,55AB	12,76AB	16,23C
etiprole	16,91AB	90,10A	13,15A	15,14C
α -cipermetrina	16,29B	83,09AB	11,70BC	16,12C
tiametoxam+ λ -cialotrina	16,50B	78,43B	11,12C	12,09A
biológico	16,98AB	87,21AB	12,74AB	15,10C
controle	16,83AB	85,29AB	12,33ABC	13,74B
Teste F	2,141*	1,473*	2,4578*	13,492*
DMS	0,7005	8,3941	1,268	1,2054
C.V	3,51	8,30	8,78	7,14

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

Analisando-se os parâmetros citados anteriormente, verifica-se que o tiametoxam+ λ -cialotrina provocou efeitos contrários ao etiprole, e causou impactos negativos sobre a Pureza, Pol e ART, comprometendo a qualidade da cana. O tratamento com tiametoxam+ λ -cialotrina apresentou resultados com o maior número de indicadores fora dos padrões recomendados por AMORIM et al. (2007) citado por RIPOLI & RIPOLI (2009), que estipularam valores para Pol, Pureza e ART, superiores a respectivamente 14, 85% e 15%, e fibra, entre 11 e 13%.

Pode-se observar que os valores do Brix, indicam que a cana ainda não estava madura, pois o valor ideal é de no mínimo 18 Brix no início e no decorrer da safra (COPERSUCAR, 1980). Como observado por MARTINI et al. (2010) o Brix aumenta à medida que a cana completa o processo de maturação.

Ao analisar os valores da Pol (Tabela 2), verifica-se que, de maneira geral, estes estão abaixo do recomendado por AMORIM et al. (2007) citado por RIPOLI & RIPOLI (2009), assim como o teor de Pureza, para os tratamentos com α -cipermetrina e tiametoxam+ λ -cialotrina.

Os teores de Pureza referente ao tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina, confirmam que a cana ainda não estava no ponto de colheita, ou seja, inadequada para o processamento industrial, que de acordo com FERNANDES (1985), estes devem ser de 80% no início e 85% no decorrer da safra.

Estas informações podem ser confirmadas comparando-se os valores de Pol (17,61), Brix (19,79) e ART (17,51), obtidos por RAVANELI et al. (2004) estudando a cultivar SP80-3280 em área livre de pragas, colhida no mesmo período.

Os valores totais médios de Pol, Brix e ART observados na presente pesquisa foram, respectivamente, 12,3, 16,803 e 14,7366, sendo, respectivamente, 28,94, 15,07 e 15,85% menores, que os valores apresentados por RAVANELI et al. (2004), indicando que a cana-de-açúcar ainda não estava no ponto de colheita, além de ter sido prejudicada pelo ataque da praga.

Há que se considerar que a área em que foi conduzida a presente pesquisa, teve sua colheita antecipada para 03 de junho, para atender a demanda por matéria-prima pela indústria, uma vez que de acordo com a programação inicial, a colheita seria realizada no final de agosto/2011.

Foram observadas diferenças ($P \leq 0,05$) nas quantidades de AR e ATR entre os inseticidas. Não houve diferença no teor de fibra para os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de açúcares redutores (AR) e açúcar total recuperável (ATR) da cana-de-açúcar tratada com diferentes inseticidas (06/2011). Cultivar SP80-3280. Guariba /SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	ATR (kg t⁻¹)	AR (%)	Fibra (%)
imidaclopride	128,47AB	0,61AB	11,03A
etiprole	130,97A	0,47B	10,91A
α -cipermetrina	118,93BC	0,68AB	10,83A
tiametoxam+ λ -cialotrina	114,61C	0,82A	11,05A
biológico	127,85AB	0,56AB	11,05A
controle	124,39ABC	0,62AB	11,07A
Teste F	2.671*	1.602*	0.917*
DMS	10.3204	0.1481	0,3594
C.V	6.98	16.04	2.75

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

A quantidade de AR no caldo extraído da cana tratada com etiprole foi 1,74 vezes menor ($P \leq 0,05$) que tiametoxam+ λ -cialotrina, diferindo ($P \leq 0,05$) em 16,36 kg t⁻¹ na quantidade de ATR entre esses tratamentos. A quantidade de AR encontrada na cultivar SP80-3280 por RAVANELI et al. (2004) foi 0,46%, 25,8% menor que a encontrada na presente pesquisa, com média geral entre os tratamentos 0,62%.

No processo de maturação da cana, os teores da Pol e Pureza aumentam enquanto o AR diminui podendo chegar a valores de 0,2% (FERNANDES, 2003). A quantidade de AR do tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina, não está de acordo com o recomendado por AMORIM et al. (2007) citado por RIPOLI & RIPOLI (2009).

A quantidade de ATR é um dos parâmetros empregados no cálculo do pagamento de cana pelo teor de sacarose e isso implica que os menores valores de ATR encontrados para tiametoxam+ λ -cialotrina e α -cipermetrina, resultariam em menor remuneração, enquanto etiprole, maior remuneração para os produtores de cana-de-açúcar do Estado de São Paulo.

Nota-se que houve diferenças ($P \leq 0,05$) nos valores da acidez total entre tiametoxam+ λ -cialotrina e os demais tratamentos. A acidez volátil manteve-se inalterada entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios de acidez total e volátil no caldo de cana (06/2011).
Cultivar SP80-3280. Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Acidez Total (g H₂SO₄ L⁻¹)	Acidez Volátil (mg Ac. Acético L⁻¹)
imidaclopride	1,12A	4,45A
etiprole	1,20A	4,00A
α -cipermetrina	1,14A	4,88A
tiametoxam+ λ -cialotrina	1,38B	4,57A
biológico	1,18A	4,39A
controle	1,24A	4,13A
Teste F	4,605*	0,721*
DMS	0,127	1,0821
C.V	8,81	20,67

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

Deve-se ressaltar que a acidez total da cana observada nesta pesquisa, em média 1,21, é um indicativo de baixa qualidade, pois está acima do valor máximo de acidez total, 0,8, recomendado por AMORIM et al. (2007) citado por RIPOLI & RIPOLI (2009).

A acidez total expressa a quantidade de ácidos presentes no caldo, e pode sinalizar a deterioração ou também que a cana ainda não está no estágio de maturação, ou seja, em estágio de crescimento e desenvolvimento (MADALENO, 2006). À medida que a cana completa o processo de maturação, há diminuição da acidez total como observado por MARTINI et al. (2010).

A indiferença encontrada nos valores de acidez volátil, parâmetro que caracteriza a deterioração microbiana, indica que não houve contribuição dos microrganismos no aumento da acidez total do caldo no tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina. O aumento da acidez no tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina poderia ser provocado pelo efeito fisiológico do inseticida, causando atraso na maturação da cana, como observado por MADALENO (2006).

Não houve diferenças ($P > 0,05$) na quantidade de compostos fenólicos no caldo entre os tratamentos (Tabela 5), e como observado por MARTINI et al. (2010), estes variam de acordo com o estágio de maturação e a variedade da cana-de-açúcar.

Tabela 5. Resultados médios obtidos para compostos fenólicos totais no caldo de cana. (06/2011). Cultivar SP80-3280.Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Compostos Fenólicos ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
imidaclopride	145,59A
etiprole	132,35A
α -cipermetrina	141,96A
tiametoxam+ λ -cialotrina	145,02A
biológico	130,59A
controle	133,53A
Teste F	0,270 ^{ns}
DMS	37,4304
C.V.	22,29

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

De modo semelhante, RAVANELI (2010) observou correlações entre maiores níveis de danos provocados pela cigarrinha e quantidade de compostos fenólicos produzidos. Entretanto, resultados de MADALENO (2006) discordam destas afirmações.

É possível observar que os tratamentos avaliados interferiram ($P \leq 0,05$) nas quantidades de potássio e ferro na massa seca da cana (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados médios obtidos para os teores de nutrientes presentes na massa seca da cana. (06/2011). Cultivar SP80-3280. Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Ca g kg ⁻¹	K g kg ⁻¹	Mg g kg ⁻¹	Fe mg kg ⁻¹	Mn mg kg ⁻¹	Zn mg kg ⁻¹
Imidaclopride	0,300A	13,833B	0,700A	163,00AB	36,833A	6,00A
Etiprole	0,250A	13,850B	0,700A	150,33B	35,667A	5,80A
α -cipermetrina	0,317A	15,683AB	0,733A	168,33AB	43,000A	7,50A
tiametoxam+ λ -cialotrina	0,317A	15,883A	0,700A	210,25A	38,833A	7,33A
Biológico	0,283A	14,483AB	0,750A	139,00B	36,833A	6,16A
Controle	0,267A	14,067AB	0,700A	187,50AB	35,833A	5,50A
Teste F	0,27 ^{ns}	1,898*	0,424 ^{ns}	1,985*	0,352 ^{ns}	0,979*
DMS	0,0151	0,1935	0,0098	52,86	13,47	2,416
C.V.	44,39	11,22	11,67	26,42	30,22	32,08

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

O teor de potássio presente na massa seca da cana foi maior ($P \leq 0,05$) no tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina, comparando-se com etiprole e imidaclopride e o teor de ferro foi maior ($P \leq 0,05$) na cana tratada com tiametoxam+ λ -cialotrina, comparando-se com etiprole e tratamento biológico (Tabela 6).

A quantidade de nutrientes na cana está relacionada com o estágio de maturação, como observaram GARCIA (2009) e FRANZÉ (2010), pois ao contrário do que acontece na fase de crescimento e desenvolvimento da cana-de-açúcar, a maturação ocorre após um período de estresse hídrico e reduzida quantidade de água no solo, como consequência observa-se diminuição na taxa de absorção de água e nutrientes.

Considerando que na presente pesquisa, os nutrientes potássio e ferro, estavam presentes em maior quantidade na cana tratada com tiametoxam+ λ -cialotrina em relação ao etiprole, esses resultados sugerem que os inseticidas provocaram efeitos

contrários na maturação da cana. Sabe-se que o inseticida tiametoxam proporciona efeito sobre o crescimento radicular da cana conhecido como efeito fitotônico, o que poderia ter favorecido a maior absorção de nutrientes em comparação com os demais inseticidas.

Segundo RODRIGUES (1995) o potássio é um elemento de grande importância devido a sua ação na formação e translocação da sacarose, pois é requerido como ativador de muitas enzimas, e também atua como regulador osmótico, já que a presença deste elemento estimula o ganho de água pelo vegetal.

Quanto aos teores de nutrientes no caldo, pode-se observar que os elementos potássio e manganês, foram afetados ($P \leq 0,05$) para os tratamentos em que se utilizou inseticidas (Tabela 7).

Tabela 7. Resultados médios obtidos para os teores de nutrientes presentes no caldo de cana (06/2011). Cultivar SP80-3280. Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Ca mg L ⁻¹	K mg L ⁻¹	Mg mg L ⁻¹	Fe mg L ⁻¹	Mn mg L ⁻¹	Zn mg L ⁻¹
imidaclopride	0,170A	6,018AB	0,266A	0,151A	0,288B	0,088A
etiprole	0,176A	5,495B	0,260A	0,168A	0,306B	0,095A
α -cipermetrina	0,198A	6,081AB	0,270A	0,203A	0,498A	0,100A
tiametoxam+ λ -cialotrina	0,173A	6,966A	0,246A	0,195A	0,340AB	0,100A
biológico	0,196A	5,976B	0,266A	0,153A	0,335AB	0,106A
controle	0,183A	5,281B	0,241A	0,130A	0,305B	0,088A
Teste F	0,476 ^{ns}	2,956*	0,400 ^{ns}	1,185*	1,762*	0,468 ^{ns}
DMS	0,0504	0,9817	0,537	0,074	0,1682	0,0306
C.V.	23,25	13,95	17,62	37,63	41,31	26,95

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferenciam entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

O teor de potássio no caldo do tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina, foi maior em comparação com os tratamentos biológico, etiprole e controle. A quantidade de manganês foi maior no tratamento α -cipermetrina comparando-se com imidaclopride e controle.

Os teores de nutrientes estavam em menor quantidade no caldo em comparação com a massa seca da cana, como já observado por Garcia (2010). Portanto parte dos nutrientes não pôde ser utilizada pelas leveduras no substrato, pois permaneceram na matéria seca (Tabela 6).

4.3. Micro-organismos nos mostos e na fermentação etanólica

O plaqueamento dos mostos referentes aos tratamentos aplicados mostra a quantidade de micro-organismos totais, bactérias lácticas, fungos e leveduras totais (Figura 1).

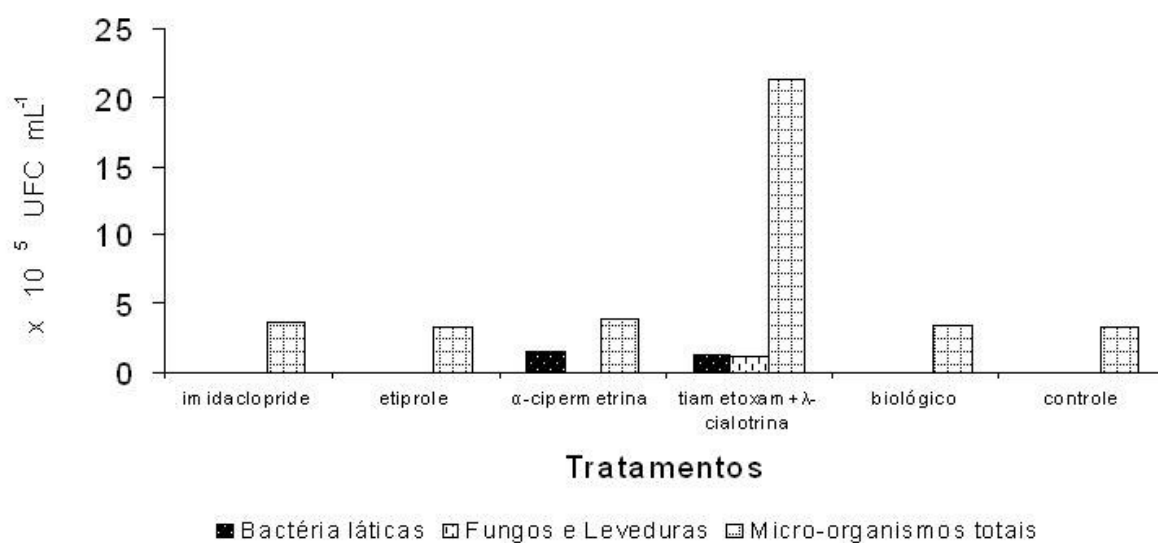


Figura 1. Número de micro-organismos nos mostos preparados a partir do caldo da cana-de-açúcar tratada com diferentes inseticidas. Guariba/SP. Cultivar SP80-3280. Safra 2010/2011.

Todos os mostos possuíam uma carga microbiana total avaliada em meio específico (PCA) acima de 10^5 UFC mL⁻¹, principalmente o tratamento tiametoxam+λ-cialotrina, no qual os micro-organismos totais estavam presentes em número médio, seis vezes maior que os demais tratamentos (Figura 1).

Somente os tratamentos tiametoxam+λ-cialotrina e α-cipermetrina continham bactérias lácticas avaliadas em meio MRS em número superior a 10^5 UFC mL⁻¹ (Figura 1), valores que segundo ALCARDE et al. (2003), estão acima dos limites aceitáveis, um vez que as indústrias de bioetanol estabelecem o limite máximo de 10^5 UFC mL⁻¹.

Sabe-se que os açúcares redutores (glicose e frutose) são prontamente metabolizáveis pela maioria dos micro-organismos, e a glicose ocupa uma posição central no metabolismo microbiano (MOAT et al., 2002). Desta forma, o maior número de micro-organismos totais no tratamento tiametoxam+λ-cialotrina, pode estar relacionada com a maior quantidade de AR (Tabela 3) e acidez total (Tabela 4).

MARTINI et al. (2011) observaram que em algumas variedades de cana-de-açúcar, a quantidade de leveduras no caldo da cana diminuiu quando o ponto máximo de maturação foi alcançado, resultado semelhante pode ser observado na Figura 1, pois verifica-se que com exceção do tiametoxam+λ-cialotrina, os demais tratamentos continham número de leveduras abaixo de 10^5 UFC mL⁻¹.

A comunidade microbiana presente no caldo de cana é diversificada e responde de maneira diferente ao aumento da concentração de açúcares devido ao processo de maturação, o qual provavelmente favorece espécies de *S. cerevisiae*, muito resistente a altas concentrações de açúcares (MORAES et al., 1997; PATARO et al., 2000; citados por MARTINI et al., 2011).

A maior quantidade de leveduras ao longo do colmo da cana, observada por MARTINI et al. (2010), se concentra na região da ponta dos colmos, visto que nesta parte, a quantidade de AR e acidez total são maiores, favorecendo as leveduras. Os açúcares redutores são prontamente metabolizáveis por estes micro-organismos, e a maior acidez total, é desfavorável ao crescimento bacteriano.

Analisando-se a dinâmica do número de micro-organismos durante o início e final das fermentações, observa-se que houve aumento de bactérias lácticas (Figura 02 - A) durante o processo fermentativo para todos os tratamentos. Elas possuem rápida taxa de crescimento, são tolerantes ao etanol, baixos valores de pH e oxigênio e ainda à altas temperaturas (SKINNER & LEATHERS, 2004; LUCENA et al., 2010; BECKNER et al., 2011), assim o ambiente de fermentação não poderia ser considerado tão hostil para esse grupo de bactérias.

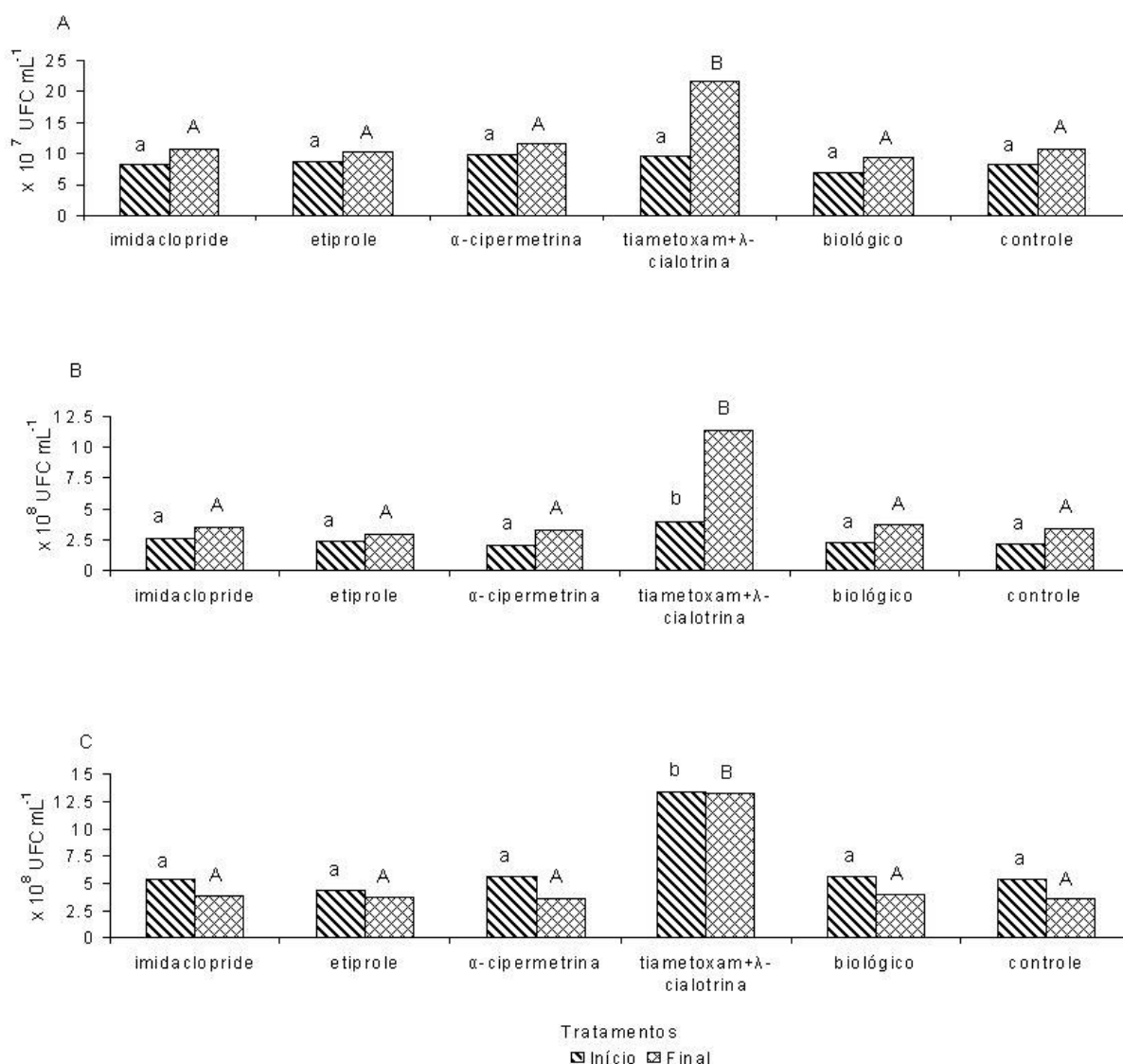


Figura 2. Número de micro-organismos no Início e Final das fermentações. (A) Bactérias lácticas, (B) Fungos e leveduras e (C) Micro-organismos totais. Médias com letras minúsculas iguais no Início e médias com letras maiúsculas iguais no Final não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

As bactérias lácticas que participam do processo competem por nutrientes e produzem metabólitos tóxicos como o ácido láctico e em menores quantidades o acético (NARENDRANATH & POWER, 2004), contribuindo assim para o aumento da acidez dos vinhos (Tabela 8).

A produção de ácidos orgânicos por essas bactérias pode reduzir o pH do meio, criando um ambiente desfavorável para muitos micro-organismos, incluindo leveduras (NARENDRANATH & POWER, 2005). Mas o efeito inibitório sobre a levedura *S. cerevisiae* não pode ser atribuído somente à ação dos ácidos, láctico e acético, e à competição por nutrientes. As bactérias lácticas também produzem outros metabólitos com ação inibitória, como diacetil, ácidos graxos, compostos proteínados, peróxido de hidrogênio e ruterina (BECKNER et al., 2011).

No decorrer do processo fermentativo houve aumento de leveduras (Figura 02 - B), pois além de utilizarem os açúcares para produzir etanol, ao final da fermentação quando a concentração de açúcares encontra-se mais baixa, há inversão do metabolismo fermentativo para a via respiratória, quando ocorre aumento na multiplicação celular (ANGELIS, 1992).

Observando-se os micro-organismos totais, em todos os tratamentos, nota-se queda de suas populações ao final do processo fermentativo (Figura 02 – C). Isso pode ser explicado pelas condições do ambiente fermentativo, quando ocorre diminuição dos nutrientes, aumento da acidez e dos teores de álcoois e ácidos orgânicos. Os micro-organismos diferem entre si em suas características nutricionais e fisiológicas e assim, é possível que o próprio ambiente de fermentação promova a seleção destes ao final do processo.

Analisando-se a dinâmica de leveduras no início e final do processo de fermentação, nota-se que houve redução da viabilidade celular, em média 5%, para todos os tratamentos (Figura 03 - A). Houve diferenças na viabilidade dos brotos no início e ao final das fermentações (Figura 03 - C).

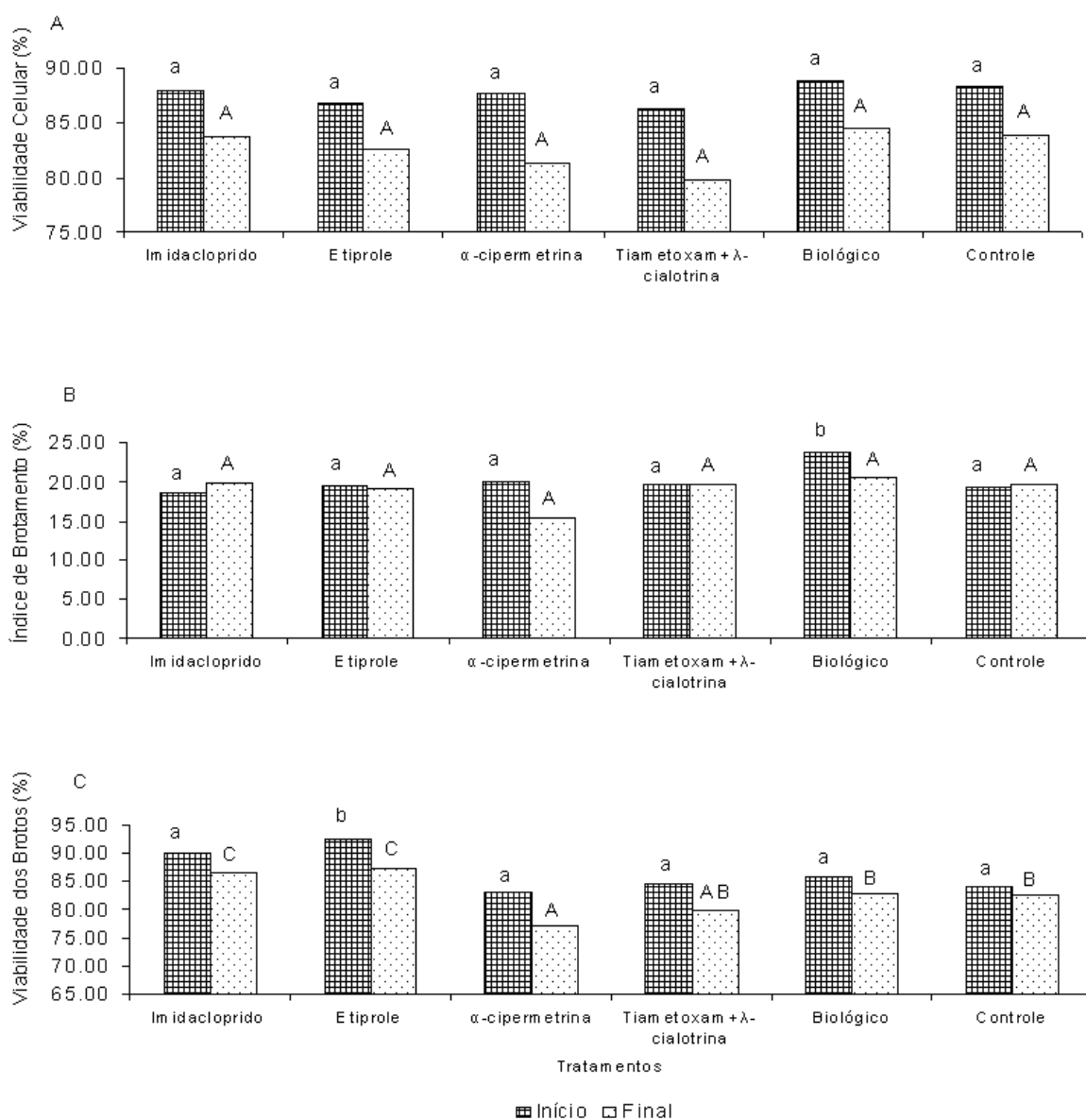


Figura 3. Dinâmica de leveduras no início e final do processo fermentativo. (A) Viabilidade celular, (B) Índice de brotamento e (C) Viabilidade dos brotos. Médias com letras minúsculas iguais no Início e médias com letras maiúsculas iguais no Final não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

O tratamento etiprole, apresentou desde o início do processo fermentativo, a viabilidade dos brotos em valores mais elevados que os tratamentos α-cipermetrina,

tiametoxam+ λ -cialotrina e controle ($P \leq 0,05$). Ao final do processo, os tratamentos etiprole e imidaclopride, mantiveram maior viabilidade de brotos em relação aos tratamentos α -cipermetrina e tiametoxam+ λ -cialotrina ($P \leq 0,05$).

O índice de Brotamento, no início da fermentação, foi maior para o tratamento biológico em relação ao imidaclopride, mas não houve diferenças entre os tratamentos ao final do processo de fermentação (Figura 03 - B).

O número de bactérias (Figura 02 – A) no início da fermentação, mesmo no tratamento tiametoxam+ λ -cialotrina, não interferiu na viabilidade celular das leveduras (Figura 03 - A, B e C) durante o processo fermentativo. O número de células no início do processo, em média $2,5 \cdot 10^8$ UFC mL⁻¹, foi maior que o número de bactérias, em média $8,5 \cdot 10^7$ UFC mL⁻¹, superando possíveis efeitos negativos desses contaminantes.

Resultados similares foram encontrados por NARENDRANATH & POWER (2004) avaliando diferentes concentrações de *Saccharomyces* e *Lactobacillus*, demonstraram que a utilização de alta quantidade de leveduras em relação às bactérias, no início da fermentação, sobrepõe os efeitos negativos das bactérias contaminantes, aumentando sua capacidade competitiva. Assim, a redução de 5% na viabilidade (Figura 03 – A) seria considerada normal, já que no início há maior disponibilidade de nutrientes e no decorrer do processo ocorre o esgotamento natural dos açúcares do meio e liberação de substâncias tóxicas pelos micro-organismos além da toxicidade do etanol.

De uma maneira geral, a viabilidade de leveduras ao final do processo fermentativo estava abaixo de 85%, com destaque para tiametoxam+ λ -cialotrina (79,89%). A viabilidade final, comumente encontrada nas indústrias brasileiras, é da ordem de 84 a 85% (AMORIM & OLIVEIRA, 1982). A viabilidade de brotos nos tratamentos α -cipermetrina (77,08%) e tiametoxam+ λ -cialotrina (79,85%) estavam abaixo de 80%, e isso resultaria em aumento de custos com a necessidade de reposição do fermento nas próximas fermentações.

4.4 Acidez, pH, Brix e glicerol no processo fermentativo

Apesar da diferença quantitativa de micro-organismos presentes no tratamento tiametoxam+λ-cialotrina ($P \leq 0,05$) (Figura 02 – A, B e C), não houve diferença na acidez final dos vinhos (Tabela 8).

Tabela 8. Acidez inicial e final nos vinhos das fermentações referentes aos tratamentos avaliados. (06/2011). Cultivar SP80-3280. Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Acidez Inicial (g H ₂ SO ₄ L ⁻¹)	Acidez Final (g H ₂ SO ₄ L ⁻¹)
imidaclopride	2,01A	3,03A
etiprole	1,98A	2,96A
α-cipermetrina	2,01A	2,94A
tiametoxam+λ-cialotrina	2,04A	3,14A
biológico	1,98A	2,86A
controle	1,98A	3,07A
Teste F	0,171 ^{ns}	0,849*
DMS	0,1624	0,3171
C.V.	6,15	8,01

*Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

Estudos realizados por NOBRE et al. (2007), sobre os efeitos do cultivo consorciado de *S. cerevisiae* e bactérias do gênero *Bacillus* e *Lactobacillus*, indicaram que somente no cultivo consorciado com *L. fermentum* houve maior acidez total, pois, o cultivo consorciado com outras espécies não diferiram do tratamento controle (somente *S. cerevisiae*), assim os autores consideraram que nos cultivos mistos, os ácidos foram produzidos quase que exclusivamente por *S. cerevisiae*.

Como relata ALVES (2000), linhagens de leveduras produzem ácido succínico e ácido málico durante a fermentação, e mesmo que estes venham a ser reabsorvidos, contribuem para a acidificação do meio.

Ao final das fermentações, o pH, brix e quantidade de açúcares redutores residuais totais foram, respectivamente, em média, 3,55, 2,41 e 0,34%, e não apresentaram diferenças significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. A quantidade de açúcares redutores residuais e do Brix no final das fermentações foi alta, indicando que

esses açúcares não puderam ser aproveitados pelas leveduras, o que resultaria em prejuízos na produção de etanol.

A baixa qualidade da cana analisada na presente pesquisa, que em geral, apresentou valores inferiores aos preconizados por AMORIM et al. (2007) citado por RIPOLI & RIPOLI (2009), e o tempo médio de fermentação observado, 17 horas, alto quando comparado com o tempo ideal de 8 horas (AMORIM et al., 1996), confirmam a observação feita por CLARKE & LEGENDRE (1999), de que a matéria-prima de baixa qualidade reduz a velocidade do processamento na indústria, e com isso reduz também a qualidade e a quantidade dos produtos finais.

A quantidade de glicerol nos vinhos não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 9). O glicerol é produzido em maior quantidade que os demais co-produtos envolvidos no processo fermentativo e mesmo na ausência de condições estressantes, este álcool é produzido pela levedura como resultado da manutenção do balanço redox citosólico (NADH), particularmente sob condições anaeróbicas (NEIVOGT, 2008).

Tabela 9. Quantidade de glicerol nos vinhos para os tratamentos avaliados. (06/2011).
Cultivar SP80-3280.Guariba/SP. Safra 2010/2011.

Tratamentos	Glicerol (g 100 mL⁻¹)
imidaclopride	17,83A
etiprole	15,85A
α -cipermetrina	17,02A
tiametoxam+ λ -cialotrina	16,87A
biológico	16,78A
controle	17,65A
Teste F	0,514 ^{ns}
DMS	2,9171
C.V.	13,0

*Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferenciam entre si pelo teste LSD ($P > 0,05$).

V CONCLUSÕES

- Os inseticidas não foram eficientes no controle de adultos de *Sphenophorus levis*, em condições de campo.
- O inseticida tiametoxam+ λ -cialotrina provocou atraso na maturação da cana-de-açúcar, indicada através dos resultados obtidos para os parâmetros convencionais (Pol, Pureza, ART, AR e ATR), não-convencionais (acidez total e teores de nutrientes), e microbiológicos (número de micro-organismos totais, fungos e leveduras no mosto).
- Os micro-organismos contaminantes não afetaram as leveduras durante a fermentação etanólica.
- A aplicação do inseticida etiprole na cana-de-açúcar resultou em melhor qualidade da matéria-prima e menor impacto sobre a viabilidade dos brotos durante a fermentação etanólica.

VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIS, D. F. Agentes físicos, químicos e microbiológicos que afetam a fermentação alcoólica. In: Mutton, M. J. R.; Mutton, M. A. **Aguardente de cana-produção e qualidade**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p. 49-66.

ALCARDE, A.R.; WALDER, J.M.M.; HORII, J. Fermentation of irradiated sugarcane must. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.4, p. 677-681. 2003.

ALMEIDA, L. C. Bicudo da cana-de-açúcar. **Boletim Técnico C. T. C.**, Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, p. 1-3, 2005.

ALMEIDA, L. C.; STIENGEL, E.; ARRIGONI, E.B. Monitoramento e controle do bicudo da cana-de-açúcar, *Sphenophorus levis*. CTC, 2011. Disponível em: < www.ctc.com.br >. Acesso em: 01 de maio 2011.

ALVES, D.M.G. Respostas fisiológicas de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* frente ao potássio durante a fermentação alcoólica. Rio Claro. 118p. Tese (Doutorado) – Instituto de biociências de Rio Claro, UNESP, 2000.

AMORIM, H. V.; OLIVEIRA, A. J. Infecção na fermentação: como evitá-la. **Açúcar & Álcool**, São Paulo, v. 2, n. 5, p.12-18, 1982.

AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; ALVES, D.G. **Processos de produção de álcool – controle e monitoramento**. Piracicaba: FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP, 1996, 93p.

AMORIM, H. V. Nutrição mineral da levedura. Aspectos teóricos e práticos. In: SEMANA DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA “JAIME ROCHA DE ALMENIDA”, 1., 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ/USP, 1985.

ARRIGONI, E. **Perdas agrícolas e industriais ocasionadas por *Sphenophorus levis* (Coleoptera:Curculionidae), em condições de telado**. Piracicaba: CTEP, 2000. 11p. (Relatório Final de Experimento. Copersucar).

ARRIGONI, E.B. **Pragas de solo**. VII workshop tecnológico sobre pragas da cana-de-açúcar. Piracicaba, 2007. Disponível em: < www.apta.sp.gov.br >. Acesso em: 01 de maio 2011.

ARRIGONI, E.B. Importância do Bicudo da Cana-de-Açúcar e Riscos de Sua Introdução em Novas Áreas. 2012. Acesso em 22 de maio: <http://www.ctcanavieira.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=576:importancia-do-bicudo-da-cana-de-acucar-e-riscos-de-sua-introducao-em-novas-areas&catid=3:destaque&Itemid=1575>

BADILLA, F.F.; ALVES, S.B. Control del picudo de la cana de azúcar *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Col. Curculionidae) con *Beauveria bassiana* y *Beauveria brongniartii* en condiciones de laboratorio y campo. **Sugar Cane**, v.5, p.19-23, 1991.

BECKNER, M.; IVEY, M.L.; PHISTER, T.G. Microbial contamination of fuel ethanol fermentations. **Letters in Applied Microbiology**, v.53, n.5, p. 387-394. 2011.

BENNETT, A.; ROWE, R.I.; SOCH, N.; ECKHERT, C.D; Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. **Journal Nutrition**, v.129, p. 2236–2238. 1999.

CARLILE, M.; WATKINSON, S.; GOODAY, G. The Fungi, 2.ed. Hungary, **Elsevier**, 2001.

CASTRO, P.R.C. Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical. Piracicaba: ESALQ, Divisão de Biblioteca e Documentação, 2006. 46 p. (Série **Produtor Rural**, 32).

CHEN, E.J. & KAISER, C.A. Amino acids regulate the intracellular trafficking of the general amino acid permease of *Saccharomyces cerevisiae*. **Proc. Natl. Academic Science**, v. 99, p.14837–14842. 2002.

CLARKE, M. A.; LEGENDRE, B. R. Qualidade da cana-de-açúcar: impactos no rendimento do açúcar e fatores de qualidade. **STAB: açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n. 6, p. 36-40, 1999.

CONSECANA. Normas de Avaliação da Qualidade da Cana-de-açúcar. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/files/consecana/normasepreços.pdf> > Acesso em: 21 mar. 2008.

COPERSUCAR. **Amostragem e análise da cana-de-açúcar**. Piracicaba, 1980. 37p.

COPERSUCAR. **Manual de Controle Químico da Fermentação**. CTLA-2. São Paulo, 1988.

DEGASPARI, N.; BOTELHO, N.P.S.; ALMEIDA, L.C.; CASTILHO, H.J. Biologia de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) em dieta artificial e no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.6, p.556-558. 1987.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; GARCIA, V.; PARAZZI, V.J. Efeito de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (STÅL) (Hemíptera: Cercopidae) e de nematóides fitoparasitos na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.4, p. 609-614, dec. 2002.

DINARDO-MIRANDA, L.L. Nematóides e pragas de solo da cana-de-açúcar. **Encarte de informações agrônômicas**. N 110. Junho/2005.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; PIVETTA, J.P.; FRACASSO, J.V. Eficiência de Inseticidas no Controle de *Mahanarva fimbriolata* (STÅL) (Hemiptera: Cecopidae) e seus Efeitos sobre a Qualidade e Produtividade da Cana-de-Açúcar. **BioAssay**, Piracicaba, v.1, n.5. 2006.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; FRACASSO, J.V. Effect of insecticides applied at sugarcane planting on *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera; Curculionidae) control and on the yield of first two harvests. In: **International Society of Sugarcane Technologists**, 27. 2010, Vera Cruz – México, Proceedings... Vera Cruz: ISSCT, 2010. 5p. (CD-rom).

FERNANDES, A. C. Autorização da colheita da cana-de-açúcar. In.: SEMANA DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA “JAIME ROCHA DE ALMEIDA”, 4., 1985, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1985. p. 12-21.

FERNANDES, A.C. Cálculos na agroindústria de cana-de-açúcar. 2. Ed. Piracicaba, **STAB** – Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil, 240p. 2003.

FERREIRA, D.F. 2003. **Sisvar®**. Versão 4.6 (Build 61); Universidade Federal de Lavras, Brasil.

FOLIN,O.; CIOCALTEU,V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 73, n.2, p.627-50, 1927.

FRANZÉ, R.V. **Qualidade tecnológica e teores de nutrientes da cana-de-açúcar sob efeito de maturadores**. Jaboticabal, SP. 52p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2010.

GARCIA, D.B. **Danos causados por *Mahanarva fimbriolata* (STÅL) na qualidade da cana e no processo fermentativo**. Jaboticabal, SP. 85p. Dissertação (Mestrado em

Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2009.

GARCIA, D.B.; RAVANELI, G.C.; MADALENO, L.L.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J.R. Damages of spittlebug on sugarcane quality and fermentation process. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.67, n.5, p.555-561, set./out. 2010.

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

GUTIERREZ, L.E.; ANNICCHINO, A.V.K.O; LUCATTI, L.; SILVA, S.B.L. Aumento da produção de etanol a partir de melão de cana-deaçúcar pela adição de benzoato. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v.48, n.1, p. 1-21, 1991.

KAVANAGH K., Fungi: Biology and applications. New York: **John Wiley & Sons**, Ltd. p. 191–217. 2005.

LANE, J. H.; EYNON, L. Determination of reducing sugars by fehling solution with methylene blue indicator. **Journal of the Society of Chemistry Industry**. London, v.42, n.6, p.32-37. 1934.

LEE, S.S.; ROBINSON, F.M.; WONG, H.Y. Rapid determination of yeast viability. **Biotechnology Bioengineering Symposium**, n.11 (1981).

LEITE, L.G.; TAVARES, F.M.; BOTELHO, P.S.M.; BASTISTA FILHO, A.B.; POLANCZYK, R.A.; SCHMIDT, F.S. Eficiência de nematóides entomopatogênicos e

inseticidas químicos contra *Sphenophorus levis* e *Leucothyreus* sp. em cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n.1, p. 40-48, jan./mar. 2012.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

LUCENA, B.T.; SANTOS, B.M.; MOREIRA, J.L.; MOREIRA, A.P. NUNES, A.C. Diversity of lactic acid bacteria of the bioethanol process. **BMC Microbiology**, v.23, n.10, p. 298-298, nov. 2010.

MADALENO, L.L. **Infestação de *Mahanarva fimbriolata* e controle químico na qualidade da matéria-prima e clarificação do caldo de cana**. Jaboticabal, SP. 49p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2006.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: **Associação Brasileira para Pesquisa da Potássio e do Fósforo**, 1997. Cap.6, p.231-307: Metodologia para análise de elementos em material vegetal.

MAN, J.D.; ROGOSA, M.; SHARPE, M.E. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. **Journal of Applied Microbiology**, v.23, n.1, p. 130-135, april. 1960.

MARTINI, C.; MARGARIDO, L.A.C.; CECCATO-ANTONINI, S.R. Microbiological and physicochemical evaluations of juice extracted from different parts of sugar cane stalks from three varieties cultivated under organic management. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.3, p. 808-813, jul./set. 2010.

MARTINI, C.; VERRUMA-BERNARDI, M.R.; BORGES, M.T.M.R.; MARGARIDO, L.A.C.; CECCATO-ANTONINI, S.R. Yeast composition of sugar cane juice relation to plant varieties and seasonality. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.27, n.5, p. 710-717, set./out. 2011.

MOAT, A.G.; FOSTER, J.W.; SPECTOR, M.P.; Microbial physiology, **Wiley-Liss**, New York, 2002, 363.

MUTTON, M. J. R. & MUTTON, M. A.; Maturadores químicos em cana-de-açúcar: III – Efeitos na fermentação etanólica e microbiota do mosto. **8º Congresso Nacional da STAB**, Recife, p.452-457. 2002.

NARENDRANATH, N.V.; POWER, R. Effect of yeast inoculation rate on the metabolism of contaminating lactobacilli during fermentation of corn mash. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.31, n.1, p. 581-584. 2004.

NARENDRANATH, N.V.; POWER, R. Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. **Applied Environmental Microbiology**, v.71, n.5, p. 2239-2243, may. 2005.

NEVOIGT, E. Progress in metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiological Molecular Biological Review**, v.72, n.3, p. 379–412. 2008.

NOBRE, T.P.; HORII, J.; ALCARDE, A.R. Viabilidade celular de *Saccharomyces cerevisiae* cultivada em associação com bactérias contaminantes da fermentação alcoólica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.1, p. 20-25, jan./mar. 2007.

OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. Effects of nutritional factors on growth of *Lactobacillus fermentum* mixed with *Saccharomyces cerevisiae* in alcoholic fermentation. **Revista de Microbiologia**, v.28, p.25-31, 1997.

OLIVEIRA, M.C.F.; PAGNOCA, F.C. Aplicabilidade de meios seletivos empregados nas indústrias de cervejarias à detecção de leveduras selvagens em unidades sucroalcooleiras. In: **Simpósio Nacional de Fermentação**. São Lourenço: CNPq, 1988. p. 78-81.

ORTIZ-MUÑIZ, B.; CARVAJAL-ZARABAL, O.; TORRESTIANA-SANCHEZ, B.; AGUILAR-USCANGA, M.G. Kinetic study of ethanol production using *Saccharomyces cerevisiae* ITV-01 yeast isolated from sugarcane molasses. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v.85, n.10. 2010.

PATRASCU, E.; RAPEANU, G.; HOPULELE, T. Current approaches to efficient biotechnological production of ethanol. **Innovative Romanian Food Biotechnology**, p. 1-11. 2009.

PAYNE, J.H. **Operações unitárias na produção do açúcar de cana**. São Paulo: Nobel, 1989. 245p.

PEREIRA, M.A. **Tiametoxam em plantas d cana-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro: parâmetros de desenvolvimento e aspectos bioquímicos**. Piracicaba, SP. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, 2010.

PEREIRA, J.M.; FERNANDES. P.M.; VELOSO, V.R.S. Efeito fisiológico do inseticida Thiametoxam na cultura da cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p. 159-164, jan./mar. 2010a.

PEREIRA, J.M.; FERNANDES, P.M.; VELOSO, V.R.S.; SILVA, E.A. Thiametoxam no controle de *Mahanarva fimbriolata*, na produtividade e na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. **Agrociencia Uruguay**, v.14, n.2, p.26-32, jul./dec. 2010b.

PEREZ, G. K. **Eficiência de iscas tóxicas no controle de adultos de *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. USP, 2009.

POLANCZYK, R.A.; ALMEIDA, L.C.; PADULLA, L.; ALVES, S.B. Pragas de cana-de-açúcar x métodos alternativos de controle. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Edição n.33, jul./dez. 2004. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio33/cana.pdf>> Acesso em: 22 maio. 2012.

PRECETTI, A. A. C.; ARRIGONI, E. B. Aspectos bioecológicos e controle do besouro *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera, Curculionidae) em cana-de-açúcar. **Boletim Técnico COPERSUCAR**, São Paulo, 1990. p. 3-15.

PRESOTTI, L.E. Danos causados pela *Mahanarva fimbriolata* na cana-de-açúcar, na qualidade da matéria-prima e no xarope produzido. Jaboticabal, SP. 53p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2005.

RAVANELI, G.C.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J.R. Efeito do desponte e das épocas de colheita sobre parâmetros tecnológicos em cana-de-açúcar. **Científica**, Jaboticabal, v.32, n.2, p. 185-190. 2004.

RAVANELI, G.C. **Qualidade da matéria-prima, microbiota fermentativa e produção de etanol sob ataque de *Mahanarva fimbriolata* (STÅL) em cana-de-açúcar**.

Jaboticabal, SP. 78p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2010.

RIPOLI T. C. C.; RIPOLI M. L. C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. 2ª edição. Barros & Marques Editoração eletrônica. Piracicaba, 2009.

RODRIGUES, J.D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu, SP. 101p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias, UNESP, 1995.

RUDOLF A, KARHUMAA K, HAHN HÄGERDAL B. **Yeast Biotechnology: Diversity and Applications**. Vol. 3. Springer Netherlands; 2007. Ethanol production from traditional and emerging raw materials; pp. 489.

SCHENEIDER, F. **Sugar Analysis: ICUMSA methods**. Peterborough: International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis, 1979. 265p.

SILVA, F. C. **Pequenas indústrias rurais de cana-de-açúcar: melaço, rapadura e açúcar mascavo**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, 155p.:il. Color.

SILVA, J.A.; SILVA, F.L.H.; ALVES, R.R.N.; SANTANA, D.P. Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e Brix na produção dos metabólitos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. **Química Nova**, v.24, n 4. 2006.

SOARES, R.A.B. 2006. **Nível de dano econômico de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar em Goiás**. Goiânia, GO. 42p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, 2006.

SKINNER, K.A.; LEATHERS, T.D. Bacterial contaminants of fuel ethanol production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v.31. n.1, p. 401-408. 2004.

STEHLIK-TOMAS, V.; ZETIC, V.G.; STANZER, D.; GRBA, s.; VAHCIC, N. Zn, Cu and Mn enrichment in *S. cerevisiae*. **Food technology, biotechnology**. v. 42. 2004.

STUPIELLO, J.P.; HORII.,J. Condução da fermentação alcoólica. **Saccharum**, v. 17,p.43-46, 1981.

TAVARES, F. M.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; ALMEIDA, L.C.; GOULART, T.M. Efeitos sinérgicos de combinações entre nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) e inseticidas químicos na mortalidade de *Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae). **BioAssay**, Piracicaba, v. 4, n. 7, p. 1-10, 2009.

TERAN. F. O.; PRECETTI, A. A. C. M. Flutuação populacional e outros aspectos bioecológicos de *Sphenophorus levis* e *Metamasius hemipterus* (Col., Curculionidae); pragas da cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 8., 1983, Brasília, **Resumos...** Brasília: 1983. p. 005.

VILLELA, G.G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Técnicas e experimentos de bioquímica**. Rio de Janeiro. Guanabara-Koogan S/A, 552p, 1973.