

DURAÇÃO DE ESTÁGIOS IMATUROS DE *Glypheapomis spinosa* CAMPOS & GRAZIA, 1998, EM ARROZ IRRIGADO

Tavvs Micael Alves¹, José Alexandre Freitas Barrigossi²

Palavras-chave: *Oryza sativa*, bioecologia, desenvolvimento, Pentatomidae

INTRODUÇÃO

O percevejo-preto, *Glypheapomis spinosa* Campos & Grazia, 1998 (Heteroptera: Pentatomidae) pode ser encontrado se alimentando de plantas de arroz irrigado em vários estados brasileiros. A espécie possui o maior tamanho do gênero e as fêmeas são maiores do que os machos. O comprimento dos machos é de 7,35mm (6,81 - 7,87mm) e das fêmeas de 7,76mm (7,13 - 8,12mm). A largura do abdome dos machos é de 4,08mm (3,77 - 4,43mm) e das fêmeas é de 4,45mm (4,18 - 4,67mm). A coloração geral é dorsalmente negra, ventralmente ferrugínea com faixas laterais mais claras e superfície do corpo glabra. Os ângulos umerais do pronoto são aguçados (CAMPOS; GRAZIA, 1998).

A ocorrência e o tamanho de sua população têm sido observados com maior frequência nos últimos anos. No entanto, a bioecologia, importância econômica e fatores que afetam sua dinâmica populacional ainda não foram registrados na literatura. O objetivo deste trabalho foi determinar o tempo de desenvolvimento e sobrevivência de estágios imaturos de *G. spinosa*, em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em laboratório e casa de vegetação na Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO (16° 28'S, 49° 17'W, 823m altitude média). As massas de ovos utilizadas no experimento foram obtidas a partir de colônia mantida em casa de vegetação. Periodicamente, a população foi combinada com insetos coletados durante o verão em lavouras de arroz do Tocantins, municípios de Formoso do Araguaia (49° 32'W 11° 48'S) e Lagoa da Confusão (10° 01'S 49° 58'W). Os insetos adultos e ninfas permaneceram se alimentando de plantas de arroz, variedade Jaçanã, cultivadas em vasos plásticos. Os estágios de desenvolvimento foram separados mantendo-se 10-20 casais adultos ou 80-90 ninfas dentro dos vasos cobertos por gaiolas de nylon. As posturas foram removidas diariamente para evitar o parasitismo dos ovos.

Em 24/10/2008, foram coletadas e transferidas 30 posturas (375 ovos) para placas de Petri (9 x 1,5 cm) forradas com papel filtro e umedecidas com água destilada. As massas de ovos foram observadas individualmente e mantidas em laboratório (25 ± 2°C, 75 ± 0,6%UR, 13h fotoperíodo). Durante os primeiros dias das ninfas, foi difícil determinar o número preciso sem perturbá-las e induzir mortalidade natural. Por isso, as ninfas de primeiro instar foram observadas cuidadosamente, sem contato direto e com auxílio de lupa. A partir da emergência da primeira ninfa do segundo instar, todas pertencentes da mesma postura foram transferidas com pincel para plantas de arroz, variedade Jaçanã. Em casa de vegetação, as plantas foram mantidas em vasos de plástico (25 cm de diâmetro e 20 cm de altura) cobertos por gaiola de nylon até a emergência dos percevejos adultos. Dentro do local de estudo, a umidade e a temperatura foram registradas de hora em hora por meio de um registrador termohigrógrafo (Reed 8829TM). Apesar das condições ambientais serem suficientemente homogêneas, foi garantido aleatorização dos vasos sobre as bancadas, de forma que qualquer tendência não controlada fosse evitada.

As inspeções e contagens foram realizadas diariamente para determinação da sobrevivência e tempo de desenvolvimento em todos os estágios. As ninfas observadas do lado de fora das gaiolas foram recolocadas próximo às raízes das plantas. Durante as avaliações, caules e folhas de cada planta foram minuciosamente observados à procura das ninfas. O número de indivíduos mortos ou perdidos foi registrado. A presença de exúvias foi fundamental para confirmação dos registros de ecdise das ninfas. Na emergência dos adultos foi realizada a sexagem através da genitália (CAMPOS; GRAZIA, 1998). A sobrevivência foi obtida pela diferença percentual entre o número de indivíduos vivos de dois estágios consecutivos. A razão sexual foi determinada dividindo o número de fêmeas pelo número total de adultos que emergiram das posturas. As medidas de tendência central e de variabilidade foram obtidas usando os procedimentos PROC GLM e PROC Univariate (SAS INSTITUTE INC., 2006). Os gráficos foram construídos com auxílio do software SigmaPlot 10.0 (SYSTAT SOFTWARE INC., 2004). As médias estão acompanhadas de seu correspondente erro padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os registros do termohigrógrafo foram transferidos mensalmente para planilhas digitais. A temperatura média do período em estudo foi de 26,68 ± 0,20 °C e a umidade relativa média do ar foi de 74,65 ± 0,77 % (Figura 1).

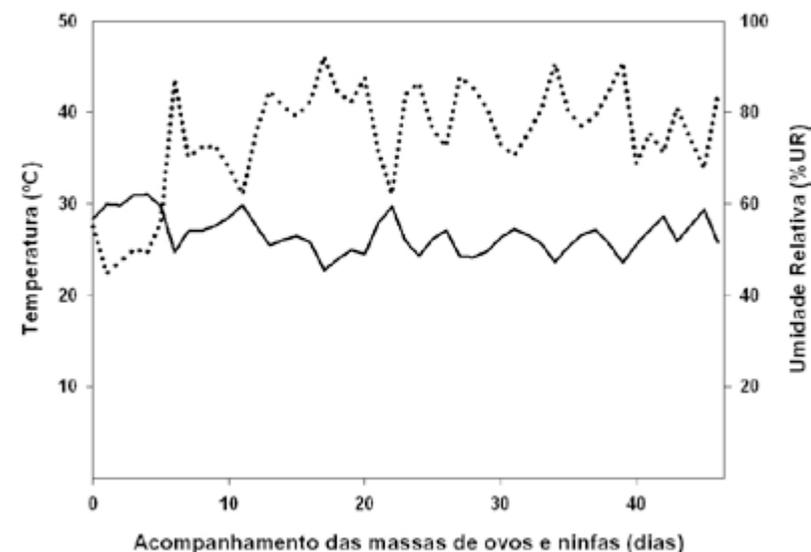


Figura 1. Médias aritméticas simples dos registros diários da temperatura (—) e umidade relativa do ar (.....) durante o período de estudo (24/10/2008 a 09/12/2008) com estágios imaturos de *Glypheapomis spinosa* Campos & Grazia, 1998. As linhas são ligadas pela média diária registrada de hora em hora por termohigrógrafo (Reed 8829TM).

¹ Mestrando em Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462, C.P. 179, Santo Antônio de Goiás, GO. tavvs@agronomo.eng.br

² Pesquisador Ph.D, Embrapa Arroz e Feijão, alex@cnpaf.embrapa.br

A duração média de desenvolvimento do primeiro instar até o estágio adulto foi de 32,18 dias, passando obrigatoriamente por cinco instares no estágio ninfal (Tabela 1). A maior parte desse tempo foi gasto no quarto e quinto instar (58%). A menor duração ocorreu no primeiro instar e a maior duração no quinto instar. O segundo e o terceiro instares tiveram tempos semelhantes no ciclo de vida. Os percevejos da família Pentatomidae tendem a seguir este padrão de desenvolvimento (PRANDO et al., 1993; GREVE et al., 2003).

Tabela 1. Duração média, em dias, dos estádios imaturos de *Glypheapomis spinosa*.

Instar	Duração ± erro padrão	Mínimo - Máximo
Primeiro	2,77 ± 1,14	1,0 - 5,5
Segundo	5,84 ± 1,39	3,4 - 9,5
Terceiro	4,85 ± 1,26	3,2 - 9,6
Quarto	6,81 ± 0,92	5,4 - 9,2
Quinto	11,91 ± 4,06	8,7 - 25,0

Nos primeiros três dias após a eclosão dos ovos, as ninfas permaneceram agregadas sobre os córios e não se alimentaram. A partir do segundo instar, as ninfas se dispersam em busca de alimento. No início do estágio ninfal, os indivíduos não se dispersam muito e tendem a ficar próximos do local de eclosão dos ovos. Ao longo dos últimos dois instares tornam-se mais capazes de explorar outras plantas. Conseqüentemente, o dano poderá ser maior em estádios mais avançados.

Houve eclosão de ovos e emergência de ninfas e adultos durante diversos períodos do dia. Este fenômeno, caracterizado pela não ritimicidade, também ocorre com o principal percevejo da cultura do arroz irrigado, *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (BOTTON et al., 1996). De 375 ovos acompanhados foram obtidos 132 adultos, sendo 65 machos e 67 fêmeas. Portanto, não há desvios significativos a favor de um dos sexos e a razão sexual esperada para população de *G. spinosa* está em torno de 0,50 (1 fêmea: 1 macho). Na emergência dos adultos, semelhantes distribuições entre os sexos são comuns aos demais animais com reprodução sexuada.

A maior taxa de mortalidade ocorreu no estágio incubatório, 31% (0,31) dos ovos não eclodem (Tabela 2). No entanto, 35,2% conseguem chegar ao estágio adulto. A escala "log" representa os dados da população de maneira a visualizar as taxas *per capita* de mudança, em vez de absolutas mudanças numéricas. No primeiro instar há a menor mortalidade (0,02) de toda fase imatura. No estágio ninfal, a taxa *per capita* de mortalidade tende a sofrer pequenos acréscimos até o quinto instar. Portanto, em estádios mais avançados do desenvolvimento, espera-se que um menor número de percevejos possa se tornar adulto.

Tabela 2. Número absoluto de indivíduos vivos, sobrevivência e mortalidade percentual e taxa *per capita* de mortalidade expressa pela transformação logarítmica de *G. spinosa*.

Classe	Indivíduos vivos	Sobrevivência (%)	Taxa de mortalidade	Taxa <i>per capita</i> de mortalidade
x	n_x	I_x	q_x	$\text{Log}(n_x) - \text{Log}(n_{x+1})$
Ovo (x_0)	12,5	100,00	0,31	0,16
I instar	8,57	68,60	0,05	0,02
II instar	8,13	65,00	0,06	0,03
III instar	7,63	61,00	0,09	0,04
IV instar	6,97	55,80	0,15	0,07
V instar	5,9	47,20	0,25	0,13
Adulto	4,4	35,20	-	-

CONCLUSÃO

O tempo médio de desenvolvimento da fase ninfal de *Glypheapomis spinosa* foi de 32,18 dias e a sobrevivência foi de 51,34%, em casa de vegetação.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de iniciação científica e de pós-graduação. À Josélia Grazia (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) pela identificação da espécie. Aos técnicos do laboratório de entomologia da Embrapa Arroz e Feijão, Edmar Cardoso de Moura e José Francisco pela assistência nos experimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOTTON, M.; MARTINS, J. F. S.; LOECK, A. E.; ROSENTHAL, M. d'Á. Biologia de *Tibraca limbativentris* Stal sobre Plantas de Arroz. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, n. 1, p. 21-26, 1996.
- CAMPOS, L. A.; GRAZIA, J. Revisão de *Glypheapomis* Berg, 1891 (Heteroptera, Pentatomidae, Pentatomini). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 41, n. 2-4, p. 203-212, 1998.
- GREVE, C.; FORTES, N. D. F.; GRAZIA, J. Estágios imaturos de *Oebalus poecilus* (Hemiptera, Pentatomidae). **Iheringia**, Série Zoologia, v. 93, n. 1, p. 89-96, 2003.
- PRANDO, H. F.; KALVELAGE, H.; FERREIRA, R. A. Ciclo de vida de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 37, n. 2, p. 335-339, 1993.
- SAS INSTITUTE INC. **Base SAS® 9.1.3 procedures guide**. 2nd. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2006.
- SYSTAT SOFTWARE INC. **SigmaStat**. Versão: 3.1 for Windows. Point Richmond, CA. INSO Corporation, 2004.

INTERAÇÕES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS COM *Bacillus thuringiensis aizawai*, NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda*

Neiva Knaak¹; Shana Letícia Felice Wiest²; Tiago Finger Andreis³; Jaime Vargas de Oliveira⁴; Lídia Mariana Fiuza⁵

Palavras-chave: Lagarta-da-folha; Xentari®; óleos essenciais; interações.

INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797), conhecida na fase larval como “lagarta-da-folha”, é um inseto-praga de grande importância agrícola no Brasil, pois ataca algodão, alfaça, amendoim, arroz, aveia, batata, batata doce, cana-de-açúcar, hortaliças, milho, soja e trigo, sendo mais comum em gramíneas (POLANCZYK & ALVES, 2005). Nas lavouras de arroz irrigado do Rio Grande do Sul ocorrem diferentes insetos-praga, sendo que este lepidóptero da família Noctuidae é considerado um dos principais (OLIVEIRA & FREITAS, 2009). *S. frugiperda* tem recebido atenção especial quanto ao desenvolvimento de métodos de controle que reduzem a aplicação de inseticidas químicos, principal forma de controle utilizada pelos agricultores. Porém, o uso contínuo desses produtos tem sido considerado indesejável devido aos efeitos negativos, tais como: desenvolvimento de resistência dos insetos a estes produtos, aparecimento de novas pragas ou ressurgência das existentes; desequilíbrios biológicos; efeitos prejudiciais aos animais e inimigos naturais; além dos elevados custos de aplicação dos produtos (KOGAN, 1998).

Uma das alternativas de controle é o uso de entomopatógenos, como a bactéria *Bacillus thuringiensis*, a qual tem sido a mais utilizada e estudada no controle de insetos, sendo responsável por 90% do mercado mundial de bioinseticidas (PRATISSOLI et al., 2006). Da mesma forma, as plantas com propriedades inseticidas aparecem como importante alternativa de controle que pode ser utilizado no manejo de *S. frugiperda*. Estas são fontes naturais de substâncias inseticidas, as quais podem ser produzidas pelo vegetal em resposta a ataque de insetos (REGNAULT-ROGER, 1997; CARLINI et al., 1997).

Uma forma de incrementar a eficácia de entomopatógenos é utilizá-los em conjunto com inseticidas químicos ou outros agentes de controle biológico. Esta interação baseia-se no princípio de que os inseticidas convencionais ou agentes de controle biológico atuam como estressantes dos insetos, levando-os a adquirir ou ativar doenças infecciosas, tornando-o mais suscetível às toxinas do *B. thuringiensis* (POLANCZYK & ALVES, 2005).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os óleos essenciais de *Artemisia absinthium* L., *Tanacetum vulgare* L., *Ruta graveolens* L. e *Mentha* sp. L. com *B. thuringiensis aizawai*, no controle de lagartas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

MATERIAL E MÉTODOS

As lagartas de *S. frugiperda* foram coletadas em lavouras de arroz irrigado do Rio Grande do Sul e mantidas em dieta de Poitout e Bues (1970) na Sala de Criação de Insetos do Laboratório de Microbiologia e Toxicologia, na Unisinos. O ciclo biológico foi desenvolvido em condições controladas (25 ± 2°C, fotoperíodo de 12 horas e 70% de Umidade Relativa).

Os óleos essenciais de *A. absinthium*, *T. vulgare*, *R. graveolens* e *Mentha* sp. foram submetidas ao método de hidrodestilação, utilizando um equipamento adaptado de

Clevenger (MING et al. 1996). Os óleos foram armazenados em recipientes de vidro, de cor âmbar, hermeticamente fechados e conservados a -4°C. O crescimento do isolado de *B. thuringiensis aizawai* (Bta), oriundo do produto comercial Xentari®, foi realizado em meio usual glicosado, durante 48h, a 28 ± 2°C e 180 rpm. Em seguida, o material foi centrifugado e as suspensões bacterianas padronizadas em 1.10⁹ céls./mL. Os óleos essenciais das plantas medicinais foram diluídos a 2% em acetona.

Os tratamentos, com lagartas de 1º instar de *S. frugiperda*, foram: (a) acetona, (b) Bta, (c) 2% óleo *A. absinthium*, (d) 2% óleo *T. vulgare*, (e) 2% óleo *R. graveolens*, (f) 2% óleo *Mentha* sp., (g) Bta + *A. absinthium*, (h) Bta + *T. vulgare*, (i) Bta + *R. graveolens*, (j) Bta + *Mentha* sp. Nos tratamentos foram aplicados 10 µL dos produtos em secções de folhas de arroz (1 cm de diâmetro), acondicionadas em mini-placas de acrílico, contendo papel filtro umedecido, onde 30 lagartas foram individualizadas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, totalizando 2880 lagartas avaliadas nos ensaios das interações. No controle, o volume das suspensões dos tratamentos (10 µL) foi substituído por acetona. Os ensaios foram mantidos em câmara climatizada a 25°C, 70% de UR e fotoperíodo de 12h. A mortalidade foi avaliada no 2º, 5º e 7º dia após a aplicação dos tratamentos, sendo em seguida corrigida pela fórmula de Abbott (1925).

Os valores de mortalidade obtidos foram submetidos à Análise de Variância e teste de Tukey (P<0,05) para comparação entre as médias. Para avaliação do grau de interação entre os entomopatógenos foi utilizada terminologia de acordo com Polanczyk e Alves (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo verificou-se uma interação sinérgica de *B. thuringiensis aizawai* com os óleos essenciais de *R. graveolens* e *Mentha* sp. (Fig. 1), demonstrando que o óleo essencial destas plantas estimulam a ação do entomopatógeno. Da mesma forma, Knaak et al. (2010) avaliaram a ação da interação de vários extratos vegetais com Xentari® no intestino médio de *S. frugiperda*, demonstrando que os efeitos histopatológicos de *Z. officinale*, *R. graveolens* e *B. genistelloides*, no intestino médio de *S. frugiperda* foram mais intensos quando comparados aos extratos de *P. allieacea* e *C. citratus*, os quais apresentaram uma interação positiva com Xentari®, acelerando o processo de destruição das células intestinais, o que representa uma redução do tempo letal da espécie alvo *S. frugiperda*.

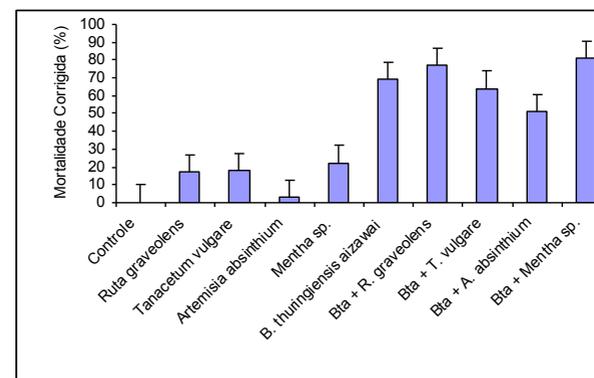


Figura 1 – Dados da interação de *Bacillus thuringiensis aizawai* (Bta) com os óleos essenciais (2%) de *Mentha* sp., *Artemisia absinthium*, *Tanacetum vulgare* e *Ruta graveolens*, às lagartas de 1º instar de *Spodoptera frugiperda*.

¹ Doutora em Biologia, PPG em Biologia - Unisinos, Av. Unisinos, 950, São Leopoldo, RS, email: neivaknaak@gmail.com.

² Estudante de Biologia, Unisinos, Av. Unisinos, 950, São Leopoldo, email: tiago.f.andreis@gmail.com

³ Estudante de Biologia, Unisinos, Av. Unisinos, 950, São Leopoldo, email: shanafelice@hotmail.com

⁴ Mestre em entomologia, Instituto Riograndense do Arroz Irrigado – IRGA, Cachoeirinha, RS, email: jaime-oliveira@irga.rs.gov.br

⁵ Doutora em Agronomia, PPG em Biologia – Unisinos - Av. Unisinos, 950, São Leopoldo e Instituto Riograndense do Arroz Irrigado – IRGA, Cachoeirinha, RS. Email: fiuza@unisinos.br

No estudo da interação entre os produtos do entomopatógeno *B. thuringiensis* e os óleos essenciais, verificou-se um antagonismo quando aplicado *B. thuringiensis aizawai* x *T. vulgare* e *A. absinthium* (Fig. 1). A inibição da ação do *B. thuringiensis* pode ser explicada pela própria diminuição da ingestão do alimento tratado ou a competição entre os entomopatógenos pelo hospedeiro (GLARE E O'CALLAGHAM, 2000). Esse tipo de efeito pode ser esperado quando interagem agentes de naturezas distintas (BENZ, 1971).

O antagonismo, de acordo com Benz (1971) pode ter várias causas, onde destacam-se pequenas doses de um determinado inseticida que pode ter efeito repelente ou diminuir a atividade do inseto, com isso ele não entra em contato com quantidades letais do inseticida ou do patógeno. Outra causa seria o patógeno ter capacidade de degradar metabolicamente a molécula do inseticida, impedindo ou diminuindo sua ação sobre o inseto e a utilização de doses sub-letais do inseticida, que pode produzir no inseto um aumento nas taxas metabólicas e um conseqüente aumento na resposta imune ao patógeno.

De acordo com Novan (1992), a utilização de extratos vegetais reduz a alimentação do inseto através de seus aleloquímicos, o que otimiza a atividade inseticida do microorganismo, resultando em um maior índice de mortalidade.

Em termos gerais, a seleção de plantas com atividade inseticida é baseada quase exclusivamente nos efeitos letais. Todavia, deve-se considerar que nem sempre a mortalidade do inseto deve ser o objetivo principal, pois exige maior dose, conseqüentemente maior quantidade de matéria prima vegetal. Sendo assim, busca-se a redução do desenvolvimento ou do crescimento populacional da praga, seja por efeitos fisiológicos, alterações no comportamento sexual e outros fatores correlacionados (SILVA, 2010).

CONCLUSÃO

A associação dos métodos químico e biológico de controle de pragas é importante na redução do número de aplicações dos produtos fitossanitários, garantindo maior economia nos custos de produção e menor impacto ambiental. Dessa forma, os óleos de *R. graveolens* e *Mentha* sp. em associação com *B. thuringiensis aizawai*, potencializam o entomopatógeno em estudo, sendo promissores no Manejo Integrado de Pragas do inseto-alvo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W.S.A. Method of computing the effectiveness insecticides. **Journal of Econom. Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.
- BENZ, G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. In BURGESS, HD; HUSSEY, NW. (Ed.) Microbial control of insects and mites. Londres: Academic Press, cap. 14, p.327-356, 1971.
- CARLINI, C.R.; OLIVEIRA, A.E.; AZAMBUJA, P.; XAVIER-FILHO, J.; WELLS, M.A. Biological effects of canatoxin, a plant protein, in different insect models. Evidence for proteolytic activation by insect cathepsin. **Journal of Economic Entomology**, v.45, p. 340-348, 1997.
- GLARE, T.R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley & Sons. 350 p., 2000.
- KNAACK, N., TAGLIARI, M.S., FIUZA, L.M. Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 83-89, 2010.
- KOGAN, M. Integrated pest management historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 243-270, 1998.
- MING, L.C., FIGUEIREDO, R.O.; MACHADO, S.R.; ANDRADE S.M.R. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, v. 426, p. 555-559, 1996.
- NOVAN, A. Interaction among herbivores microbial insecticides and crop plants. *Phytoparasitica* 20 (Edição suplementar), 1992.
- OLIVEIRA, J.V.; FREITAS, T.F.S. Trio de peso. **Revista Cultivar**, v.123, p. 14-16, 2009.
- POITOUT, S., BUES, R. Élevage de plusieurs espèces de Lépidopteres Noctuidae sur milieu artificiel

- riche et surmilieu simplifié. **Annales de Zoologie Ecologie Animale**, v. 2, p. 79-91, 1970.
- POLANCZYK, R.A.; ALVES, S.B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Pragas y Agroecología**, v. 74, p. 24-33, 2005.
- PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; VIANNA, U.R.; ANDRADE, G.S.; OLIVEIRA, R.G.S. Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Ciência Rural**, v.36, n. 2, p. 369-377, 2006.
- REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insects pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 2, p. 25-34, 1997.
- SILVA, M.A. Avaliação do potencial inseticida de *Azadirachta indica* (Meliaceae) visando ao controle de moscas-das frutas (Diptera: Tephritidae). Dissertação: Mestrado. Universidade de São Paulo: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Piracicaba, 159p., 2010.