

## Manejo da Broca-Gigante da Cana-de-Açúcar (*Telchin licus*) (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) no Nordeste do Brasil



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 198**

# **Manejo da Broca-Gigante da Cana-de-Açúcar (*Telchin licus*) (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) no Nordeste do Brasil**

Aldomário Santo Negrison Junior

José Ivo Baldani

Maria Fátima Grossi de Sá

Maria Cristina Mattar da Silva

Leonardo Lima Pepino de Macedo

Fernando Campos de Assis Fonseca

Carla Ruth de Carvalho Barbosa Negrison

Elio Cesar Guzzo

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Aracaju, SE

2015

Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Av. Beira Mar, 3250, CEP 49025-040, Aracaju, SE  
Fone: (79) 4009-1300  
Fax: (79) 4009-1369  
www.embrapa.com.br  
www.embrapa.br/fale-conosco

## Comitê Local de Publicações

### Comitê Local de Publicações da Embrapa Tabuleiros Costeiros

Presidente: *Marcelo Ferreira Fernandes*

Secretária-executiva: *Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Membros: *Ana Veruska Cruz da Silva Muniz, Carlos Alberto da Silva, Elio Cesar Guzzo, Hymerson Costa Azevedo, João Gomes da Costa, Josué Francisco da Silva Junior, Julio Roberto de Araujo Amorim, Viviane Talamini e Walane Maria Pereira de Mello Ivo*

Supervisão editorial: *Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Normalização bibliográfica: *Josete Cunha Melo*

Editoração eletrônica: *Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Foto da capa: *Elio Cesar Guzzo*

### 1ª Edição

*On-line* (2015)

#### **Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Tabuleiros Costeiros

---

Manejo da broca-gigante da cana-de-açúcar (*Telchin licus*) (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) no nordeste do Brasil / Aldomário Santo Negrisolí Júnior ... [et al.] – Aracaju : Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015.  
50 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1678-1953; 198).

Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br>>

1. Cana-de-açúcar. 2. Doença. 3. Praga. 4. Broca-gigante. I. Negrisolí Júnior, Aldomário Santo. II. Baldani, José Ivo. III. Grossi de Sá, Maria Fátima. IV. Silva, Maria Cristina Mattar da. V. Macedo, Leonardo Lima Pepino de. VI. Fonseca, Fernando Campos de Assis. VII. Negrisolí, Carla Ruth de Carvalho. VIII. Guzzo, Elio Cesar. IX. Série.

CDD 633. Ed. 21

©Embrapa 2015

# **Autores**

## **Aldomário Santo Negrisoli Junior**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitossanidade/Entomologia, pesquisador Unidade de Pesquisa de Rio Largo (UEP-Rio Largo) da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Rio Largo, AL

## **José Ivo Baldani**

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Soropédica, RJ

## **Maria Fátima Grossi de Sá**

Biomédica, doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

## **Maria Cristina Mattar da Silva**

Bióloga, doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

## **Leonardo Lima Pepino de Macedo**

Biólogo, doutor em Biotecnologia Molecular, analista A da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

## **Fernando Campos de Assis Fonseca**

Biólogo, doutor em Biologia Molecular, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Recursos Genéticos, Brasília, DF

## **Elio Cesar Guzzo**

Biólogo, doutor em Entomologia, pesquisador da Unidade de Pesquisa de Rio Largo (UEP-Rio Largo) da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Rio Largo, AL

## **Carla Ruth de Carvalho Barbosa Negrisoli**

Bióloga, doutora em Fitossanidade/Entomologia, bolsista da Unidade de Pesquisa de Rio Largo (UEP-Rio Largo) da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Rio Largo, AL

# Apresentação

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, apresentando área plantada de 10,8 milhões de hectares (safra 2014/2015) e produção em torno de 632 milhões de toneladas. Nesse contexto, a broca-gigante da cana-de-açúcar *Telchin licus* (Drury) é considerada a principal praga no Nordeste, onde sua ocorrência é conhecida há mais de um século.

Essa praga vem ganhando destaque, pois desde 2007 foi registrada na Região Centro-Sul, mais especificamente no estado de São Paulo, o principal produtor nacional, sendo o seu potencial de dano e de disseminação nesta região ainda desconhecido. Sabe-se que esta praga provoca, no Nordeste, uma considerável redução na produção, podendo atingir perdas de até 25% da produção.

O controle da broca-gigante da cana, por sua vez, é limitado ao uso de apenas um inseticida, o qual em muitos casos é ineficiente devido à bioecologia do inseto, sendo a principal forma de controle a catação manual das lagartas nas touceiras atacadas e dos adultos na época de maior incidência, táticas onerosas e pouco eficientes.

Esta obra tem como objetivo abordar os métodos de controle atuais, bem como o desenvolvimento de novas estratégias, como a avaliação de outros inseticidas (ingredientes ativos) e suas formas de aplicação, o desenvolvimento da cana transgênica e o controle biológico com bactérias endofíticas e parasitoides de ovos.

*Manoel Moacir Costa Macêdo*

Chefe-geral da Embrapa Tabuleiros Costeiros

# Sumário

<b>Manejo da Broca-gigante da Cana-de-açúcar (<i>Telchin licus</i>) (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) no Nordeste do Brasil .....</b>	<b>6</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>6</b>
<b>Bioecologia, danos e prejuízos da broca-gigante da cana <i>Telchin licus</i> .....</b>	<b>7</b>
Monitoramento e nível de dano .....	13
Manejo da broca-gigante da cana-de-açúcar .....	16
Controle mecânico .....	16
Controle químico .....	18
Controle biológico .....	20
Controle por resistência de plantas.....	22
Controle legislativo .....	22
<b>Novas perspectivas de manejo da broca-gigante.....</b>	<b>23</b>
Uso de bactérias endofíticas no controle de <i>T. licus</i> .....	23
Controle varietal .....	26
<b>Considerações finais e perspectivas.....</b>	<b>33</b>
<b>Referências .....</b>	<b>35</b>

# Manejo da Broca-Gigante da Cana-de-Açúcar (*Telchin licus*) (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) no Nordeste do Brasil

*Aldomário Santo Negrisoli Junior*

*José Ivo Baldani*

*Maria Fátima Grossi de Sá*

*Leonardo Lima Pepino de Macedo*

*Fernando Campos de Assis Fonseca*

*Elio Cesar Guzzo*

*Carla Ruth de Carvalho Barbosa Negrisoli*

## Introdução

Estudos indicam que em 2023/2024, haverá a necessidade de o Brasil atingir uma área plantada de 10,5 milhões de hectares e um processamento de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) da ordem de 862 milhões de toneladas para atender o crescimento do consumo e das exportações de açúcar e etanol. Por outro lado, após a crise financeira global de 2008, os investimentos no setor cessaram e a expansão dos canaviais foi comprometida, em especial pela redução abrupta do crédito, que era abundante até então. Por esse motivo, houve queda de produtividade, causada, dentre outros motivos, pela redução nos tratamentos culturais com os canaviais, incluindo o controle fitossanitário (FIESP, 2013). Dessa forma, o controle da broca-gigante com uso de mais de uma técnica, além dos agrotóxicos, é importante e deve ser considerado no âmbito da pesquisa, desenvolvimento e inovação, com possibilidade de geração de novas tecnologias que irão atender essa demanda de mercado.

As brocas da ordem Lepidoptera são importantes pragas agrícolas que causam danos à cana-de-açúcar em todo o mundo (FONSECA et al., 2015). Nesse contexto, a broca-gigante *Telchin licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) é considerada a principal praga da cana-

de-açúcar no Nordeste do Brasil (SILVA-BRANDÃO et al., 2013). Inicialmente restrita às regiões Norte e Nordeste, a broca-gigante da cana foi relatada recentemente no Sudeste do Brasil, no estado de São Paulo (ALMEIDA et al., 2007), a principal área produtora de cana do país, elevando preocupações sobre seu controle (SILVA-BRANDÃO et al., 2013).

Acredita-se que as populações de determinadas pragas possam aumentar devido à colheita de cana crua (MACEDO, 2005; ARRIGONI, 2011) principalmente devido à deposição da palha no solo, acarretando mudança do microclima do solo e, por consequência, da sua biota, apesar da falta de estudos sobre este tema (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2013). Uma dessas pragas é a broca-gigante da cana, *T. licus* (ALMEIDA et al., 2007). A colheita da cana sem a queima pode beneficiar a praga, principalmente pela eliminação do fogo, que é responsável pela destruição dos adultos (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2013) e ovos. Além disso, a palha que permanece no campo após a colheita de cana crua dificulta o controle de pragas, que no Nordeste do Brasil é realizado pela catação de lagartas e pupas na parte subterrânea das plantas, imediatamente após a colheita (DINARDO-MIRANDA, 2008). Portanto, a palha depositada tornaria difícil identificar a soqueira infestada (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2013).

## **Bioecologia, danos e prejuízos da broca-gigante da cana *Telchin licus***

A broca-gigante da cana *T. licus* é parte de um complexo que inclui as espécies *T. syphax* (Fabricius) e *T. atymnius* (Dalman), sendo *Erythrocastnia* e *Castniomera* consideradas como sinônimos de *Telchin* (GONZALEZ; COCK, 2004; MORAES; DUARTE, 2009). A diferenciação destas espécies é frequentemente feita com base no padrão de cor da asa e distribuição geográfica (MORAES; DUARTE, 2009; MORAES et al., 2010), embora estas características não são sempre suficientes para proporcionar uma visão clara de qual espécie se trata o exemplar, ou ainda para produzir uma classificação coerente em alguns casos (SILVA-BRANDÃO et al., 2013).

Silva-Brandão et al. (2013), utilizando códigos de barra (*barcodes*) para investigar a origem genética de *T. licus* no estado de São Paulo, conseguiram delimitar as espécies deste complexo através dos genes mitocondriais. Apesar de mais estudos serem necessários a fim de consolidar essa técnica de identificação, que auxiliaria a morfológica, estudos a respeito de biogeografia do complexo *Telchin* devem ser encorajados, tendo em vista que a identificação correta de uma espécie-praga é essencial para prevenir, detectar e responder à invasão em uma nova área (DOUGLAS et al., 2009). Sabe-se que erros na identificação de uma praga podem dificultar as tentativas para a sua conservação ou controle (SILVA-BRANDÃO et al., 2013). Por consequência, o impreciso reconhecimento de espécies pode levar ao emprego de métodos errados de controle de pragas (RUGMAN-JONES et al., 2010) e respostas divergentes (RÍOS-DÍEZ; SALDAMANDO-BENJUMEA, 2011), e até ao surgimento de resistência aos agrotóxicos (BICKFORD et al., 2007).

Apesar de haver estudos sobre a criação da broca-gigante da cana em laboratório (WADT, 2012), até o momento, não se estabeleceu um método viável de criação deste inseto (FONSECA et al., 2015), o que dificulta os avanços no conhecimento de sua bioecologia. Os estudos sobre a resistência de plantas, controle biológico, controle microbiano, dentre outras táticas de controle preconizadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP), dependem da criação dos insetos em laboratório, bem como da correta identificação, tanto da praga como de seus inimigos naturais, que muitas das vezes são criados no hospedeiro natural (PARRA et al., 2002). Dessa forma, não resta dúvida que, enquanto esse impasse não for resolvido, os avanços nessa área tendem a ser mais lentos, pois há a constante necessidade de buscas de ovos e lagartas no campo, que muitas vezes apresentam problemas de sanidade e injúrias, além da sazonalidade do inseto devida à dificuldade de coleta nos canaviais nos estágios fenológicos mais avançados.

Originária da região amazônica, *T. licus* encontra-se amplamente disseminada pelo continente americano, tendo sido observada na Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana, Guiana Francesa, México, Panamá, Peru, Suriname, Trinidad e Tobago e Venezuela, além do Brasil (MENDONÇA et al., 1996), sendo talvez o castnídeo

mais comumente encontrado (GONZÁLES, 2003; GONZÁLES; COCK, 2004). Normalmente, está associado a musáceas (GONZÁLES, 2003; MENDONÇA et al., 1996), mas ataca também bromeliáceas, orquidáceas e, principalmente, cana-de-açúcar (MENDONÇA et al., 1996). Em nosso país, ocorre nos estados de Alagoas, Amapá, Amazonas, Bahia, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte São Paulo e Sergipe (MENDONÇA et al., 1996; ANSELMINI, 2008). Acredita-se que *T. licus* tenha sido introduzida em áreas de produção de cana-de-açúcar em São Paulo por meio de transporte de plantas ornamentais (ALMEIDA et al., 2007) e que, atualmente, já habite os canaviais do sul de Minas Gerais, Paraná e Mato Grosso do Sul (PAIVA; ROBERTO, 2014).

Os adultos de *T. licus* são mariposas de tamanho médio, que alcançam 3,5 cm de comprimento e 9 cm de envergadura alar (Figura 1). As asas são de coloração escura, tendo em cada uma das anteriores uma faixa transversal branca, além de uma fileira de manchas também brancas na região apical. Cada asa posterior possui também uma faixa branca em diagonal, que vai se alargando à medida em que se aproxima da margem interna, além de uma fileira com 7 manchas avermelhadas na margem externa. Os danos, no entanto, são causados pelas formas larvais, que são de coloração branca, com uma única mancha castanha, de formato irregular no pronoto, podendo chegar a medir 8 cm de comprimento e 1,2 cm de largura (Figura 2) (GALLO et al., 2002; GONZÁLES, 2003; MENDONÇA et al., 1996).

Foto: Elio César Guzzo



**Figura 1.** Adulto da broca-gigante da cana *Telchin licus*.

Fotos: Elio César Guzzo



**Figura 2.** Larga da broca-gigante da cana *Telchin licus*.

Os ovos da broca-gigante da cana possuem estrutura poliédrica, medindo aproximadamente 4 mm de comprimento, com forma semelhante a carambola, apresentando cinco arestas salientes. A coloração dos ovos varia de verde a marrom (Figura 3) (ALMEIDA; ARRIGONI, 2009).



Foto: Elio Cesar Guzzo

**Figura 3.** Ovos da broca-gigante da cana *Telchin licus*.

Ao eclodirem, as lagartas penetram no solo e iniciam a perfuração na base da planta, cavando uma galeria ascendente no interior do colmo, chegando a destruir, durante o seu desenvolvimento, os 2 ou 3 primeiros entrenós da cana e, em casos extremos formando galerias de até 1 m de comprimento. Ao completar o seu desenvolvimento, a lagarta cava um orifício na base do colmo para a saída do futuro adulto e constrói um casulo com fibras da cana, transformando-se em pupa no seu interior (Figura 4). Ao emergirem, os adultos copulam e as fêmeas fazem a postura dos ovos, reiniciando o ciclo (GALLO et al., 2002; MENDONÇA et al., 1996).

Fotos: Elio César Guzzo



**Figura 4.** Orifício de saída para adulto e pupa da broca-gigante da cana.

Após o corte da cana-de-açúcar, as lagartas permanecem abrigadas na parte mais profunda da touceira e alimentam-se dos rizomas, dos restolhos e das raízes, debilitando e reduzindo seu poder germinativo. Na cana recém-rebrotada, especialmente das soqueiras, as lagartas saem da touceira e atacam os rebentos, penetrando alguns centímetros em seus tecidos, destruindo a gema vegetativa, causando o secamento e, algumas vezes, o apodrecimento da gema apical, sintoma conhecido como “coração morto” (GALLO et al., 2002; LINARES et al., 1996; MENDONÇA et al., 1996; GUAGLIUMI, 1972/73), acarretando na morte de muitas touceiras e em uma diminuição de produção de até 19 toneladas por hectare, em áreas de cana crua de Alagoas, por exemplo (SANTIAGO, 2005), ou de até 65% na produção das áreas infestadas (LINARES et al., 1996).

As lagartas que fazem galerias no interior dos colmos, pelo seu tamanho avantajado, podem causar a destruição total dos mesmos (Figura 5) (DINARDO-MIRANDA, 2008). No momento do corte, as lagartas localizadas na parte superior dos colmos podem ser levadas para a indústria (o que aumenta o grau de impureza do caldo) ou para áreas de plantio, no caso de cana semente.

As perdas provocadas pela praga dependem, dentre outros fatores, do nível de infestação e da variedade (DINARDO-MIRANDA, 2008). Os danos da broca-gigante também acarretam perdas na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar como matéria prima, havendo reduções de 0,22% da quantidade de açúcar a ser extraído do caldo, 0,12% na pureza do caldo devido à contaminação por bactérias e 0,18% da produção de álcool, bem como acréscimos de 0,21% de fibra e 0,76% de açúcares redutores, a cada 1% de colmos atacados (VIVEIROS, 1989).



Foto: Elio Cesar Guzzo

**Figura 5.** Colmo de cana-de-açúcar após ataque da broca-gigante.

## Monitoramento e nível de dano

A determinação do nível populacional da broca-gigante geralmente é feita apenas na colheita nas unidades produtoras (usinas), preferencialmente 24 horas após o corte, quando as lagartas ainda estão presentes nas touceiras tamponando as galerias nos colmos com fibra e fios de seda (DINARDO-MIRANDA, 2008). Cerca de três meses após a colheita, o levantamento dos danos pode ser feito contabilizando-se o número de plantas com sintoma de “coração morto” (ALMEIDA et al., 2008).

Guagliumi (1972/73) sugere utilizar o mesmo sistema de amostragem empregado para as brocas do gênero *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae), amostrando-se 100 colmos inteiros de cana por hectare para determinação da porcentagem de canas com perfurações. Para Almeida et al. (2008), o monitoramento desta praga deve ser realizado nas áreas suspeitas, avaliando-se 18 touceiras de cana por hectare. Estes autores recomendam priorizar áreas próximas de viveiros de plantas ornamentais e áreas de reforma, com atenção aos tipos de danos ocorridos nas touceiras e também às formas biológicas encontradas, devendo os dados serem registrados em fichas de campo.

Contudo, como atualmente não existe ainda um consenso sobre a metodologia de amostragem e monitoramento desta praga, em muitas usinas, para a amostragem e quantificação do ataque, são considerados cinco pontos amostrais por talhão (1 ha), sendo que em cada ponto (2 m lineares) é contado o total de colmos nas touceiras e o total daqueles atacados. Com esses dados, é calculado o índice de infestação (I.I.), obtido pela seguinte equação:  $(\text{total de colmos atacados} / \text{total de colmos}) \times 100$ . É importante ressaltar que, como os danos causados pela broca-gigante são semelhantes aos causados pelas brocas do gênero *Diatraea*, a diferenciação deve ser feita a fim de não incorrer em erro na amostragem. Esta diferenciação, por sua vez, pode ser feita pelo diâmetro das galerias formadas pela broca-gigante, que são maiores que das outras brocas (Figura 6).



Foto: Elio Cesar Guzzo

**Figura 6.** Diferenciação entre uma galeria da broca-comum *Diatraea* sp. (à esquerda) e uma da broca-gigante (ao centro).

Apesar de, em algumas unidades produtores de cana-de-açúcar, haver a catação de adultos da praga por meio de redes entomológicas, esse trabalho é feito somente nas épocas do ano com maior incidência (de novembro a janeiro, em Alagoas), com o objetivo de supressão da praga, e não de monitoramento dos adultos. Assim, alguns estudos a respeito do isolamento de possíveis feromônios sexuais associados a *T. licus* vêm sendo feitos (REBOUÇAS et al., 1999; LIMA et al., 2002; SANTANA, 2010), porém ainda sem sucesso. Mais recentemente, Wadt (2012) sugere que, além da comunicação química (por meio de feromônio), outros fatores estejam envolvidos no comportamento de acasalamento de *T. licus*, como a atração visual, a movimentação do inseto, e a presença de luz natural (sol). Dessa forma, ainda não há perspectiva, em curto prazo, do desenvolvimento de iscas atrativas aos adultos da broca-gigante, restando apenas o levantamento das lagartas no campo, como forma de monitoramento.

O nível de dano econômico da broca-gigante é desconhecido e o manejo nas lavouras de cana-de-açúcar geralmente é feito somente nas

áreas com maior infestação, sendo este o critério de escolha dentre as áreas atacadas pela praga, pois como a tática de controle principal ainda é o mecânico, com elevado custo de mão-de-obra, torna-se inviável economicamente o controle de todas as áreas cultivadas. Vale salientar que, como não há nível de dano determinado, o controle, nas regiões produtoras do Nordeste, é iniciado no momento em que a praga é detectada em determinada área.

Dessa forma, estudos com objetivo de desenvolver métodos comprovados para o monitoramento da broca-gigante ao longo da safra, com a definição do número de amostras a serem tomadas, do tipo de caminhamento, etc., e por consequência, a determinação dos níveis de dano econômico e de controle, devem ser encorajados, a fim de fornecer subsídios para a tomada de decisão de se controlar ou não esta praga, a exemplo do que ocorre com as outras pragas da cultura da cana-de-açúcar.

## **Manejo da broca-gigante da cana-de-açúcar**

Diferentes métodos de controle vêm sendo estudados, com o intuito de auxiliar no manejo da broca-gigante, diminuindo assim o uso de agrotóxicos. Como exemplos, têm-se o uso de inimigos naturais, o manejo cultural, e ainda de forma incipiente, o uso de semioquímicos. Aliado ao uso dos semioquímicos, os inimigos naturais, que mantêm os insetos-praga em níveis populacionais abaixo do nível de dano, tornaram-se uma das alternativas mais promissoras para o controle. Quando bem empregado, pode tornar-se um método eficiente, duradouro e seletivo que favoreça a qualidade da matéria-prima, com um custo mais baixo e acessível aos produtores.

### **Controle mecânico**

O método mecânico tem sido o mais empregado para o controle da broca-gigante, por ocasião da colheita da cana, momento onde é possível, além de quantificar o nível de dano, selecionar os colmos recém-cortados (tocos) e touceiras atacadas. O controle consiste na catação manual de lagartas e pupas, utilizando-se diferentes modelos de enxadecos (Figura 7) para levantar a base das touceiras (Figura 8).



Fotos: Aldomário Santo Negrisoni

**Figura 7.** Modelo de enxadeco usado para levantar a touceira da cana para extrair a broca. A) vista frontal; B) vista lateral.



Foto: Aldomário Santo Negrisoni

**Figura 8.** Trabalhador rural utilizando enxadeco para levantar a touceira.

Também são usados espetos (também chamados de “chuços”), que são introduzidos nos orifícios das galerias para matar as lagartas no seu interior (Figura 9), e redes entomológicas para a captura dos adultos, sendo que todos estes métodos são muito laboriosos e onerosos, e não têm sido eficientes.



Foto: Elio Cesar Guzzo

**Figura 9.** Trabalhador rural utilizando espeto para matar a lagarta dentro da galeria, logo após o corte.

## Controle químico

Historicamente, inseticidas sintéticos, os quais são normalmente aplicados via aérea no controle da broca-comum *D. saccharalis*, apresentam moderado sucesso (WHITE et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2014). Devido ao comportamento da broca-gigante de se abrigar e se alimentar dentro da planta, a utilização de agrotóxicos no seu controle é ineficaz e requer trabalho manual (devido às aplicações tópicas, nos orifícios de dano), que é demorado e aumenta o custo de produção. Além disso, repetitivas aplicações podem contribuir para a contaminação ambiental e gerar problemas de saúde (PIMENTEL, 2009; CHRISMAN et al., 2009). Ainda, nos últimos anos, a sociedade vem

criando consciência da importância da preservação do meio ambiente e com a demanda cada vez maior de alimentos saudáveis, torna-se constante a busca de alternativas ecológicas nos sistemas de produção.

No caso da cultura da cana-de-açúcar, onde o controle desta praga é feito por meio da renovação de talhões mais infestados, preparo de solo com um bom revolvimento, uso de material propagativo sadio e idôneo, catação manual de lagartas e adultos da praga, destruição mecânica das lagartas, dentre outras táticas (GALLO et al., 2002; MENDONÇA et al., 1996), ainda há a necessidade do desenvolvimento de novas táticas de controle mais eficazes e menos onerosas.

Nesse sentido, a exemplo do que ocorre no controle de outras pragas na cultura da cana-de-açúcar, o agrotóxico é uma alternativa a ser considerada, por demandar menor mão-de-obra e maior operacionalidade, fatores primordiais em monoculturas extensivas. Contudo, no caso da broca-gigante, existe somente um produto registrado atualmente, à base do ingrediente ativo rinaxipir, cujo nome comercial é Altacor® (DuPont do Brasil S.A.) (AGROFIT, 2015). Contudo, esse fato condiciona o uso massivo de somente um produto, podendo acarretar ao longo do tempo, no surgimento de populações de insetos resistentes a este ingrediente ativo, fazendo-se necessária a busca por novos ingredientes ativos eficazes no controle desta praga.

Quanto à aplicação desse único inseticida registrado e de possíveis outros ingredientes ativos que possam surgir como alternativas, outro fato importante deve ser considerado: a tecnologia de aplicação destes produtos no campo. No caso do inseticida Altacor®, o fabricante recomenda sua aplicação sobre a soqueira na dose de 450 g do produto comercial por hectare e volume de calda de 50 L por hectare (baixa dose). Nesse caso, é recomendado na bula que sejam utilizados equipamentos acoplados na colhedeira mecânica, no momento da colheita. Contudo, em algumas unidades produtoras de cana-de-açúcar no Nordeste, onde essa tecnologia vem sendo aplicada, o controle não tem sido satisfatório.

O fato de o inseticida registrado não atender, em alguns casos, a eficiência mínima no controle da praga, pode ser explicado,

primeiramente, por pouco se conhecer sobre a bioecologia do inseto. Informações acerca do ciclo biológico, dinâmica populacional e distribuição espaço-temporal da praga são condições primordiais quando se pretende estabelecer uma estratégia de controle químico de uma praga. Aliado a isso, pode haver variação da população da broca-gigante em função da variedade, da idade, do estado nutricional (e estresse hídrico) da cana-de-açúcar, bem como outros fatores. Observações preliminares de campo, ainda sem validação científica, indicam, por exemplo, que as áreas com maior incidência da broca-gigante são aquelas com irrigação. Além disso, como nas áreas de renovação da cultura há intenso revolvimento do solo, a população da broca-gigante diminui drasticamente. Assim, tem-se observado que em cana-planta e nas primeiras safras de determinada área, a infestação da broca-gigante é baixa e, a cada safra, há uma tendência de aumento. Outro aspecto importante é a capacidade da lagarta tamponar a galeria, dificultando a penetração do inseticida (ou bioinseticida, se for o caso), ainda mais se o modo de ação deste for por contato ou ingestão, como é o caso do rinaxipir. Assim, faz-se necessária, por exemplo, a avaliação de inseticidas sistêmicos que tenham mobilidade na planta, atingindo o inseto-alvo, como já é feito com as cigarrinhas *Mahanarva fimbriolata* e *M. posticata* nesta mesma cultura. É indiscutível a necessidade de estudos que procurem esclarecer qual é o melhor momento e forma de controle químico da broca-gigante, procurando otimizar os esforços e, assim, evitando os possíveis insucessos.

## Controle biológico

Os estudos com o fungo patogênico a insetos *Beauveria bassiana* para o controle de *T. licus* iniciaram-se na década de 1980 (SILVA JUNIOR et al., 2008). Relata-se que os testes feitos em laboratório sempre demonstraram possibilidade de sua utilização no controle biológico da broca-gigante (VILAS BOAS et al., 1983), porém, os resultados dos testes em condições de campo, sempre foram insatisfatórios (MARQUES et al., 1984, 1986). Em estudos mais recentes, Figueredo et al. (2002) verificaram que a virulência de *B. bassiana* varia conforme o isolado, provocando mortalidade entre 53,3 e 83,3%, enquanto

que, para o fungo *Metarhizium anisopliae*, o percentual de lagartas mortas variou entre 43,3% e 80%, demonstrando seu potencial para o controle desse inseto.

Contudo, tendo em vista o hábito das lagartas de tamparem a galeria logo após o corte da cana, a eficiência do controle com *B. bassiana* é passível de sucesso desde que a aplicação seja feita no momento adequado, ou seja, sobre as touceiras recém-cortadas (MARQUES, 1982; GARCIA; BOTELHO, 2009). Há ainda a possibilidade da ação do fungo sobre os ovos remanescentes, com aplicação na água de irrigação (GUAGLIUMI, 1973/73).

Além dos fungos, existe possibilidade de serem encontrados outros agentes de controle biológico. Guagliumi (1973/73) ressalta que, como *T. licus* é de origem florestal, seria conveniente a busca de inimigos naturais em seu ambiente de origem (matas e florestas), bem como nas savanas onde são encontradas plantas hospedeiras (*Heliconia*, *Paspalum*, etc.). Há relatos da ação das moscas parasitoides *Palpozenillia palpalis* (Aldrich) (Diptera: Tachinidae) e *Emdenimyia myersi*<sup>1</sup> (Curran) (Diptera: Sarcophagidae) (GUAGLIUMI, 1973/73; OJEDA, 1994) e da ação de formigas *Solenopsis* spp. (Hymenoptera: Formicidae), que chegam a predar 90% dos ovos de *T. licus*, no Panamá (WAY; KHOO, 1992), o que comprova a existência de outros inimigos naturais para a praga. No Brasil também foram observadas as espécies de formigas *Camponotus crassus* Mayr, *Crematogaster victima* Smith, *Ectatomma tuberculatum* (Olivier), *Linepithema neotropicum* Wild, *Pheidole radoszkowskii* Mayr, e *Wasmannia auropunctata* (Roger) predando ovos da broca-gigante (GUZZO et al., 2010).

Para a avaliação do desempenho de inimigos naturais, é necessário que se estabeleça a criação de pelo menos duas espécies de insetos em laboratório, quais sejam o inimigo natural e a praga. Também,

---

<sup>1</sup>Nota dos autores: todas as publicações anteriores a esta, referindo-se a *Emdenimyia myersi* como inimigo natural de *T. licus*, trazem o erro de grafia do gênero. Assim, ao invés de se referirem como *Emdenimyia*, referem-se como *Emdenimyia*, erro originado na primeira citação desta espécie em Guagliumi 1972/73, e repetido por vários autores subsequentes.

é necessária uma padronização muito precisa dos insetos utilizados nos bioensaios, o que se consegue mais facilmente com o uso de dietas artificiais (PARRA, 2001). Conforme dito anteriormente, até o momento, porém, não existe nenhuma dieta artificial e nenhuma metodologia estabelecida para a criação de *T. licus* em laboratório.

Sendo assim, trabalhos que visem estabelecer um método de criação para *T. licus* em laboratório, bem como identificar e avaliar a eficiência de inimigos naturais são de suma importância para o crescimento sustentável da cadeia produtiva da cana-de-açúcar.

## Controle por resistência de plantas

Embora todas as variedades sejam atacadas pela praga, os índices de infestação, representados pela porcentagem de colmos atacados diferem em função da variedade cultivada, como observado em levantamentos feitos durante cinco safras em uma unidade produtora do Nordeste (DINARDO-MIRANDA, 2008). Foi verificado ainda que as variedades mais atacadas foram CO997 e SP716163, e as menos atacadas foram RB763710 e RB842021. Canuto et al. (2011) testaram oito variedades de cana-de-açúcar sob cultivo orgânico e observaram que as variedades mais resistentes ao ataque de *T. licus* foram aquelas que possuíam maior grau de rigidez na constituição estrutural do colmo, ou seja, maior teor de lignina.

## Controle legislativo

Apesar de nunca ter sido aplicado na prática, Guagliumi (1972/73) cita a possibilidade do uso de medidas legislativas para o controle da broca-gigante. Para isso, o autor recomenda que o material vegetal (cana-de-açúcar) transportado de áreas infestadas para áreas não infestadas deveria sofrer tratamento térmico ou químico, principalmente no caso de material utilizado como forma de propagação (cana semente), a exemplo do que ocorre para as doenças como o raquitismo da soqueira e a fusariose. Esse fato ganha maior importância, tendo em vista a recente introdução desta praga centenária da cultura canavieira do Nordeste para o Sudeste do país, a exemplo do que ocorreu também

com a cigarrinha da folha *M. posticata*, que foi introduzida no Nordeste na década de 1960, vinda de cana semente (com palha) do Rio de Janeiro (MENDONÇA, 2005).

Dessa maneira, apesar de, no passado recente, o trânsito de material vegetal sempre ter sido feito sem o rigor do controle fitossanitário, não há dúvida de que muito se tem a avançar no que diz respeito ao controle legislativo, tanto da broca-gigante e das outras pragas da cana-de-açúcar que ocorrem no Brasil, quanto daquelas que são ameaças iminentes de serem introduzidas em território nacional. As ações fiscalizatórias mais efetivas nas barreiras fitossanitárias, bem como uma legislação específica rigorosa, são os primeiros passos que devem ser dados a fim de programar uma política de governo efetiva e presente, em todas as suas esferas de atuação.

## **Novas perspectivas de manejo da broca-gigante**

Devido à necessidade do desenvolvimento de novas alternativas de controle da broca-gigante, tendo em vista a sua complexidade biológica e da cultura em questão, a Embrapa vem buscando ampliar o leque de métodos de controle desta importante praga, com estudos nas áreas de controle biológico e com variedades resistentes. Assim, serão apresentadas a seguir duas das linhas de estudos promissoras para esse fim.

### **Uso de bactérias endofíticas no controle de *T. licus***

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria Gram positiva formadora de esporos e conhecida por sua atividade bioinseticida. A atividade patogênica sobre os insetos é possível por conta de proteínas Cry expressas pela bactéria na fase de esporulação (SCHNEPF et al., 1998), normalmente codificadas por diferentes classes de genes *cry* (*cry1A*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry2A*, *cry2A*, etc) que estão presentes em megaplasmídeos (GITAHY et al., 2007).

Apesar de os bioinseticidas representarem somente 2% do total de inseticidas comercializados no mundo (BRAVO et al., 2011), *B. thuringiensis* vem sendo o inseticida microbiano de maior sucesso desse mercado, representando cerca de 70% desse total (TAKORE, 2006). O volume de recursos movimentado chega ao redor de 210 milhões de dólares (GLARE et al., 2012).

As vantagens dos inseticidas à base de *B. thuringiensis* devem-se ao fato de não serem tóxicos aos animais e humanos, serem altamente específicos para classes de insetos, proporcionarem um baixo risco de desenvolvimento de resistência nos insetos e serem biodegradáveis (SANAHUJA et al., 2011). Entretanto, algumas desvantagens relacionadas ao uso em formulações (pó ou líquido) têm sido apontadas: ser efetivo somente nos órgãos da planta onde o inseto está presente, ser mais efetivo sobre larvas novas, ser rapidamente inativado por raios UV, calor e pH extremos, ser suscetível a proteases presentes em exsudados foliares, ser facilmente removida da superfície da folha por ventos e chuvas e, portanto, necessitar ser reaplicado para produzir o efeito esperado (SANAHUJA et al., 2011).

Em todo o mundo, já foram isoladas milhares de estirpes de *B. thuringiensis*, as quais, na sua maioria, produzem uma ou mais delta-endotoxinas com atividade específica às diversas ordens de insetos, mais comumente para a ordem Lepidoptera (SCHNEPF et al., 1998; MONNERAT et al., 2007). Assim, *B. thuringiensis* é mais conhecida por ser uma bactéria presente nos solos, porém existe um número considerável de pesquisas demonstrando que a bactéria coloniza a rizosfera e filoplano (RAYMOND et al., 2010; CASTILLO et al., 2013) e também o interior de tecidos vegetais, nesses últimos casos são considerados microrganismos endofíticos (MONNERAT et al., 2009; FRANCIS et al., 2010; SOUZA et al., 2013; ARGÔLO-FILHO; LOGUERCIO, 2013).

Microrganismos endofíticos são todos os microrganismos capazes de colonizar, em alguma fase do seu ciclo de vida, os tecidos internos de vegetais, sem causar danos aparentes à planta hospedeira, nem

tampouco formarem estruturas externas visíveis (AZEVEDO et al., 2000; HALLMANN et al., 1997). O fato de bactérias serem capazes de colonizar endofiticamente os tecidos das plantas confere vantagens sobre outros microrganismos, pois podem sobreviver em um ambiente mais uniforme, além de serem menos afetadas pela temperatura, potencial osmótico e radiação ultravioleta (LODEWYCKX et al., 2002). Portanto, essas características os qualificam com grande potencial para uso como bioinseticidas naturais para o controle de fitopatógenos (HALLMANN et al., 1997; COOMBS et al., 2004; MELNICK et al., 2008) e de insetos (ARGÔLO-FILHO; LOGUERCIO, 2013).

A literatura tem relatado a ocorrência de bactérias endofíticas formadoras de esporos (*Brevibacillus* sp.) em colmos de plantas de cana cultivadas no estado do Paraná (MAGNANI et al., 2010), das espécies *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* em variedades de cana cultivadas em Cuba (VELÁZQUEZ et al., 2008), e de uma estirpe de *B. thuringiensis* isolada de cana-de-açúcar no estado de São Paulo (SUZUKI et al., 2008, citado por ARGÔLO-FILHO; LOGUERCIO, 2014). Recentemente, uma alta diversidade de espécies de *Bacillus*, incluindo *B. thuringiensis*, foi detectada no líquido do apoplasto de diversas variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Brasil (MELO et al., no prelo).

Não há relatos na literatura sobre o uso da espécie *B. thuringiensis* como endófito natural (inoculante) para controle de pragas em cana-de-açúcar. Existem, porém, trabalhos que fazem uso de bactérias endofíticas como vetores para expressar genes *cry* visando o controle de pragas. Como exemplo, temos *Herbaspirillum seropedicae* transformada com o gene *cry1Ac7* (DOWNING et al., 2000) e *Gluconacetobacter diazotrophicus* com o gene *cry1Ac* (RAPULANA; BOUWER, 2013), ambos para o controle de *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), uma broca que ataca cana-de-açúcar e não ocorre no Brasil. Outros exemplos incluem a bactéria endofítica *Clavibacter xyli*, subespécie *cynodontis* contendo o gene *cry1Ac* para o controle de outra broca que não está presente nas lavouras nacionais, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) (TOMASINO et al., 1995) e, mais recentemente, *Pantoea agglomerans* transformada com o

gene *cry1Ac7* para o controle de *D. saccharalis* (QUECINE et al., 2014) que, por sua vez, é a que causa mais prejuízos na lavoura canavieira brasileira (DINARDO-MIRANDA et al., 2012).

## Controle varietal

### Melhoramento clássico convencional

O desenvolvimento de novas variedades de cana-de-açúcar por meio de intercruzamentos é uma maneira clássica de contribuir para maiores índices de produção, com redução de danos causados à natureza e com aumento da resistência a doenças e insetos-praga. Porém, o melhoramento genético convencional é um processo laborioso e dependente de fatores como época de florescimento, viabilidade do pólen da variedade doadora, compatibilidade genética ou citoplasmática, entre outros (CESNIK; MIOCQUE, 2004). Associado a esses fatores, para algumas espécies do gênero *Saccharum*, a obtenção de características agrônômicas desejáveis por meio de cruzamento torna-se praticamente inviável, devido à variação do número de cromossomos (gerando indivíduos triploides e/ou aneuploides) e também à falta de germoplasma que possa ser utilizado para a introgressão de resistência ao ataque de insetos (LAKSHMANAN et al., 2005; WENG et al., 2011).

Pelo que se conhece, ainda não foram descritas variedades de cana-de-açúcar resistentes a insetos, obtidas por meio de melhoramento genético convencional, o que justifica a busca de métodos alternativos e eficientes para o combate ao inseto *T. licus*.

### Transformação genética de plantas de cana-de-açúcar para resistência à broca-gigante da cana

A aplicação da transgenia em cana-de-açúcar é um método alternativo e promissor para a introdução de características de interesse e diminuição de perdas da produção nas lavouras. Embora não exista liberação comercial de plantas geneticamente modificadas (GM) de cana-de-açúcar, vários estudos científicos descreveram a obtenção de plantas transgênicas contendo genes que conferem diferentes tipos

de resistência: aos herbicidas (CHOWDHURY; VASIL, 1993; GALLO-MEAGHER; IRVINE, 1996; MANICKAVASAGAM et al., 2004), ao vírus do mosaico (BUTTERFIELD et al., 2002), ao vírus Fiji (MCQUALTER et al., 2004), à bactéria causadora da escaldadura das folhas (ZHANG et al., 1999) e ao estresse hídrico (MOLINARI et al., 2007; ZHANG et al., 2006). Adicionalmente, foram descritas plantas transgênicas de cana-de-açúcar resistentes a insetos (especificamente a *D. saccharalis*), expressando as toxinas *cry1Ab* (BRAGA et al., 2003), *cry1Ab* truncada (ARENCIBIA et al., 1999; ARENCIBIA et al., 1997) e *cry1Ac* (WENG et al., 2011). Foram também geradas plantas GM para resistência a insetos expressando inibidores de proteinases (CHRISTY et al., 2009; FALCO; SILVA-FILHO, 2003) e lectinas (SETAMOU et al., 2002).

Os métodos mais utilizados para a transformação genética de plantas de cana-de-açúcar são o uso da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* e da técnica de biobalística. A transformação mediada por agrobactéria produz linhagens transgênicas com baixo número de cópias do DNA transferido (T-DNA), permitindo transferir longas cadeias de DNA, com pequeno risco de quebra durante a inserção, e permitindo maior estabilidade de integração do DNA no genoma ao longo das gerações. Porém, no caso da cana-de-açúcar e de monocotiledôneas em geral, a aplicação de agrobactéria é restringida a algumas poucas variedades e mostra baixa eficiência (JACKSON et al., 2013).

A técnica de biobalística é a mais utilizada para o desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar GM. Neste caso, a introdução do DNA no genoma da planta não depende do genótipo a ser utilizado, mas necessita, principalmente, do desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos e de regeneração de plantas (BASNAYAKE et al., 2011; IJAZ et al., 2012). Com a evolução no desenvolvimento e na otimização dos protocolos de transformação genética, associados à identificação de variedades mais responsivas à cultura de tecidos e à regeneração, o tempo para obtenção de eventos de cana-de-açúcar GM poderá ser reduzido.

## Superexpressão de toxinas *Bt*

De modo geral, a adoção de variedades comerciais GM expressando as toxinas *cry* é o método biotecnológico de controle de insetos-praga mais difundido mundialmente, o mais eficaz, e o que tem gerado resultados mais sustentáveis, apesar da possibilidade da quebra de resistência pelo inseto (KATHAGE; QAIM, 2012; JAMES, 2014).

A identificação de genes que codificam toxinas ativas e com potencial para o controle da broca-gigante é o primeiro passo para o processo de melhoramento genético de uma cultura. Neste contexto, os pesquisadores da Embrapa buscam a produção e seleção de moléculas *Bt* com potencial aplicação na transgenia de plantas de cana-de-açúcar. Grossi de Sa et al. (2007) isolaram e caracterizaram o gene *cry1Ia12*, a partir da cepa S811 de *B. thuringiensis*. Este gene foi utilizado para a evolução molecular dirigida *in vitro* (combinando as técnicas de *DNA shuffling* e *Phage display*), tendo resultado na produção de novas moléculas *cry1Ia12* mutantes, selecionadas devido à atividade tóxica aumentada (de 2,5 a 3,5 vezes maior, comparadas à molécula original) (CRAVEIRO et al., 2010; GOMES JÚNIOR et al., 2012; LUCENA et al., 2014). A obtenção *in vitro* de moléculas variantes e ativas resultou em seu patenteamento, o que representa a geração de ativos biotecnológicos com perspectivas para uso no desenvolvimento de cana-de-açúcar GM resistente à broca-gigante da cana.

Visando à realização de bioensaios com lagartas da broca-gigante da cana e à validação de moléculas, foi desenvolvido um aparato para o isolamento de ovos viáveis de *T. licus* e posterior criação de lagartas, em nível de laboratório (GROSSI DE SA et al., 2013). A invenção patentária possibilitou a padronização de lagartas neonatas e seu uso em bioensaios, com exposição ao agente entomotóxico. Nesse sistema, as lagartas são individualizadas, já que não podem conviver com as outras devido ao hábito canibal, e são alimentadas em discos de esponjas, embebidos com dieta artificial líquida. Utilizando este sistema, as toxinas *cry* expressas em estirpes recombinantes de *B. thuringiensis*, transformadas com o vetor pHT315 (ARANTES; LERECLUS, 1991) contendo separadamente os genes *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac* e *cry2Aa*,

foram avaliadas quanto aos seus efeitos sobre lagartas neonatas de *T. licus*. Os dados de bioensaios indicaram a  $CL_{50}$  (concentração letal em que ocorre 50% de mortalidade dos insetos) para as toxinas testadas (Tabela 1) (FONSECA, 2013). Estes resultados comprovaram o que já vem sendo observado com outras espécies de insetos da ordem Lepidoptera. As toxinas da família *cry1A* são as que apresentam a melhor atividade inseticida contra as lagartas, como observado para mandarová-do-fumo *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae), lagarta-da-couve *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) (GILLILAND et al., 2002), traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (MONNERAT et al., 1999) e broca-da-cana *D. saccharalis* (WU et al., 2009).

**Tabela 1.** Determinação da  $CL_{50}$  para as toxinas *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac* e *cry2Aa* em bioensaios contra lagartas neonatas da broca-gigante da cana *Telchin licus*.

Protoxina	$CL_{50}$ (ng/mL)	Intervalo de confiança 95%
<i>cry1Aa</i>	297,3	173,7 – 476,9
<i>cry1Ab</i>	238,0	135,1 – 386,2
<i>cry1Ac</i>	139,3	73,2 – 234,4
<i>cry2Aa</i>	1.353,3	851,2 – 2.268,1

Fonte: FONSECA, 2013.

Os insetos podem, no decorrer do tempo, tornar-se resistentes ao efeito tóxico das plantas GM, principalmente devido à não adoção de áreas de refúgio (TABASHNIK et al., 2008). Neste cenário, faz-se cada vez mais necessária a adoção da estratégia de piramidação de fatores entomotóxicos que apresentem diferentes mecanismos de ação, para aplicação no desenvolvimento de variedades GM, visando à manutenção da resistência contra insetos-praga por um maior período possível.

#### Silenciamento gênico para controle de insetos praga via RNA interferente (RNAi)

Atualmente, uma das estratégias mais estudadas, devido à sua potencialidade, flexibilidade, adaptabilidade e eficácia demonstrada em

plantas GM, é o silenciamento gênico, via tecnologia de RNAi (KIM et al., 2015).

RNA interferente (RNAi) é um mecanismo de silenciamento gênico pós-transcricional, o qual é iniciado pela introdução de RNA de fita dupla (dsRNA) dentro de uma célula (BAULCOMBE, 2004; HANNON, 2002). Dentro da célula, o RNA fita dupla é clivado em pequenos fragmentos (siRNAs - do inglês: *small interfering RNA*). Estes se anelam no RNA mensageiro alvo, desencadeando um processo de degradação de RNAs mensageiros (mRNAs) homólogos, causando uma diminuição na síntese da proteína correspondente e, conseqüentemente, perda de função da proteína-alvo em algum processo biológico vital para o organismo-alvo (MEISTER; TUSCHL, 2004). Em insetos, o processo de silenciamento pode causar retardo no desenvolvimento ou até mesmo sua morte. Devido ao potencial do mecanismo de RNAi em mediar o silenciamento de genes essenciais em insetos, há um crescente interesse para promover a aplicabilidade da tecnologia de RNAi, visando o controle de insetos-praga, seja como um bioinseticida de aplicação tradicional ou *in planta* (expresso em plantas GM) (LUNDGREN; DUAN, 2013; BURAND; HUNTER, 2013). Entre outras vantagens, a tecnologia de RNAi permite o uso de apenas fragmentos de sequências, tendo em vista que a tradução de uma proteína não é necessária, o que minimiza as preocupações com biossegurança e alergenicidade (PRICE; GATEHOUSE, 2008), e pode representar uma forma de controle mais eficaz do que as demais mencionadas neste documento.

O sucesso da aplicação da tecnologia de RNAi está na seleção de sequências nucleotídicas alvo-específicas. Neste contexto, a crescente decifração de genomas de insetos é uma iniciativa relevante, uma vez que permite a análise da genômica funcional e a escolha de genes-alvo, envolvidos na cascata de vias essenciais para o desenvolvimento e reprodução. A inativação da expressão de genes alvo-específicos pode levar à interrupção de determinada via do sistema biológico, resultando, finalmente, na redução populacional do inseto praga. Existem cerca de 40 genomas de insetos sequenciados e disponíveis. Destes, relacionados a pragas agrícolas, estão incluídos o besouro-castanho

*Tribolium castaneum* (Herbt) (Coleoptera: Tenebrionidae) (RICHARDS et al., 2008) e o pulgão-da-ervilha *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae) (RICHARDS et al., 2010).

Recentemente, o transcriptoma de *T. licus* foi sequenciado e disponibilizado (FONSECA et al., 2015). O sequenciamento de ESTs (*Expressed Sequence Tags*) representa uma alternativa eficiente ao sequenciamento do genoma completo, provendo informações de expressão de genes em determinadas condições. Assim, utilizando a tecnologia de sequenciamento massal 454 para as diferentes fases de desenvolvimento da broca-gigante da cana-de-açúcar, foram gerados mais de 650.000 *reads*, que após a montagem *de novo*, resultaram em 23.824 *contigs*. Destes, 40% mostraram similaridades com sequências do bicho da seda *Bombyx mori* (L.) (Lepidoptera: Bombycidae). Sequências de duas moléculas relacionadas ao sistema digestivo do inseto foram identificadas nesse transcriptoma. As análises *in silico*, comparando estas sequências com as de outros organismos, resultaram na seleção de regiões não conservadas (específicas para *T. licus*), as quais foram consideradas para o desenho da fita dupla de RNAs (dsRNA) e validação em bioensaios.

Em bioensaios com insetos, três formas principais de administração de dsRNA vêm sendo utilizadas: 1) Microinjeção, que permite que o dsRNA seja entregue diretamente no tecido desejado ou na hemocele, que irá levar para diferentes partes do corpo do inseto, através do sistema circulatório; 2) Imersão (*soaking*), que consiste em colocar o inseto imerso em uma solução contendo dsRNA, que será então absorvido pela cutícula; 3) Dieta, podendo ser realizada a partir de expressão *in vitro* e entregue diretamente na boca do inseto ou misturada com a dieta. Além disso, outra maneira de entrega pela dieta é a expressão de dsRNA em células de *E. coli* HT115, que não sintetizam a enzima RNase III, que cliva os dsRNAs. A adição da bactéria à dieta serve como uma forma de proteger o dsRNA da ação do sistema digestivo do inseto, até atingir a célula alvo (KAMATH et al., 2001).

Em bioensaios de microinjeção realizados com lagartas neonatas da broca-gigante da cana, observou-se alta sensibilidade das mesmas ao

procedimento. Todas as tentativas de injeção, utilizando diferentes locais na região dorsal do inseto, resultaram em um ferimento, que extravasa hemolinfa, causando 100% de mortalidade. A melhor opção foi a microinjeção (Figura 10) na região ventral anterior, próxima ao primeiro segmento do corpo do inseto, que reduziu a mortalidade para no máximo 10% (FONSECA, 2013). Nos estudos realizados com as lagartas de *T. licus*, foram testadas diversas formas de introdução dos dsRNAs no inseto, assim como diferentes alvos, diferentes tamanhos e diferentes concentrações de dsRNAs. Os resultados indicaram que os experimentos precisam ser otimizados para o inseto-alvo.



Foto: Fernando Campos de Assis

**Figura 10.** Detalhe do procedimento de microinjeção na região ventral anterior, em lagartas da broca-gigante da cana *Telchin licus*, com 20-30 dias após a eclosão.

Fonte: Fonseca, 2013.

Destaca-se que existe muita discussão sobre o mecanismo de funcionamento de RNAi em lepidópteros. Não está excluída a possibilidade de o silenciamento ocorrer de maneira diferente. Os dados disponíveis até o momento não permitem concluir se os dsRNAs estão conseguindo atingir o alvo desejado ou se são degradados no organismo dos insetos. Outro fator limitante da técnica diz respeito à constância com que as larvas ingerem o dsRNA. É possível que seja necessário um tempo maior de ingestão para que os efeitos do silenciamento comecem a aparecer. Estudos de microinjeção, utilizando microscopia, poderão contribuir para o aperfeiçoamento da técnica. Outra possibilidade de

estudar o efeito do RNAi a partir de captação constante, e por um tempo prolongado, é a utilização de plantas transgênicas, o que vem sendo realizado com a broca-gigante da cana-de-açúcar.

## Considerações finais e perspectivas

Apesar de a broca-gigante da cana ser reconhecida como praga há mais de um século no Brasil, muitos ainda são os desafios e possibilidades para que o manejo integrado da broca-gigante seja estabelecido em bases sólidas, trazendo a possibilidade ao setor produtivo da garantia da minimização das perdas ocasionadas por esta importante praga.

Com o surgimento de novas possibilidades de controle da broca-gigante da cana, a tendência é que algumas das técnicas utilizadas atualmente, principalmente a mecânica, de alto custo de mão-de-obra a baixa eficiência, sejam substituídas por novas ferramentas mais eficientes e viáveis economicamente. O próprio controle químico que, dependendo do uso, pode passar de grande aliado a um sério problema, deve ser aperfeiçoado, principalmente com a oferta de novos ingredientes ativos que, uma vez utilizados em rotação, podem contribuir no controle desta praga. Além disso, há a necessidade de inovação na aplicação dos produtos no campo como, por exemplo, utilizando iscas atrativas e novas tecnologias de aplicação dos produtos (no ambiente críptico das lagartas). Em consonância com isso tudo, ainda está o controle biológico, tão bem sucedido com *D. saccharalis*, mas que carece de muita pesquisa ainda para a broca-gigante.

Um exemplo desta inovação é a exploração de bactérias endofíticas pertencentes à espécie *B. thuringiensis*, capazes de produzir delta-endotoxinas letais às lagartas de *T. licus*, que surge como uma nova alternativa que poderá contribuir para amenizar os efeitos ambientais e reduzir os custos de produção da cultura da cana-de-açúcar. Cabe ressaltar que hoje esta cultura ocupa uma área aproximada de 8 milhões de hectares, e é um dos principais alicerces da economia brasileira através da produção de açúcar, etanol, e geração de energia, não somente com o bagaço como tradicionalmente utilizado mas pela

vertente da cana-energia, por meio de variedades com maior produção de fibra em relação à sacarose.

Os estudos aqui abordados indicam que a broca-gigante da cana é altamente sensível a algumas classes de entomotoxinas Bt, sendo moléculas que podem ser aplicadas em programas de transformação genética de cana-de-açúcar. Para evitar o surgimento de populações de insetos resistentes às toxinas *cry*, é recomendado o uso de vetores de expressão otimizados para a obtenção de níveis de expressão elevados da proteína *cry* e, de forma piramidada com outras estratégias, como o uso de silenciamento gênico. A tecnologia do RNAi possui um alto potencial para o controle de insetos-praga. No entanto, para o sucesso dessa tecnologia no controle de broca-gigante da cana, vários desafios ainda necessitam ser vencidos. Existe a possibilidade de degradação ou neutralização do dsRNA por mecanismos de defesa, presentes na hemolinfa do inseto. Assim, novas abordagens de administração de dsRNA, por via oral, estão sendo estudadas, e também com o dsRNA estruturalmente mais estável e protegido contra a degradação por nucleases intestinais.

## Referências

AGUNBIADE, T. A.; SUN, W.; COATES, B. S.; DJOUAKA, R.; TAMÒ, M. Development of reference transcriptomes for the major field insect pests of cowpea: A toolbox for insect pest management approaches in West Africa. **Plos One**, California, USA, v. 8, n. 22, e79929, nov. 2013.

ALMEIDA, L. C. de; ARRIGONI, E. de B. Parâmetros biológicos da broca gigante da cana-de-açúcar, *Telchin licus licus* (Drury, 1773). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 84, p. 56-61, 2009.

ALMEIDA, L. C.; DIAS FILHO, M. M.; ARRIGONI, E. B. Primeira ocorrência de *Telchin licus* (Drury, 1773), a broca gigante da cana-de-açúcar, no Estado de São Paulo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 82, p. 223-226, 2007.

ANSELMINI, R. Migração da broca gigante causa inquietação. **Jornal Cana**. Tecnologia agropecuária. Ribeirão Preto, abr. p. 87. 2008.

ARANTES, O.; LERECLUS, D. Construction of cloning vectors for *Bacillus thuringiensis*. **Gene**, Amsterdam, NE, v. 108, p. 115-119, 1991.

ARENCIBIA, A.; CARMONA, E.; CORNIDE, M.; CASTIGLIONE, S.; O'RELLY, J.; CHINEA, A.; ORAMAS, P.; SALA, F. Somaclonal variation in insect resistant transgenic sugarcane (*Saccharum hybrid*) plants produced by cell electroporation. **Transgenic Research**, Philadelphia, USA, v. 8, p. 349-360, 1999.

ARENCIBIA, A.; VÁZQUEZ, R.; PRIETO, D.; TÉLLEZ, P.; CARMONA, E.; COEGO, A.; HERNÁNDEZ, L.; DE LA RIVA, G.; SELMAN-HOUSEIN, G. Transgenic sugarcane plants resistant to stem borer attack. **Molecular Breeding**, Dordrecht, NE, v. 3, p. 247-255, 1997.

ARGÔLO-FILHO, R. C.; LOGUERCIO, L. L. *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. **Insects**, v. 5, p. 62-91, 2013.

ARRIGONI, E. B. New pests of the new system. **Revista Opiniões**, Ribeirão Preto, v. 28, p. 65-67, 2011.

AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JUNIOR.; W.; PEREIRA, J. O.; DE ARAÚJO, W. L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso, CHI, v. 3, p. 15-16, 2000.

BASNAYAKE, S. W.; MOYLE, R.; BIRCH, R. G. Embryogenic callus proliferation and regeneration conditions for genetic transformation of diverse sugarcane cultivars. **Plant Cell Report**, Strasbourg, FRA, v. 30, n. 3, p. 439-448, 2011.

BAULCOMBE, D. RNA silencing in plants. **Nature**, London, GBR, v. 431, p. 356-363, 2004.

BEHERE, G. T.; TAY, W. T.; RUSSELL, D. A.; HECKEL, D. G.; APPLETON, B. R.; KRANTHI, K. R.; BATTERHAM, P. Mitochondrial DNA analysis of field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and of its relationship to *H. zea*. **BMC Evolutionary Biology**, London, GBR, v. 7, 117, 2007.

BICKFORD, D.; LOHMAN, D. J.; SODHI, N. S.; NG, P. K. L.; MEIER, R.; WINKER, K.; INGRAM, K.K.; DAS, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, Amsterdam, NE, v. 22, p. 148-155, 2007.

BRAGA, D. P. V.; ARRIGONI, E. D. B.; SILVA-FILHO, M. C.; ULIAN, E. C. Expression of the Cry1Ab Protein in Genetically Modified Sugarcane for the Control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of New Seeds**, Manhattan, USA, v. 5, n. 2-3, p. 209-221, 2003.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, GBR, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.

BURAND, J. P.; HUNTER, W. B. RNAi: Future in insect management. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, USA, Suplemento, p. S68-S74, 2013.

BUTTERFIELD, K.; IRVINE, E.; VALDEZ GARZA, M.; MIRKOV, E. Inheritance and segregation of virus and herbicide resistance transgenes in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, USA, v. 104, n. 5, p. 797-803, 2002.

CANUTO, D. M. F.; SANTOS, J. C.; LIMA, P. A. V.; NA SCIMENTO, W. D. F. do; PINHEIRO, M. P. M. A.; SILVA, J. V.; SILVA, E. S. Resistência de diferentes cultivares de cana-de-açúcar a broca gigante sob cultivo orgânico no agreste alagoano. In: REUNIÃO SUL-BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO, 13., 2011, Piracicaba. **Programa e livros de resumos...** Piracicaba: ESALQ, 2011. p. 160-162.

CASTILLO, H. F.; AGUILAR, C.; REYES, C. F.; MORALES, G. G.; HERRERA, R. R. Biological control of root pathogens by plant-growth promoting *Bacillus* spp. In: SOLONESKI, S. (Ed.). **Weed and Pest Control: conventional and New Challenges**. Rijeka, CRO: InTech, 2013. cap. 4. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/weed-and-pest-control-conventional-and-new-challenges/biological-control-of-root-pathogens-by-plant-growth-promoting-bacillus-spp>, Acesso em: 30 out. 2015.

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da cana-de-açúcar**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 307 p.

CHOWDHURY, M. K. U.; VASIL, I. K. Molecular analysis of plants regenerated from embryogenic cultures of hybrid sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, USA, v. 86, n. 2-3, p. 181-188, 1993.

CHRISMAN, J. D. R.; KOIFMAN, S.; DE NOVAES, S. P., SARCINELLI, P.; MOREIRA, J. C.; KOIFMAN, R. J. Pesticide sales and adult male cancer mortality in Brazil. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, Jena, GER, v. 212, p. 310-321, 2009.

CHRISTY, L. A.; ARVINTH, S.; SARAVANAKUMAR, M.; KANCHANA, M.; MUKUNTHAN, N.; SRIKANTH, J.; THOMAS, G.; SUBRAMONIAN, N. Engineering sugarcane cultivars with bovine pancreatic trypsin inhibitor (aprotinin) gene for protection against top borer (*Scirpophaga excerptalis* Walker). **Plant Cell Report**, Strasbourg, FRA, v. 28, n. 2, p. 175-184, 2009.

COOMBS, J. T.; MICHELSEN, P. P.; FRANCO, C. M. Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. **Biological Control**, San Diego, USA, v. 29, n. 3, p. 359-366, 2004.

CRAVEIRO, K. I. C.; GOMES JUNIOR, J. E.; SILVA, M. C. M.; MACEDO, L. L. P.; LUCENA, W. A.; SILVA, M. S.; ANTONINO DE SOUZA JUNIOR, J. D.; OLIVEIRA, G. R.; QUEZADO DE MAGALHAES, M. T.; SANTIAGO, A. D.; GROSSI-DE-SA, M. F. Variant Cry1Ia toxins generated by DNA shuffling are active against sugarcane giant borer. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, NE, v. 145, n. 3, p. 215-221, 2010.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. Sugarcane straw and the populations of pests and nematodes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, p. 305-310, 2013.

DINARDO-MIRANDA, L. L., FRACASSO, J. V., DOS ANJOS, I. A., GARCIA, J.; COSTA, V. P. da. Influência da infestação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) sobre parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 71, n. 3, p. 342-345, 2012.

DINARDO-MIRANDA, L. L. Pragas In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Ed.). **Cana-de-açúcar = Sugarcane**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2008. 349-404 p. cap. 17.

DOUGLAS, H.; DANG, P. T.; GILL, B. D.; HUBER, J.; MASON, P. G.; PARKER, D. J.; SINCLAIR, B. J. The importance of taxonomy in responses to invasive alien species. **Biodiversity**, Oxford, GB, v. 10, p. 92-99, 2009.

DOWNING, K. J.; LESLIE, G.; THOMSON, J. A. Biocontrol of the sugarcane borer *Eldana saccharina* by expression of the *Bacillus thuringiensis* cry1Ac7 and *Serratia marcescens* chiA Genes in sugarcane-associated bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, USA, v. 66, n. 7, p. 2804-2810, 2000.

FALCO, M. C.; SILVA-FILHO, M. C. Expression of soybean proteinase inhibitors in transgenic sugarcane plants: effects on natural defense against *Diatraea saccharalis*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, FRA, v. 41, n. 8, p. 761-766, 2003.

FIESP. **Outlook Fiesp 2023**: projeções para o agronegócio brasileiro. São Paulo: FIESP, 2013. p. 115.

FIGUEREDO, M. F. S.; MARQUES, E. J.; LIMA, R. O. R.; OLIVEIRA, J. V. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. E *Metarhizium anisopliae* Sorok. Contra a broca gigante da cana-de-açúcar *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 397-403, 2002.

FONSECA, F. C. A. **Aplicação de estratégias moleculares visando o controle da broca-gigante da cana-de-açúcar (*Telchin licus licus*, Drury 1770) (Lepidoptera: Castiniidae)**. 2013. Tese (Doutorado) - Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.

FONSECA, F. C. A.; FIRMINO, A. A. P.; MACEDO, L. L. P.; COELHO, R. R.; SOUSA JÚNIOR, J. D. A.; SILVA-JUNIOR, O. B.; TOGAWA, R. C.; PAPPAS JUNIOR.; G. J., GÓIS, L. A. B.; SILVA, M. C. M.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. Sugarcane giant borer transcriptome analysis and identification of genes related to digestion. **Plos One**, Calofornia, USA, v. 10, n. 2, 23 fev. 2015.

FRANCIS, I.; HOLSTERS, M.; VEREECKE, D. The Gram-positive side of plant-microbe interactions. **Environmental Microbiology**, Washington, USA, v. 12, p. 1-12, 2010.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GALLO-MEAGHER, M.; IRVINE, J. E. Herbicide resistant transgenic sugarcane plants containing the bar gene. **Crop Science**, Madison, USA, v. 36, n. 5, p. 1367-1374, 1996.

GARCIA, J. F., BOTELHO, P. S. M. Broca gigante da cana-de-açúcar. **Revista Protec**, Piracicaba, edição especial, 17-20, 2009.

GILLILAND, A.; CHAMBERS, C. E.; BONE, E. J.; ELLAR, D. J. Role of *Bacillus thuringiensis* Cry1 delta endotoxin binding in determining potency during lepidopteran larval development. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, USA, v. 68, n. 4, p. 1509-1515, 2002.

GITAHY, P. M.; DESOUZA, M. T.; MONNERAT, R. G.; ARRIGONI, E. B.; BALDANI, J. I. A Brazilian *Bacillus thuringiensis* strain highly active to sugarcane borer. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, p. 1-7, 2007.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, NE, v. 30, n. 5, p. 250-258, 2012.

GOMES JÚNIOR, J. E. **Toxinas Cry**: potencial uso no controle da broca gigante da cana-de-açúcar (*Telchin licus licus*). 2012. Tese (Doutorado) - Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2012.

GONZÁLES, J. M.; COCK, M. J. W. A synopsis of the Castniidae (Lepidoptera) of Trinidad and Tobago. **Zootaxa**, Auckland, NZL, v. 762, p. 1-19, 2004.

- GONZÁLES, J. M. Castniinae (Lepidoptera: Castniidae) from Venezuela. V: *Castnia* Fabricius and *Telchin* (Hübner). **Boletín del Centro Investigaciones Biológicas**, Maracaibo, VEN, v. 37, p. 191-201, 2003.
- GONZALEZ, J. M.; COCK, M. J. W. A synopsis of the Castniidae (Lepidoptera) of Trinidad and Tobago. **Zootaxa**, Auckland, NZL, v. 762, p. 1-19, 2004.
- GROSSI-DE-SA, M. F.; QUEZADO DE MAGALHAES, M.; SILVA, M. S.; SILVA, S. M.; DIAS, S. C.; NAKASU, E. Y.; BRUNETTA, P. S.; OLIVEIRA, G. R.; NETO, O. B.; SAMPAIO DE OLIVEIRA, R.; SOARES, L. H.; AYUB, M. A.; SIQUEIRA, H. A.; FIGUEIRA, E. L. Susceptibility of *Anthonomus grandis* (cotton boll weevil) and *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm) to a cry1Ia-type toxin from a Brazilian *Bacillus thuringiensis* strain. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Madison, USA, v. 40, n. 5, p. 773-82, 2007.
- GUAGLIUMI, P. **Pragas da cana-de-açúcar no nordeste do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e do Alcool, 1972/73. 622 p. (Coleção Canavieira).
- GUZZO, E. C.; SOUZA, L. A.; JATOBÁ, D. G.; DIAS, N. S.; BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; DELABIE, J. H. C. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) predando ovos de *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) em canaviais no Estado de Alagoas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 23., 2010, Natal. **Anais...** Natal: Sociedade Entomológica do Brasil, 2010.
- HANNON, G. J. RNA interference. **Nature**, London, GBR, v. 418, p. 244-251, 2002.
- HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, CAN, v. 43, n. 10, p. 895-914, 1997.
- IJAZ, S.; RANA, I. A.; KHAN, I. A.; SALEEM, M. Establishment of an in vitro regeneration system for genetic transformation of selected

sugarcane genotypes. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 1, p. 512-530, 2012.

JACKSON, M.; ANDERSON, D.; BIRCH, R. Comparison of *Agrobacterium* and particle bombardment using whole plasmid or minimal cassette for production of high-expressing, low-copy transgenic plants. **Transgenic Research**, Philadelphia, USA, v. 22, n. 1, p. 143-151, 2013.

JAMES, C. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops**. Ithaca, NY, USA: International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), 24 p., 2014.

KAMATH, R. S.; MARTINEZ-CAMPOS, M.; ZIPPERLEN, P.; FRASER, A. G.; AHRINGER, J. Effectiveness of specific RNA-mediated interference through ingested double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. **Genome Biology**, Cambridge, UK, v. 2, n. 1, 2000.

KATHAGE, J.; QAIM, M. Economic impacts and impact dynamics of Bt (*Bacillus thuringiensis*) cotton in India. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, USA, v. 109, n. 29, p. 11652-11656, 2012.

KIM, Y. H.; ISSA, M. S.; COOPER, A. M. W.; ZHU, K. Y. RNA interference: Applications and advances in insect toxicology and insect pest management. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, USA, v. 120, p. 109-117, 2015.

LAKSHMANAN, P.; GEIJSKES, R. J.; AITKEN, K.; GROF, C. P.; BONNETT, G.; SMITH, G. Sugarcane biotechnology: the challenges and opportunities. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, New York, USA, v. 41, n. 4, p. 345-363, 2005.

LIMA, V. T.; SANT´ANA, A. E. G.; REBOUÇAS, L. M. C.; Resposta na antena de *Castnia licus* aos compostos (E,E)-;(E,Z)- e (Z,Z)-3,13-octadecadienol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRICOLAS NATURAIS, 2., 2002, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Academia Cearense de Ciências, 2002. p. 49.

LINARES, F. B. A.; SALAZAR, J.; OJEDA, R. Observaciones generales sobre la presencia del taladrador gigante de la caña de azúcar en los municipios Guanare y Papelón del estado Portuguesa, Venezuela.

**Agronomía Tropical**, Maracay, VEN, v. 46, p. 341-351, 1996.

LODEWYCKX, C.; VANGRONSVELD, J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E. R.; TAGHAVI, S.; MEZGEAY, M.; DER LELIE, D. V. Endophytic bacteria and their potential applications. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Florida, USA, v. 21, n. 6, 583-606, 2002.

LUCENA, W.; PELEGRINI, P.; MARTINS-DE-SA, D.; FONSECA, F. C. A.; GOMES JR., J.; MACEDO, L. P.; SILVA, M. C. M.; SAMPAIO, R.; GROSSI-DE-SA, M F.. Molecular Approaches to Improve the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Cry Toxins. **Toxins**, Basel, SUI, v. 6, p. 2393-2423, 2014.

LUNDGREN, J. G.; DUAN, J. J., RNAi-based insecticidal crops: potential effects on nontarget species. **Bioscience**, Washington, USA, v. 63, n. 8. p. 657-665, 2013.

MACEDO, N. Colheita de cana queimada versus crua e populações de insetos e pragas. **Revista Opiniões**, Ribeirão Preto, v. 5, p. 32, 2005. Disponível em: < [http://www.laboratoriobioflora.com.br/newton\\_1.php?id=17](http://www.laboratoriobioflora.com.br/newton_1.php?id=17) > . Acesso em: 30 out. 2015.

MAGNANI, G. S.; DIDONET, C. M.; CRUZ, L. M.; PICHETH, C. F.; PEDROSA, F. O.; SOUZA, E. M. Diversity of endophytic bacteria in Brazilian sugarcane. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 1, p. 250-258, 2010.

MANICKAVASAGAM, M.; GANAPATHI, A.; ANBAZHAGAN, V. R.; SUDHAKAR, B.; SELVARAJ, N.; VASUDEVAN, A.; KASTHURIRENGAN, S. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and development of herbicide-resistant sugarcane (*Saccharum* species hybrids) using axillary buds. **Plant Cell Report**, Strasbourg, FRA, v. 23, n. 3, p. 134-143, 2004.

MARQUES, E. J. Controle biológico da cana-de-açúcar no Brasil.

**Agropecuária**, Paraíba, v. 4, n. 43, p.49-55, 1982..

MARQUES, E. J. et al. Efeito do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e alguns inseticidas no controle de *Castnia licus* D., broca gigante da cana-de-açúcar. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 102, p. 36-39. 1984.

MARQUES, E. J.; VILAS BOAS, R. O. R.; LIMA, S. M. A. R. The potenciality of the *Beauveria bassiana* at the control of *Castnia licus*, the giant borer of sugarcane. **Revista STAB**, Piracicaba, v. 4, p. 79-8, 1986.

MCQUALTER, R. B.; DALE, J. L.; HARDING, R. M.; MCMAHON, J. A.; SMITH, G. R. Production and evaluation of transgenic sugarcane containing a Fiji disease virus (FDV) genome segment S9-derived synthetic resistance gene. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, AUS, v. 55, n. 2, p. 139-145, 2004.

MEIER, R.; SHIYANG, K.; VAIDYA, G.; NG, P. K. L. 2006. DNA Barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification sucess. **Systematic Biology**, Washington, USA, 55, 715–728.

MEISTER, G.; TUSCHL, T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. **Nature**, London, GBR, v. 431, n. 7006. p. 343-349. 2004.

MELNICK, R. L.; ZIDACK, N. K.; BAILEY, B. A.; MAXIMOVA, S. N.; GUILTINAN, M.; BACKMAN, P. A. Bacterial Endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. **Biological Control**, San Diego, USA, v. 46, n. 1, p. 46-56, 2008.

MENDONÇA, A. F.; VIVEIROS, A. J. A.; SAMPAIO, F. F. A broca gigante da cana-de-açúcar, *Castnia licus* Drury, 1770 (Lep.: Castniidae). In: MENDONÇA, A. F. (Ed.). **Pragas da cana-de-açúcar**. Maceió: Insetos & Cia, 1996. p. 133–167.

MENDONÇA, A. F. **Cigarrinhas da cana-de-açúcar: controle biológico.** Maceió: INSECTA, 2005. p. 317,

MITTAPALLI, O.; BAI, X.; MAMIDALA, P.; RAJARAPU, S. P.; BONELLO, P. Tissue-Specific Transcriptomics of the Exotic Invasive Insect Pest Emerald Ash Borer (*Agilus planipennis*). **Plos One**, Califórnia, USA, v. 5, e13708, 2010

MOLINARI, H. B. C.; MARUR, C. J.; DAROS, E.; DE CAMPOS, M. K. F.; DE CARVALHO, J. F. R. P.; FILHO, J. C. B.; PEREIRA, L. F. P.; VIEIRA, L. G. E. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, DEN, v. 130, n. 2, p. 218-229, 2007.

MONNERAT, R.; MASSON, L.; BROUSSEAU, R.; PUSZTAI-CAREY, M.; BORDAT, D.; FRUTOS, R. Differential activity and activation of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Current Microbiology**, New York, USA, v. 39, n. 3, p. 159-62, 1999.

MONNERAT, R. G.; BATISTA, A. C.; DE MEDEIROS, P. T.; MARTINS, E. S.; MELATTI, V. M.; PRAÇA, L.; BERRY, C. Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatilis*. **Biological Control**, San Diego, USA v. 41, n. 3, p. 291-295, 2007.

MONNERAT, R. G., SOARES, C. M., CAPDEVILLE, G., JONES, G., MARTINS, É. S., PRAÇA, L., BERRY, C. Translocation and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* living inside of plants. **Microbial Biotechnology**, Malden, USA, v. 2, n. 4, p. 512-520, 2009.

MORAES, S. S.; DUARTE, M. Morfologia externa comparada das três espécies do complexo *Telchin licus*. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 245–265, 2009.

MORAES, S. S., DUARTE, M.; GONZALEZ, J. M. Revision of *Hista oiticica* (Lepidoptera: Castniidae) and discussion on the validity of its subspecies. **Zootaxa**, Auckland, NZL, v. 2421, p.1–27, 2010.

OJEDA, R. Problemática del taladrador gigante de la caña de azúcar (*Castnia licoides* Boid) en el Distrito Guanare, Edo. Portuguesa. **Venezuela Azucarera**, v. 50, p. 15-16, 1994.

OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, Surrey, GBR, v. 56, p. 50–54, 2014.

PAIVA, L.; ROBERTO, C. A broca-gigante expande a área de ação. **Canaonline**, Ribeirão Preto, 11 jul. 2014. Disponível em: <<http://www.canaonline.com.br/conteudo/a-broca-gigante-expande-a-area-de-acao-082957.html#.VqDcebYrldV>>. Acesso: 21 jan. 2015.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 6. ed. Piracicaba: FEALQ, 2001. 134 p.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2002. 635 p.

PIMENTEL, D. environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. In: PESHIN, R.; DHAWAN, A. (Ed.). **Integrated pest management: Innovation-development process**. Amsterdam: Springer Netherlands, 2009. V. 1. p. 89–111.

PRICE, D. R.; GATEHOUSE, J. A. RNAi-mediated crop protection against insects. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, NE, v. 26, n. 7, p. 393-400, 2008.

QUECINE, M. C.; ARAÚJO, W. L.; TSUI, S.; PARRA, J. R. P.; AZEVEDO, J. L.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Control of *Diatraea saccharalis* by the endophytic *Pantoea agglomerans* 33.1 expressing cry1Ac7. **Archives of microbiology**, Berlin, DE, v. 196, n. 4, p. 227-234, 2014.

RAPULANA, T.; BOUWER, G. Toxicity to *Eldana saccharina* of a recombinant *Gluconacetobacter diazotrophicus* strain carrying a truncated *Bacillus thuringiensis cry1Ac* gene. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, NGR, v. 7, n. 14, p. 1207-1214, 2013.

RAYMOND, B.; JOHNSTON, P. R.; NIELSEN-LEROUX, C.; LERECLUS, D.; CRICKMORE, N. *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen?. **Trends in microbiology**, Oxford, GB, v. 18, n. 5, p. 189-194, 2010.

REBOUÇAS, L. M. C.; CARACIOLO, M. S. B.; SANTANA, A. E. G.; PICKETT, J. A.; POW, E. M. Composição química da glândula abdominal da fêmea da mariposa *Castina licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae): possíveis feromonios e precursosres. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 5, p. 645-648, 1999.

RICHARDS, S.; GIBBS, R. A.; WEINSTOCK, G. M.; BROWN, S. J.; GROSSMANN, D. The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. **Nature**, London, GBR, v. 452, n. 7190, p. 949-955, 2008.

RICHARDS, S.; GIBBS, R. A.; GERARDO, N. M. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. **PLoS Biology**, Califórnia, USA, v. 8, n. 2, p. e1000313, 2010.

RIOS, S. D.; GONZALEZ, J. M. A synopsis of the Castniidae (Lepidoptera) of Paraguay. **Zootaxa**, Auckland, NZL, v. 3055, p. 43–61, 2011.

RUGMAN-JONES, P. F.; HODDLE, M. S.; STOUTHAMER, R. Nuclear-mitochondrial barcoding exposes the global pest Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) as two sympatric cryptic species in its native California. **Journal of Economic Entomology**, College Park, USA, v. 103, p. 877–886, 2010.

SANAHUJA, G.; BANAKAR, R.; TWYMAN, R. M.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant Biotechnology Journal**, Oxford, UK, v. 9, n. 3, p. 283-300, 2011.

SANTANA, C. S. T. **Síntese Regio e estereosseletiva dos prováveis componentes feromonais da mariposa *Telchin licus licus* (Lepidoptera: Castniidae)**. 2010. 132 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2010.

SANTIAGO, A. D. **Análise quantitativa do crescimento de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L) sob diferentes condições de manejo.**

Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2005. 10 p. Não publicado.

Relatório final de subprojeto.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N., VANRIE, J., LERECLUS, D., BAUM, J., FEITELSON, J., ZEIGLER, D.R.; DEAN, D.H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology Molecular Biology Reviews**, Washington, USA, v. 62, n. 3, p. 775-806, 1998.

SETAMOU, M.; BERNAL, J. S.; LEGASPI, J. C.; MIRKOV, T. E.; LEGASPI, B. C., JR. Evaluation of lectin-expressing transgenic sugarcane against stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae): effects on life history parameters. **Journal of Economic Entomology**, College Park, USA, v. 95, n. 2, p. 469-477, 2002.

SILVA JUNIOR, M. P.; NICOLA, M. V.; ROSSI, M. M. Broca gigante da cana-de-açúcar, *Telchin licus licus* (Drury, 1773) na região centro-sul: preocupação para os produtores. **Nucleus**, Edição especial, p. 49-54. 2008

SILVA-BRANDÃO, K. L.; ALMEIDA, L. C.; MORAES, S. S.; CÔNSOLI, F. L. Using population genetic methods to identify the origin of an invasive population and to diagnose cryptic subspecies of *Telchin licus* (Lepidoptera: Castniidae). **Bulletin of Entomological Research**, London, GBR, v. 103, p. 89–97, 2013.

SOUZA, S. A.; XAVIER, A. A.; COSTA, M. R.; CARDOSO, A.; PEREIRA, M. C.; NIETSCHKE, S. Endophytic bacterial diversity in banana 'Prata Anã' (*Musa* spp.) roots. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 36, n. 2, p. 252-264, 2013.

SUZUKI, M. T.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; ARAÚJO, W. L.; FERRÉ, J. Characterization of an endophytic *Bacillus thuringiensis* strain isolated from sugar cane. In: ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVERTEBRATE PATHOLOGY, 41.; INTERNATIONAL CONFERENCE ON BACILLUS THURINGIENSIS, 9., 2008, Coventry. **Proceedings...** Coventry, UK: University of Warwick, 2008.

TABASHNIK, B. E.; GASSMANN, A. J.; CROWDER, D. W.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: evidence versus theory. **Nature Biotechnology**, New York, USA, v. 26, p.199–202, , 2008.

TERRA, W. R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, California, USA, v. 109B, p.1-62, 1994.

TOMASINO, S. F.; LEISTER, R. T.; DIMOCK, M. B.; BEACH, R. M.; KELLY, J. L. Field performance of *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* expressing the insecticidal protein gene cryIA (c) of *Bacillus thuringiensis* against European corn borer in field corn. **Biological Control**, San Diego, USA v. 5, n. 3, p. 442-448, 1995.

VELÁZQUEZ, E.; ROJAS, M.; LORITE, M. J.; RIVAS, R.; ZURDO-PINEIRO, J. L.; HEYDRICH, M. Genetic diversity of endophytic bacteria which could be find in the apoplastic sap of the medullary parenchym of the stem of healthy sugarcane plants. **Journal of Basic Microbiology**, Jena, GER, v. 48, p.118–124, 2008.

VILAS BOAS, A. M.; MARQUES, E. J; RIBEIRO, S. M. A. Patogenicidade do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, sobre larvas de *Castnia licus* Drury (Lepidoptera, Castniidae), broca gigante da cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 12, p. 295-298, 1983.

VIVEIROS, A. J. A. **Efeito do dano da broca gigante, *Castnia licus* Drury, 1770 (Lepidoptera, Castniidae) sobre algumas características agroindustriais da cana-de-açúcar no estado de Alagoas, Brasil.** 1989. 93 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1989.

WADT, L. **Comportamento reprodutivo da broca gigante da cana-de-açúcar, *Telchin licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castiniidae), como base para seu controle.** 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Ensino Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

WAY, M. J.; KHOO, K.C. Role of ants in pest management. **Annual Review of Entomology**, Stanford, USA, v. 37, p. 479-503, 1992.

WENG, L. X.; DENG, H. H.; XU, J. L.; LI, Q.; ZHANG, Y. Q.; JIANG, Z. D.; LI, Q. W.; CHEN, J. W.; ZHANG, L. H. Transgenic sugarcane plants expressing high levels of modified cry1Ac provide effective control against stem borers in field trials. **Transgenic Research**, Philadelphia, USA, v. 20, n. 4, p. 759-772, 2011.

WHITE, W. H.; VIATOR, R. P.; DUFRENE, E. O.; DALLEY, C. D.; RICHARD, E. P. JR. Re-evaluation of sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) bioeconomics in Louisiana. **Crop Protection**, Surrey, GBR, v. 27, p. 1256–1261, 2008.

WU, X.; ROGERS LEONARD, B.; ZHU, Y. C.; ABEL, C. A.; HEAD, G. P.; HUANG, F. Susceptibility of Cry1Ab-resistant and -susceptible sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) to four *Bacillus thuringiensis* toxins. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, USA, v. 100, n. 1, p. 29-34, 2009.

ZHANG, L.; XU, J.; BIRCH, R. G. Engineered detoxification confers resistance against a pathogenic bacterium. **Nature Biotechnology**, New York, USA, v. 17, n. 10, p. 1021-1024, 1999.

ZHANG, S. Z.; YANG, B. P.; FENG, C. L.; CHEN, R. K.; LUO, J. P.; CAI, W. W.; LIU, F. H. Expression of the *Grifola frondosa* Trehalose Synthase Gene and Improvement of Drought-Tolerance in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Journal of Integrative Plant Biology**, Malden, USA, v. 48, n. 4, p. 453-459, 2006.

**Embrapa**

---

*Tabuleiros Costeiros*

Ministério da  
**Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PÁTRIA EDUCADORA