

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

PATOGENICIDADE E SELEÇÃO DE ISOLADOS DE
Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin E *Beauveria bassiana* (Bals.)
Vuill. PARA O CONTROLE DE *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936)
(Coleoptera.: Curculionidae)

HÉLIO MINORU TAKADA

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU –SP
Abril – 2002

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

PATOGENICIDADE E SELEÇÃO DE ISOLADOS DE
Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin E *Beauveria bassiana* (Bals.)
Vuill. PARA O CONTROLE DE *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936)
(Coleoptera: Curculionidae)

HÉLIO MINORU TAKADA

Orientador: Prof. Dr. Antonio Batista Filho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Proteção de Plantas.

BOTUCATU –SP
Abril - 2002

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

T136p Takada, Hélio Minoru, 1962-
Patogenicidade e seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) / Hélio Minoru Takada. -- Botucatu, [s.n.], 2002
iii, 75 f. : il. color., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas
Orientador: Antonio Batista Filho
Inclui bibliografia

1. Fungos entomopatogênicos 2. Controle microbiano
3. Arroz irrigado - Gorgulho aquático I. Batista Filho, Antonio II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas III. Título

Palavras-chave: *Oryzophagus oryzae*; Gorgulho aquático; Arroz irrigado; Controle microbiano; Fungos entomopatogênicos

A HIDEO TAKADA (a sua memória)

OFEREÇO

Por todos os seus ensinamentos...

**Quando o homem descobre o projeto de Deus
e se compromete com esse projeto,
toda a natureza reconhece a grandeza dessa aliança e
se apresenta para colaborar.**

Sabedoria 19, 18-21.

A esposa e companheira

Vilma Claudino Vidal Takada

Pelo carinho e incentivo

A querida família

Nobuko, Elisa, Alice e Keji

Dedico de coração

**A Deus criador pela
Inspiração...**

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista (FCA/UNESP), Campus de Botucatu, por proporcionar o aperfeiçoamento;

À Secretaria de Agricultura e Abastecimento - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - Pólo Regional do Vale do Paraíba pelo apoio recebido na conclusão do trabalho;

Ao Instituto Biológico, Pesquisadores e Funcionários por transmitir seus conhecimentos na formação de seus discípulos;

Ao Orientador e Pesquisador Antônio Batista Filho pela amizade, confiança e incentivo;

Ao Professor Carlos Frederico Wilcken pelos ensinamentos e dedicação;

Aos Pesquisadores do Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental do Instituto Biológico: José Eduardo M. de Almeida, Luis G. Leite, Valmir A. Costa, Zuleide A. Ramiro, Laerte A. Machado pelo apoio, compreensão e amizade; aos Funcionários Stela, Paulo Rita, Ilsa, Édson e Zezo pelo carinho e dedicação; aos Estagiários: Érica, Daniel, Elisângela e Alexandre pela valiosa colaboração no trabalho;

A Pesquisadora Científica Harumi Hojo anjo da guarda em todos os momentos;

Aos Professores da UNESP – Campus Botucatu: Wilson B. Crócomo, Silvia Renata S. Wilcken, Carlos G. Raetano, Luiz C. Forti, Édson L. Furtado, Marcelo A. Pavan, Chukiti Kurosawa, Nilton L. Souza, Antônio C. Maringoni e Marli T. Minhoni pelos conhecimentos e experiência; aos Servidores do Departamento de Produção Vegetal, Setor de Defesa Fitossanitária; Fátima, Nivaldo, Vera, Domingos, Gislaíne, Zé Preto e Norberto pela amizade e experiência;

Aos Funcionários da Biblioteca e Seção de Pós-Graduação-FCA pelo apoio e empenho;

Aos Colegas de curso: Salvatore, Adriana, Fernanda, Patrícia, Ângelo, Cassiano, Malu, Satoru, César, Crhistine, Jesus, Desire e Mineiro por propiciar um período alegre e encantador ;

Aos Colegas do Laboratório de Sanidade Animal e Vegetal de Pindamonhangaba: José Roberto Pereira, Braz P. da Silva, Cláudio M. Amaral, J. Benedito Pereira e Abigail de Oliveira pelo convívio, cumplicidade e colaboração em enfrentar os desafios; aos Estagiários e Colaboradores: José Luiz, Sandra Shinoda, Ivan L. C. Freire pela dedicação e empenho na condução dos trabalhos;

A Márcia M. Rebouças, Walter Graeber e Regina Paixão pelos conhecimentos, amor e dedicação ao trabalho e luta na manutenção da história e tradição do Instituto Biológico na defesa do agronegócio paulista;

Ao Amigo Norberto Leite pelo seu profissionalismo e exemplo de vida;

A Pesquisadora Científica Palmira R.R. Rolim, Lúcia Baldassi e a Funcionária Rosângela G. Alves do Centro de Pesquisa Laboratorial: pelo incentivo e colaboração recebido;

Aos Rizicultores do Vale do Paraíba- SP pelo incentivo, perseverança e confiança, razão deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	01
SUMMARY	02
1 INTRODUÇÃO	03
2 REVISÃO DE LITERATURA	05
2.1 Importância da cultura e indicadores econômicos	05
2.2 Gorgulho aquático do arroz irrigado	07
2.2.1 Morfologia, biologia e hábitos	08
2.2.2 Prejuízos	12
2.3 Controle	13
2.3.1 Controle químico	14
2.3.2 Controle cultural	15
2.3.3 Controle biológico	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Manutenção de <i>Oryzophagus oryzae</i> em laboratório	24
3.2 Seleção de isolados	27
3.2.1 Determinação da concentração de conídios para a seleção dos isolados padrões de <i>Metarhizium anisopliae</i> e <i>Beauveria bassiana</i>	27
3.2.2 Seleção de isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> a <i>Oryzophagus oryzae</i>	31
3.2.3 Comparação dos isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> mais virulentos a <i>Oryzophagus oryzae</i>	33
3.2.4 Produção em arroz cozido	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Manutenção de <i>Oryzophagus oryzae</i> em laboratório	35
4.2 Determinação da concentração de conídios para a seleção dos isolados padrões de <i>Metarhizium anisopliae</i> e <i>Beauveria bassiana</i>	36
4.3 Isolados de <i>Metarhizium anisopliae</i> x <i>Beauveria bassiana</i>	45
4.4 Produção dos isolados selecionados	51
5 CONCLUSÕES	55
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a patogenicidade e a virulência de fungos entomopatogênicos ao gorgulho aquático do arroz irrigado, *Oryzophagus oryzae*, foram testados 24 isolados de *Metarhizium anisopliae* e 2 de *Beauveria bassiana*. Os bioensaios foram realizados em condições controladas ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$ e 12 horas de fotofase). Nos testes para determinar a concentração adequada, a espécie *M. anisopliae*, isolado E9, apresentou maior patogenicidade quando comparado aos isolados de *B. bassiana*. A mortalidade confirmada, provocada pelo *M. anisopliae*, teve início no 4º dia, aumentando em seguida até estabilizar-se no 8º dia. Para a seleção dos isolados de *M. anisopliae*, adultos dos insetos foram inoculados com 1 mL de suspensão fúngica a 5×10^8 conídios/mL ($1,6\times 10^4$ conídios/mm²). Todos os isolados foram patogênicos ao inseto, sendo que a mortalidade variou entre 9,3 e 85,3 %. Os isolados de *M. anisopliae* mais patogênicos foram CB-103, CB-104, CB-233, E9 e CB-10. No teste de produção, os isolados CB-104, CB-233 e CB-103 foram superiores ao padrão E9, apresentando-se promissores para a utilização no controle de *Oryzophagus oryzae*.

Palavras-chave: *Oryzophagus oryzae*, gorgulho aquático, controle microbiano, fungos entomopatogênicos, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*.

PATHOGENICITY AND SELECTION OF *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin AND *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill. STRAINS TO CONTROL OF *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae). Botucatu, 2002. 75p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: HÉLIO MINORU TAKADA

Adviser: ANTÔNIO BATISTA FILHO

SUMMARY

Strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* were evaluated concerning their pathogenicity and virulence for control of the rice water weevil, *Oryzophagus oryzae*. Bioassay conditions were $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ and 12 h. light. *M. anisopliae* (E9 strain) was been more pathogenic than two *Beauveria bassiana* strains (CB-66 and CB-74). For *Metarhizium anisopliae* (E9 strain), the mean mortality started at 4th day, increasing soon after until stabilize at 8 th day. A screening of *M. anisopliae* isolates was done inoculating adults of the insect with 1 mL of spore suspension containing 5×10^8 conídias/mL (1.6×10^4 conídias/mm²). All isolates were pathogenic to the insect, causing mortality between 9.3 and 85.3%. The most pathogenic isolates were CB-103, CB-104, CB-233, E9 and CB-10. These 6 isolates were evaluated concerning their spore production on cooked rice. The isolates CB-104, CB-233 and CB-103 afforded the highests spores production, significantly higher compared to E9, showing potential to be used for *Oryzophagus oryzae* control.

Key words: *Oryzophagus oryzae*, rice water weevil, microbial control, entomopathogenic fungi,

Metarhizium anisopliae, *Beauveria bassiana*.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo do arroz irrigado é feito na bacia do Rio Paraíba do Sul, região leste do Estado de São Paulo, em várzeas sistematizadas adequadas ao uso agrícola. É considerada a principal atividade agrícola da região, geradora de recursos e de empregos para o setor rural, com área de plantio estimada em 9 mil ha, e produção de 40 mil toneladas de arroz agulhinha em casca na safra agrícola de 1999 a 2000 (Estatísticas, 2000).

O cultivo do arroz é realizado mantendo-se uma lâmina de água em boa parte do seu ciclo de desenvolvimento, sendo esta condição estímulo essencial para o início da atividade biológica dos curculionídeos aquáticos que estão hibernando nessas áreas.

Considerada praga primária nas principais regiões orizícolas do país, a espécie *Oryzophagus oryzae*, é denominada pelos produtores de arroz de bicheira ou berne da raiz. A larva do inseto causa os maiores danos às plantas, uma vez que alimentam-se das raízes. A fase adulta conhecida como gorgulho aquático, alimenta-se das folhas e pode ocasionar prejuízos em função de sua população, principalmente nas plântulas. Esta situação se agrava com o uso do sistema pré-germinado, que antecipa a manutenção da lâmina de água juntamente com os insetos, quando a planta de arroz se encontra em fase susceptível.

Atualmente, o principal e eficiente método de controle é o uso de inseticidas aplicados por diferentes técnicas, quais sejam: preventivamente por meio de tratamento de semente; inseticida granulado conjuntamente com a adubação nitrogenada de cobertura e aplicação ao longo das bordas próximo das taipas das várzeas cultivadas. A agravante dessas medidas são os prejuízos ambientais. As várzeas, além de abrigarem grande diversidade biológica, podem descarregar suas águas contendo resíduos dos inseticidas nos rios e córregos, infiltrar no lençol freático, contaminando estes mananciais utilizados por diversos municípios do Vale do Paraíba como fontes de água para o consumo da população.

O controle microbiano de inseto, uma das formas biológicas de controlar pragas, constitui-se em importante ferramenta no manejo sustentável do agrossistema de várzeas. Sua adoção resulta na produção de alimentos com menor impacto ambiental, maior segurança para o consumidor e redução dos riscos à saúde do trabalhador rural. Uma adequada alternativa é o uso de fungos entomopatogênicos que apresentam potencial para o controle do gorgulho aquático, como as espécies de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (Carbonell et al., 1983; Leite et al., 1992a; Garcia et al., 1990; Prando, 1999). Considerada as diferenças na patogenicidade desses isolados, provavelmente caracterizada pela sua variabilidade genética na natureza (Urtz et al., 1997), é necessário selecionar os isolados com elevada especificidade e patogenicidade (Chen et al., 2000) adaptadas ao ambiente aquático.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a patogenicidade de *M. anisopliae* e *B. bassiana* e selecionar isolados eficientes para o controle de adultos de gorgulho aquático, *O. oryzae*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da cultura e indicadores econômicos

O arroz é um dos cereais mais cultivados no mundo, pertencente à família Gramineae (Poaceae) (Chang & Bardenas, 1965), gênero *Oryza*, sendo *Oryza sativa* L. a principal espécie cultivada.

Na Ásia, sua região de origem, constitui-se na base alimentar da população, alimentando mais de um terço da humanidade. O arroz é o ingrediente principal do cardápio nos países asiáticos e as civilizações dessa região do mundo criaram laços com o arroz de uma extensão e de uma profundidade sem igual, moldando os ritos e as estruturas sociais dessas civilizações (Civilizações, 1985).

No Brasil, o arroz é porção alimentar imprescindível, sendo importante fonte de carboidratos, consumido pelo povo brasileiro na forma de grãos inteiros em diversos rincões desse país, e por todas as classes sociais. Yokoyama et al. (1999a) calcularam que o brasileiro consumiu, nos últimos 10 anos, uma média anual de 72,0 kg/habitante e um consumo interno de 8,35 milhões de toneladas, índice que coloca o Brasil entre os dez maiores consumidores mundiais do grão (Anuário, 2001). O Brasil cultivou, na safra 99/00, uma área de

3,7 milhões de ha e produziu 11,5 milhões de toneladas de arroz em casca, representando 1,9% da produção mundial (Anuário, 2001). Desse total, o cultivo no ecossistema de várzeas sistematizadas é responsável por aproximadamente 60% da produção nacional, ao redor de 6,9 milhões de toneladas (Guimarães & Sant'Ana, 1999). Entre o período de 1960 a 1996 observa-se um aumento na produtividade, especialmente no sistema de cultivo de várzeas sistematizadas, apesar da redução da área total de plantio nos diversos tipos de cultivo, reflexo de novas variedades e tecnologias aplicadas no cultivo irrigado (Yokoyama et al, 1999b).

O Estado de São Paulo cultivou 13.730 ha de arroz irrigado na safra 99/00 e produziu 5,7 mil toneladas, representando 0,83% da produção nacional, com uma produtividade média de 4.186 kg/ha (Estatísticas, 2001), abaixo da média nacional de 5.000 kg/ha e longe da produtividade potencial de 8.000 kg/ha (Yokoyama et al., 1999a).

No Estado, a principal região produtora está localizada nas várzeas do Rio Paraíba do Sul e possui área potencial aproximada de 77 mil ha representando 9,2% das várzeas do estado (Ivancko et al., 1985). Apesar desse potencial, o Levantamento de Unidades Produtivas Agrícolas (LUPA), mostra que a região teve um aproveitamento real, na safra 95/96, de apenas 10.715 ha (Estatísticas, 1997) e produção média de 803.616 sc (60 kg), apesar de já ter cultivado 19.700 mil ha na safra 87/88 (Estatísticas, 1989). Com redução gradual a cada ano agrícola, como demonstrou a previsão e estimativa da safra agrícola de 99/00, o Vale do Paraíba mantém essa tendência com redução da área de plantio em 9.544 ha e produção de 682.222 sc (60 kg) (Estatísticas, 2000).

O panorama de redução do plantio pelos rizicultores é reflexo do menor investimento, baixos preços, agravado pela sobre-oferta no mercado de arroz do Mercosul (Anuário, 2001) e das imprevisíveis condições climáticas, falta de água de irrigação e aumento

de insumos e combustíveis. A crise vem obrigando os rizicultores e técnicos a buscar alternativas para melhorar a rentabilidade, com redução de custo e investimento na produtividade.

2.2. Gorgulho aquático do arroz irrigado

O arroz cultivado na várzea possui habilidades de desenvolver-se em solos inundados apresentando em seus tecidos as chamadas lacunas lisogênicas, através das quais o oxigênio, absorvido através dos estômatos das bainhas, se difunde, passivamente, da parte aérea às raízes, onde é utilizado para a respiração (Yoshida, 1981), com reflexos na fisiologia e condições edáficas, obtendo melhor potencial produtivo que o sequeiro.

O cultivo de arroz com lâmina de água, propicia condições para o estabelecimento e desenvolvimento de uma das principais pragas dessa cultura, conhecida pelo rizicultor como bicheira, berne da raiz e gorgulho aquático. Estas espécies aquáticas pertencem a ordem Coleoptera, família Curculionidae, subfamília Eriirhininae, tribo Stenopelmini (tribo Bagoini [em parte]) (Wibmer & O'Brien, 1986). Esta praga encontra-se disseminada nos principais países produtores de arroz irrigado, e tem origem no continente americano, sendo encontrada desde a Argentina até os Estados Unidos (Kuschel, 1951). A espécie mais importante nos EUA é *Lissorhoptrus oryzophilus* (Kuschel, 1951), encontrada nos estados do Mississippi, Arkansas e Texas. Em Cuba a espécie predominante é *Lissorhoptrus brevirostris* (Suffrian, 1871) (Carbonell, 1982) e *L. isthmicus* Kuschel no Haiti (Sommeijer, 1975).

Nas principais regiões produtoras da Ásia, *L. oryzophilus* foi detectada inicialmente em 1976, na parte central do Japão, e após 10 anos disseminou-se por 46% dos campos cultivados. Uma das principais causas para a rápida expansão foi pelo vôo, relacionado com a direção do vento durante o período migratório (Tsuzuki et al., 1984).

No Brasil, a principal espécie de gorgulho identificado por Costa Lima (1936), foi encontrado no município de Rio Pardo, no Rio Grande do Sul, denominada de *Lissorhoptrus oryzophilus* sofreu modificação na revisão de Kuschel (1951), que criou um gênero novo, e a renomeou como *Oryzophagus oryzae*, sendo a espécie tipo do gênero e monotípica. É importante no Rio Grande do Sul (Ishiy, 1975), Santa Catarina (Lima, 1950), Rio de Janeiro (Pereira et al., 1986), Minas Gerais (Santa Cecília, 1992) e São Paulo (Camargo et al., 1986). Em seguida, temos a espécie *Helodytes foveolatus*, identificado inicialmente como *Lissorhoptrus foveolatus* por Duval (1945) e renomeado por Kuschel para o gênero *Helodytes* (Kuschel, 1951) e (Kuschel, 1956). No Brasil encontramos também o gênero *Lissorhoptrus* (Le Conte, 1876).

Amaral (1950a) caracterizou as diversas espécies existentes no Vale do Paraíba, principal região produtora de São Paulo e Camargo et al. (1990b) verificaram a distribuição das espécies naquela região, observando, em ordem decrescente, a presença de *Oryzophagus oryzae* (60%), seguida de *Helodytes foveolatus* (Duval, 1945), *H. vatius* (Kuschel, 1951) e *H. litus* (Kuschel, 1951). Em menor quantidade foram constatadas as espécies *Lissorhoptrus tibialis* e *Onychylis argentinensis*.

2.2.1. Morfologia, biologia e hábitos

Adultos da espécie *O. oryzae* possuem élitros com escamas brancas, apresentando o segundo par de patas com franjas natatórias nas tíbias para facilitar o movimento do inseto sob a água. O rostro é não giboso, achatado na margem anterior com uma pequena concavidade (Costa Lima, 1936), possuindo cor marrom acinzentada com cerca de 3-3,5 mm de comprimento por 1-1,5 mm de largura (Baucke, 1957) e valor médio de 2,85 mm para os machos

e 3,44mm nas fêmeas (Prando, 1999). A fêmea apresenta longevidade maior (Nilakhe, 1977) e dimorfismo sexual, pois são 1,2 vezes maior, além de possuir, na face ventral, e na parte posterior do metasterno, uma leve depressão. No macho a depressão é mais acentuada (Prando, 1999).

Os adultos de *O. oryzae* (Camargo et al., 1990b) e *L. oryzophilus* (Newell, 1913) nadam e mergulham facilmente nas lâminas d'água entre as plantas em busca de alimentos, de fêmeas para acasalamento e locais para oviposição.

Amaral (1950a) constatou que as larvas são responsáveis pelo maior prejuízo, alimentando-se do tecido de parte da planta e dirigindo-se posteriormente para as raízes, onde aderem e completam o ciclo de vida. No último ínstar larval fixam-se nas raízes onde empupam e permanecem até a emergência do adulto

Os adultos de *L. oryzophilus* são atraídos por fontes de luz (Newell, 1913) e há relatos de trabalhos efetuados no Brasil utilizando-se armadilha luminosa (Camargo et al, 1990b).

A oviposição, segundo Grigarick & Beards (1965), indica que a fêmea partenogenética de *L. oryzophilus*, na Califórnia, nadam abaixo da linha de água e os ovos são inseridos separadamente, sendo 93% na parte submersa da bainha da folha e acima da coroa. Everett & Trahan (1967) constataram menor oviposição com a drenagem. A fêmea de *O. oryzae* prefere ovopositar em plantas jovens, localizadas em lâmina de água com profundidade superior, estando a intensidade de ovoposição relacionada ao número de perfilhos.

Após a eclosão, as larvas de *O. oryzae* alimentam-se no interior da bainha foliar, destruindo as membranas divisórias das lacunas do aerênquima (Moreira, 1996), passando de uma lacuna à outra, por 1 a 1,5 dias. A larva de primeiro estágio faz um orifício circular de diâmetro pouco superior ao da cápsula cefálica, projeta-se para fora da bainha foliar e

desce entre os colmos e perfilhos do arroz, firmando-se com as mandíbulas e, por movimentos ondulatórios, desce por gravidade até penetrar no solo e se instalar nas raízes (Grigarick & Beards, 1965; Prando, 1999). Esse trânsito é crítico para a larva de primeiro ínstar, ectofítica por um curto período, até se instalar nas raízes da planta, mantendo-se bem até 48 horas (Prando, 1999). Em relação ao número de ínstaes, Grigarick & Beards (1965) obtiveram 4 ínstaes para *L. oryzophilus* e estimou-se 5 ínstaes para *O. oryzae* (Prando, 1999).

As pupas ficam presas a uma das raízes e aderidas por uma fina camada de argila (Azeredo, 1962), comportamento semelhante ao da larva madura de 4º ínstar de *L. oryzophilus* que constroi uma célula de barro na qual as pupas irão desenvolver-se (Tsuzuki, 1984). O casulo é aderido à uma raiz jovem, posicionado com o rostro para a raiz de fixação, normalmente até 6 cm de distância da coroa da planta, sendo o oxigênio suprido pelos aerênquimas da planta. As pupas medem em média 4,13 mm de comprimento e 2,77 mm de diâmetro (Prando, 1999).

O período larval e pupal varia de 34 a 62 dias nas temperaturas de 21,8°C a 29,3°C. O nível hipotético para o desenvolvimento da ovoposição para a emergência foi 12,7°C e a constante térmica de 665 graus-dias. O fotoperíodo e temperatura ideal para ovoposição foi 14,5 h de luz a 27°C e de 13,5 horas para 35°C (Tsuzuki, 1984). Tem sido observado 2 gerações por ano de *O. oryzae* no Rio Grande do Sul, a primeira geração causa mais danos que a segunda, pois o sistema radicular está em formação (Bertels & Martins, 1985).

O arroz não é o hospedeiro natural do gorgulho (Hix et al, 2000), pois a praga e o arroz não tem a mesma região de origem, mas adaptou-se perfeitamente ao arroz. As gramíneas espontâneas nas áreas contíguas são os principais hospedeiros, conforme coleta de larvas de *L. oryzophilus* em *Echinochloa crusgalli* (L.) (Lange & Grigarick, 1959). Em

condições climáticas desfavoráveis, plantas daninhas como *Brachiaria mutica*, *Panicum maximum* Jacq. e *Cyperus* spp, fornecem abrigo para o inseto hibernar (Carbonell, 1985).

Geralmente, a infestação do campo de arroz pelos adultos é coincidente com o início da inundação (Newell, 1913), concentrada nos 3 metros da margem da taipa (Grigarick & Beards, 1965).

A vegetação nas bordas das taipas indica ser um importante fator na infestação da praga, fornecendo refúgio e fonte de alimentos para os gorgulhos que emergem da diapausa, além de também atrair os gorgulhos no vôo (Palrang et al., 1994).

Os estímulos de entrada do gorgulho são influenciados pelas condições climáticas, pela presença de hospedeiro e lâmina de água. Martins (1976) determinou, no Sul do país, uma maior população de larvas em janeiro, e o início das infestações podem ocorrer já aos 10 dias após a inundação.

Newell (1913) observou que *L. oryzophilus* possui uma grande capacidade de adaptar-se às diferentes condições climáticas, e pela rápida invasão dos adultos com a entrada da água, concluiu que podiam estar hibernando próximo ao local. Essa informação, confirmada por Grigarick & Beards (1965) que amostraram adultos de *L. oryzophilus* hibernando na base de capins perenes, sob folhas, ou em áreas não cultivadas.

A densidade dos hibernantes de *L. oryzophilus* pode ser determinada pela proporção dos sítios favoráveis como condições topográficas, além de obter uma sobrevivência maior nos bosques do que sob folhas secas. Apesar disso, sobrevivem sob camada de neve e baixas temperaturas do ar de -18,6°C e no solo de -6°C no solo (Kobayashi, 1984, citado por Matsui, 1987). Os locais preferidos por hibernantes de *O. oryzae* são: bambu, sapé, eucalipto e taipas cobertas com touceiras altas de capim, locais sombrios e úmidos, sem encharcamentos periódicos (Camargo et al, 1990a).

Podem ser encontrados adultos vivos de *O. oryzae* na entressafra e aparentemente inativos e estimulados na presença de água. Nilakhe (1977) constatou que os hibernantes de gorgulho *L. oryzaophilus* possuem grande quantidade de gordura, sendo difícil localizar o trato digestivo, traquéia e ovários atrofiados.

Palrang & Grigarick (1993) verificaram que os gorgulhos apresentam preferência na resposta de vôo de adultos a diferentes tipos de substratos, sendo que a atração foi duas vezes maior nas áreas inundadas com arroz do que sem, indicando que este cereal é condição importante nessa combinação na atração em vôo.

2.2.2. Prejuízos

No estágio larval é que ocorre o maior dano ao alimentar-se das raízes (Bowling, 1963), *L. brevisrostris* pode causar injúrias nas raízes de até 83% (Carbonell, 1989) e reduzir o comprimento do sistema radicular em 23,7% (Leite et al, 1992b). O nível populacional dos estágios larvais de *L.oryzaophilus* varia em condições de campo. Fatores ambientais como manejo de água, solo e temperatura da água, nível de fertilidade do solo, variedades do arroz são responsáveis por algumas destas variações (Bowling, 1963), o dano dos adultos não é considerado como econômico (Cave, 1984).

O nível de dano é influenciado por diversos fatores como a população da larva, época de plantio e tolerância de cultivares em recompor novas raízes no lugar das danificadas. Essas perdas foram verificadas no sul do País na cultivar Bluebelle, onde a presença de 20 larvas/planta provocou redução de mais de 50% no rendimento (Oliveira, 1980) enquanto 15 larvas/planta na ‘BR IRGA 409’ reduziu apenas 8,9% a produção (Oliveira, 1988). *L. brevisrostris* pode reduzir em 20,7% a produção (Carbonell, 1989). Na variedade IAC 101, que é

utilizada no Vale do Paraíba, infestações de 30 larvas/planta podem provocar uma redução de 45% na produção (Takada et al., 1998).

Souza & Reis (1990) observaram que a larva não influenciou o perfilhamento, mas reduziu a altura de plantas.

2.3. Controle

É importante verificar o histórico de infestação do gorgulho nas safras anteriores e vistoriar o cultivo atual. Podem-se realizar essas amostragens pela presença de adultos uma semana após o início da entrada de água, Tugwell et al. (1982) correlacionou sua presença a partir do nível de lesões nas folhas.

Nos EUA, a tomada de decisão de controle é medida pelo índice de lesões nas folhas causadas por adultos de *L. oryzae*. O pico das lesões foi correlacionado com o número de larvas e algumas variações no número de larvas não foram associadas com a frequência das lesões, mas decisões corretas de controle foram possíveis com a varredura das cicatrizes de alimentação. O arroz deve ser examinado nas suas cicatrizes semanalmente, por duas a três semanas depois da inundação. O maior pico ocorre na primeira semana e os menores nas semanas seguintes (Morgan et al., 1989). Smith et al. (1986) citado por Botton (1996), recomendaram o controle quando 50% ou mais de plantas vistoriadas até 15 dias da inundação, apresentarem lesão na folha mais nova. O nível tolerável sem perda de produção foi estimada em 0,25% de adultos por área no caso de arroz de mudas.

A decisão de controle é efetuada considerando-se a densidade larval e o estágio da cultura (Wu & Wilson, 1997). Smith et al. (1986) citado por Botton (1996)

recomendam o controle de *L. oryophilus* quando até a época de iniciação das panículas, ocorrerem mais de 5 larvas/amostra de solo e raízes.

O início das infestações larvais de *O. oryzae* pode ocorrer a partir do 10^o dia após a inundação (Martins, 1976) e o nível de controle situa-se abaixo da densidade de 1,45 larvas por perfilho (Leite et al., 1992b).

2.3.1. Controle Químico

As primeiras pesquisas no Brasil para o controle químico de *O. oryzae*, foram realizados por Amaral (1950b) em laboratório com inseticidas clorados. Baucke (1957) recomendou BHC polvilhado antes do plantio nas áreas focos e Azeredo (1962) o uso de BHC nas partes atacadas.

Com o surgimento de insetos resistentes aos clorados, testes com fosforados e carbamatos foram realizados (Grigarick & Beards, 1965; Bowling, 1967; Gifford et al., 1972), observando-se a ação sistêmica e redução na ovoposição com carbofuran. Comparando com os clorados, Aquino & Pathak (1976) afirmaram que carbofuran aplicado na água de irrigação, na dose correta, apresenta baixo efeito residual, tanto no solo quanto nos tecidos vegetais, sendo logo metabolizado a compostos não tóxicos, não apresentando perigo de contaminação a peixes ou mananciais de água.

Nos últimos anos o gorgulho tem sido controlado com carbofuran nas principais regiões produtoras do Brasil e EUA, e continua a ser o controle mais utilizado no Brasil. Entretanto, esse produto apresenta um grande risco ambiental, pela sua toxicidade e a aplicação em várzeas inundadas.

Problemas de resistência verificados com os clorados, podem se repetir com o carbofuran, pois produtores tem verificado reinfestação nas áreas tratadas com subdosagem, e de acordo com Rahim (1981) há uma diferença de susceptibilidade para certas populações de *L. oryzaophilus* a esse carbamato, necessitando a atenção para avaliar o potencial de novos produtos, dentre os quais aqueles de natureza biológica. Restrições de uso foram fixadas pelo Departamento de Agricultura e Alimentos da Califórnia, reduzindo a quantidade e a necessidade de incorporação dos grânulos ao solo em certas áreas por causa do aumento de mortes de patos causados pela sua ingestão dos grânulos (Grigarick, 1990). Em 1992 o EPA anunciou a retirada do produto para o arroz irrigado até 1999 nos EUA (Helton, 1998; Rice et al., 1999), foram priorizados os testes de produtos mais seletivos, menos tóxicos para vertebrados e certos organismos não alvos, com rápida degradação e baixo nível residual em ambientes aquáticos como os inibidores da síntese de quitina (Smith et al., 1985) e a base de fipronil (Colliot et al, 1992).

No Brasil foram testados os piretróides para os adultos, reduzindo a ovoposição (Cruz, 1992; Martins et al., 1996). Também foi avaliado o fipronil no controle de larvas (Oliveira, 1994; Leite et al., 1995c e 1998; Botton et al., 1999).

2.3.2. Controle Cultural

Com a introdução do arroz irrigado no Continente Americano e a praga nativa adaptou-se muito bem a esse novo hospedeiro, e até a utilização de inseticida a principal medida de controle da larva consistia na drenagem da água de inundação, com resultados duvidosos e opiniões divergentes quanto a sua eficiência. Drenar e secar as várzeas inundadas foi o único meio de controle por mais de 75 anos (Isely & Schwardt, 1934).

Azeredo (1962) recomendou a retirada de água por um período de no mínimo, 7 a 10 dias, mas observando as conseqüências devido as plantas invasoras. Nos ensaios de drenagem para *O. oryzae* a população larval foi alta e o controle não foi eficiente (Martins, 1977).

Segundo Morgan et al. (1989), os agricultores têm obtido controle de larvas de *L. oryzophilus* semelhante ao da utilização de carbofuran quando os campos são drenados 10 dias após a inundação, permanecendo assim por 7-13 dias. Sabendo-se que o inseto necessita de lâmina de água para procurar hospedeiros, Hesler et al. (1992) afirmaram que a drenagem temporária é um das técnicas de controle potencial do gorgulho. Como os adultos ovopositam abaixo da linha da água, e se esse habitat favorece a sobrevivência dos ovos ou primeiros ínstaes ou ambos, a ausência da lâmina de água pode afetar a sobrevivência do inseto. O solo seco pela drenagem prolongada pode interromper o estabelecimento dos primeiros ínstaes na zona radicular e até afetar as larvas na raiz.

Thompson et al. (1994) utilizaram o manejo de água como tática de controle cultural para *L. oryzophilus*, atrasando a reinundação por 1 a 3 dias. Após 2 semanas de retirada da água, houve redução significativa dos imaturos e não foi observado efeitos adversos na produção.

Com a perda de raízes e conseqüente área de absorção de nutrientes da solução do solo, reforçar a adubação, poderia estimular a planta na emissão de novas raízes. Bowling (1963) verificou que o fornecimento de doses crescentes de nitrogênio, refletiram em maior população de larvas, possivelmente pela melhor palatabilidade, e assim maior preferência para ovoposição. As plantas tratadas com sulfato de amônio, mesmo sob maior infestação larval, tiveram volume radicular e produção semelhantes aos das plantas sem larva. (Martins et al.,

1987) a adubação nitrogenada não apresentou efeito na população da praga (Souza & Reis, 1990).

A remoção das plantas daninhas utilizadas como primeiros hospedeiros, antes da invasão dos campos de arroz pelos hibernantes, pode reduzir o nível de infestação (Palrang et al., 1994).

A densidade de plantas influenciou o número de ovos depositados por planta, durante as 3 primeiras semanas. Uma planta isolada muitas vezes tem maior número de imaturos que plantas com espaçamento normal (Thompson & Quisenberry, 1995).

Nas avaliações de adultos e larvas verifica-se que eles concentram-se nas partes mais profundas e Martins (1979) recomenda a eliminação das depressões do terreno contribuindo na redução dos focos e conseqüentemente diminuição dos danos.

Uma alternativa adicional ao controle do gorgulho é o desenvolvimento e utilização de cultivares resistentes ao gorgulho, que pode reduzir o custo do controle e o impacto sobre o ambiente. Os programas de melhoramento com o uso da biotecnologia, oferecem inovações tecnológicas como a mutação. Várias centenas de linhagens de arroz têm sido analisadas e expressaram diversos níveis de resistência ao gorgulho a algumas suportaram elevados números de larvas e não mostraram diferenças de produção entre as áreas sem a praga (Guessan et al., 1994). Smith & Robinson (1982) relataram cultivares moderadamente resistentes e apresentaram um fator de inibição que pode ter reduzido o crescimento e desenvolvimento da larva, Martins et al (1995) demonstraram alta tolerância da BR-IRGA 413.

2.3.3. Controle Biológico

Há pouca referência sobre inimigos naturais de *O. oryzae*, existindo apenas relatos de parasitismo e controle de fêmeas de *L. oryzophilus* por nematóides entomopatogênicos da família Mermithidae (Bunyarat et al., 1977). *Neoaplectana* (*Steinernema* sp) parasitou fêmeas de *L. brevirostris* em laboratório (Meneses & Montes, 1982), do mesmo modo que afetou larvas do gorgulho (Meneses & Montes, 1983). Insetos da família Dytiscidae foram observados por Prando (1999) predando larvas de *O. oryzae*.

A grande maioria dos trabalhos encontrados refere-se a ação de fungos entomopatogênicos sobre o gorgulho aquático, em especial fungos da espécie *Beauveria bassiana*.

Os fungos entomopatogênicos parasitam espécies fitófagas que habitam a parte aérea de plantas e raízes, podendo causar epizootias naturais, infectando diferentes estágios de desenvolvimento dos hospedeiros como ovos, larvas, pupas, e adultos (Alves, 1998).

O hábito do gorgulho aquático favorece a atuação dos fungos entomopatogênicos, pois como relata Ramoska (1984) a umidade relativa elevada foi favorável para a germinação e colonização de *B. bassiana*. A qualidade da água na várzea não interfere e nem estimula o processo germinativo dos conídios de *B. bassiana* (CB-66) e de *M. anisopliae* (CNPSo Ma-12) comparado com água destilada (Prando, 1999).

Trabalhos com fungos entomopatogênicos desenvolvidos em laboratório demonstram que estes agentes são mais promissores para o controle de adultos do gorgulho aquático. Mas, como a sua incidência natural no habitat é baixa, é necessário realizar a sua introdução no ambiente, mediante a aplicação inundativa do patógeno.

No Japão existem relatos de *L. oryzoophilus* parasitado por *M. anisopliae* (Nagano et al., 1987) e *Hirsutella jonesii* infectando *L. oryzoophilus* (Yoshizawa, 1990). No Brasil verificou-se a ocorrência do fungo *B. bassiana* (Bals.) Vuill. esporulado em adultos mortos em folhas de bambu (Mielitz & Silva, 1992). Principalmente nos locais de refúgio de hibernantes, com elevada agregação, houve 48% de infecção por *B. bassiana* (Mielitz et al., 1996).

Dentre os principais fungos entomopatogênicos utilizados em controle microbiano de insetos, *Metarhizium anisopliae* caracteriza-se por controlar um grande número de espécies de insetos. Amplamente distribuído na natureza, pode ser encontrado facilmente nos solos, onde sobrevivem por longos períodos. Os insetos infectados tornam-se duros e cobertos por uma camada pulverulenta de conídios. No final da conidiogênese o cadáver pode mostrar tons de verde que variam de claro a escuro, acinzentados ou ainda esbranquiçados com pontos verdes. Os conídios são normalmente uninucleados, hialinos ou fracamente coloridos e se formam sobre conidióforos simples que, justapostos, resultam em uma massa regular sobre o inseto (Alves, 1998).

Analisando a patogenicidade de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, Carbonell et al. (1980) verificaram a mortalidade de 65,6% de adultos de *L. brevisrostris* aos quatro dias após a aplicação dos fungos, chegando a 93,3% de mortalidade aos 20 dias. As fêmeas tratadas com *B. bassiana* interromperam o acasalamento, reduziram a alimentação e ovoposição e os poucos ovos não foram colocados no tecido vegetal (Carbonell et al., 1981).

Trabalhos de campo de Carbonell (1983) com *B. bassiana* (isolado 32), pulverizados na superfície da água, evidenciaram uma mortalidade de adultos de *L. brevisrostris* de 95% aos 20 dias e de 100% aos 32 dias depois da aplicação.

Comparando a patogenicidade dos dois principais fungos entomopatogênicos, *M. anisopliae* e *B. bassiana*, Garcia et al. (1990) aplicaram 20 mL de uma suspensão contendo 1×10^8 conídios/mL nas folhas de arroz com 20 dias da germinação, e ofereceram a adultos de *L. brevis*. *M. anisopliae* (isolado Niña Bonita) foi mais virulento para *L. brevis* com mortalidade de 42% em relação a *B. bassiana* (32) com apenas 6% de mortalidade. Os autores não observaram sinergismo na mistura e a mortalidade foi maior entre o 4º e 8º dia após a aplicação.

Uma estratégia na formulação do fungo, como a adição de óleo mineral e vegetal para aumentar a adesão do patógeno na cutícula do inseto, provocar asfixia no inseto e predispor-lo a penetração. Além disso, a mistura evita que a suspensão se dilua na água, mantendo a sua concentração original na superfície da mesma (Leite et al. 1992a). Observou-se também que devem ser tomadas precauções quanto a fitotoxicidade provocado pelo óleo. Os autores verificaram ainda que *B. bassiana* misturado ao óleo de soja, aplicado duas vezes após a inundação, apresentou sinergismo com infecção até 16,7% na dosagem de $1,6 \times 10^8$ conídios/ha.

Para determinar a relação dosagem de conídios de *B. bassiana* (CB-74) com a mortalidade, Leite et al. (1995a) obtiveram infecção de 72% de adultos na dose de $1,93 \times 10^8$ conídios/mL, e infecção de apenas 12% com uma dose dez vezes menor. Verificaram também que o maior período de infecção, está ao redor de 4 a 6 dias do contato com o patógeno, com 86% da mortalidade.

Nos trabalhos de campo, Leite et al. (1995b) pulverizaram 5×10^7 conídios/mL de *B. bassiana* com 20 l/ha de óleo de soja, obtendo um controle de 40% de larvas.

B. bassiana lançado nas entrelinhas da planta de arroz, na dose de $1,4 \times 10^{15}$ esporos/ha no final de safra, com a água recém drenada, infectou 20% dos adultos no 3º dia e 30% no 7º dia (Takada et al., 1996).

Em função dessa praga habitar o ambiente aquático a formulação tem um papel importante. Foi observado por Leite et al. (1994) que a formulação dos esporos de *B. bassiana* ($4,8 \times 10^{14}$ conídios/g) em pó molhável de alta densidade promoveu o controle de 66,6% dos adultos com 0,1g de formulação.

A pulverização de óleo mineral e *B. bassiana* (CB-74) na dose de 2×10^{14} conídios/ha, na cultura do arroz em estágio de colheita, controlou 50% de adultos do gorgulho aquático quando a aplicação foi feita no solo inundado, seguido logo após da drenagem, e 38% com a aplicação no solo já drenado (Takada et al., 1996).

Leite et al. (1998) avaliaram uma formulação de *B. bassiana* (CB-74), na qual uma leucita de alta densidade manteria o patógeno no fundo da lâmina de água e após a drenagem o inseto entraria em contato com o fungo, mas não obtiveram sucesso.

A aplicação do fungo causou alta mortalidade de adultos do gorgulho *Lissorhoptus oryzophilus* quando foram colocados sobre a superfície da folha tratada com *B. bassiana* (Rice, 1996).

Nitta (1996) obteve bons resultados quando aplicou *M. anisopliae* com arroz, nos pós-hibernantes de *L. oryzophilus*, mas a avaliação diferiu conforme a época de aplicação e/ou densidade de adultos.

Chen et al. (2000) demonstraram, no campo, que *M. anisopliae* aplicado, na concentração de 10^{14} esporos/ha no estágio de pré-ovoposição de *L. oryzophilus*, reduziu os adultos em 92,5% após 13 dias. A população inicial de adultos e larvas de 8,40 e 4,17, diminuiu com o fungo para 2,12 e 0,30 na geração seguinte.

A aplicação de *B. bassiana* sobre a lâmina de água, até três dias após a semeadura do arroz em sistema de cultivo pré-germinado, não apresentou controle de *O. oryzae* (Prando, 1999).

Segundo Prando (1999), *B. bassiana* ou *M. anisopliae* adicionado ao inseticida fipronil com doses reduzidas (50%) pode ser viável para o controle de *O. oryzae*.

Os fungos entomopatogênicos apresentam uma grande variabilidade genética, e cerca de 80% das doenças dos insetos tem como agentes etiológicos fungos pertencentes a 90 gêneros que reúnem 700 espécies distribuídas em diferentes grupos taxonômicos (Alves et al., 1998).

Examinando a variabilidade genética de *B. bassiana*, Urtz (1997) caracterizou isolados obtidos de *L. oryzae*, observando que divergiram em até 65% o nível de similaridade, sugerindo que certos isolados de *B. bassiana* normalmente infectam o gorgulho aquático do arroz irrigado e outros não. Chai et al. (2000) analisaram a patogenicidade de 37 isolados de *M. anisopliae* e verificaram que 6 isolados parasitaram 90% de *L. oryzae*.

A seleção de isolados, com boa conidiogênese, pode ser obtida através de cruzamentos com linhagens mais eficientes no controle biológico, o que resultaria em um aumento na produção de conídios aliado a alta agressividade. Ressalta-se, nesse caso, as diferenças na produção de exoenzimas, uma vez que a penetração do fungo no tegumento de insetos é facilitada por atividades mecânicas e enzimáticas, como a amilase, protease e lipase. Em geral, os isolados apresentam padrões distintos no número e mobilidade de bandas para estearose (Paccola-Meirelles & Azevedo, 1990).

No desenvolvimento de um programa de controle microbiano de pragas, é importante a utilização de isolados adequados, tendo características como alta eficiência no controle, capacidade de disseminação, resistência a condições ambientais adversas e alta produção de propágulos viáveis.

A variabilidade genética entre isolados de uma mesma espécie de fungo é destacada por diversos autores, razão pela qual a seleção de isolados representa a principal etapa para o desenvolvimento de bioinseticidas de origem microbiana.

Lecuona et al. (1996) encontraram diferenças de 50 a 90% na patogenicidade de 21 isolados de *B. bassiana* a larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius). Tamai (1997) obteve a partir de 105 isolados de *B. bassiana*, a seleção de 8 mais virulentos a *Tetranychus urticae*. Ramos (2001) obteve uma variação de 34 a 90% na susceptibilidade de ninfas de *Bemisia tabaci* a *M. anisopliae*.

Trabalhos nessa linha de pesquisa, permitem obter materiais promissores como o isolado CB-66, obtido originalmente da broca do café, e que encontra-se armazenado no Banco de Patógenos “Oldemar Cardim Abreu”, pertencente ao Laboratório de Controle Biológico do Instituto Biológico. Esse isolado apresenta grande potencial para o controle de diversas espécies de insetos entre os quais destaca-se o moleque da bananeira, *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sanidade Animal e Vegetal de Pindamonhangaba, pertencente ao Centro de Ação Regional do Instituto Biológico, no período de dezembro de 1999 a dezembro de 2001.

3.1 Manutenção de *Oryzophagus oryzae* em laboratório

Para a realização dos bioensaios foram utilizados adultos de *O. oryzae* coletados manualmente na véspera da montagem dos experimentos, em campos de arroz irrigado na região do Vale do Paraíba. Após identificar os locais infestados pelo inseto, verificou-se o histórico das práticas culturais realizadas na área antes da coleta, isto porque apesar de encontrarmos gorgulho ativo no campo pode ter ocorrido exposição a inseticidas, fato que prejudicaria o vigor dos exemplares coletados e comprometer o resultado do experimento.

As melhores áreas para a captura foram aquelas cultivadas com arroz no sistema pré-germinado, apresentando plantas com idade ao redor de 10 a 30 dias, e solo coberto

com uma lâmina d'água. Os insetos foram coletados preferencialmente em plantas de arroz nas proximidades das taipas (Figura 1A, B).

Os insetos foram coletados manualmente e colocados em frascos de vidro de 500 mL contendo 100 mL de água e pedaços de folhas de arroz, na quantidade de 200 indivíduos/frasco. Os recipientes tinham as paredes internas revestidas com papel de filtro visando fornecer uma superfície adequada aos adultos (Figura 1C). O material foi mantido em isopor com gelo até o retorno ao laboratório.

Os insetos foram identificados em microscópio estereoscópico, com o uso da chave dicotômica descrita no Quadro 1.

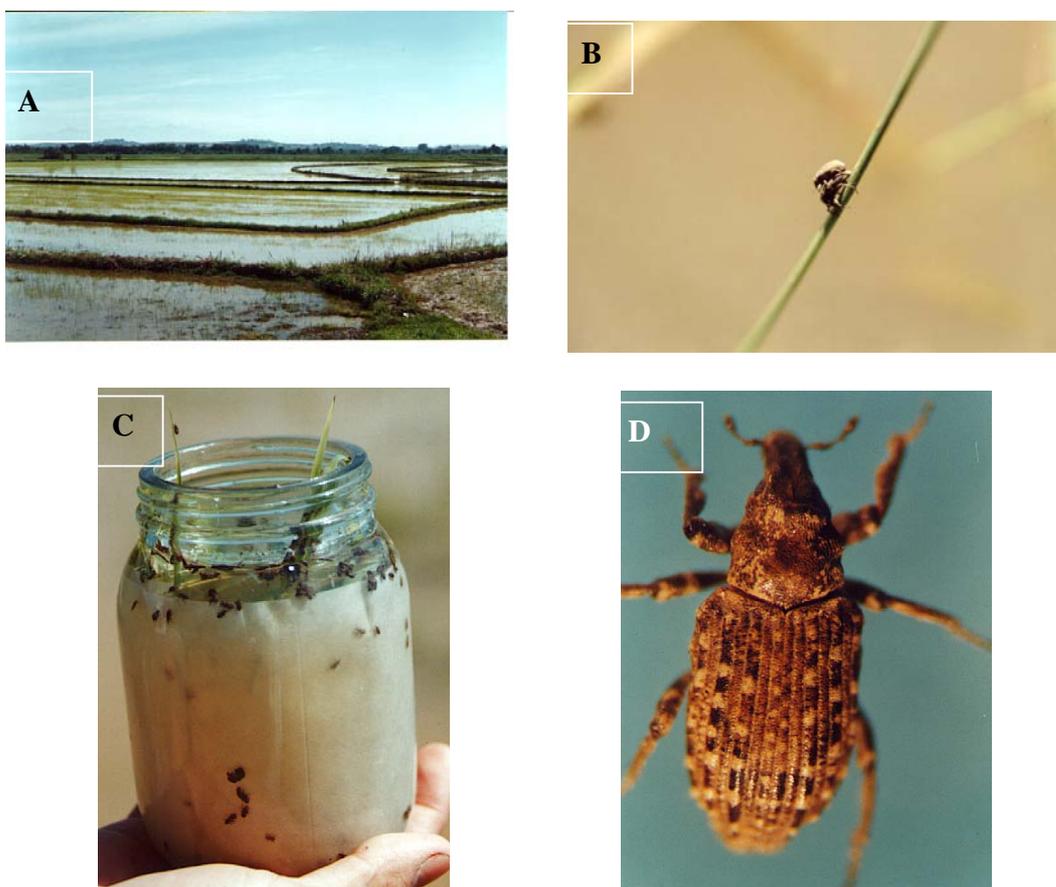


Figura 1. (A) Vista da área e fase da cultura para coleta; (B) Localização dos adultos na planta (2x); (C) Frasco de coleta; (D) *Oryzophagus oryzae* (20x).

Os indivíduos da espécie *Oryzophagus oryzae* (Figura 1D) foram mantidos em aquário de 60 x 30 x 30cm com as paredes internas revestidas com papel de filtro, ou vidro jateado até 2 cm acima da lâmina de água. Os insetos foram alimentados com folhas de arroz colocadas na superfície da água (figura 2A).

Quadro 1. Chave dicotômica para identificação das principais espécies de gorgulho aquático do arroz irrigado (Vanin, 1998)*.

1. Rostro longo, igual ou mais longo que o pronoto, cilíndrico.	
Tíbias médias sem franja de cerdas longas.....	<i>Onychilis argentinensis</i>
Rostro curto (mais curto que o pronoto), nunca cilíndrico.	
Tíbias médias com franja de cerdas longas.....	2
2. Élitros ao longo da sutura elitral deprimidos. Sulcos das estrias elitrais com fôveas grande e profundas.....	<i>Helodytes sp</i>
Élitros ao longo da sutura elitral sem depressão. Sulcos das estrias elitrais sem fôveas grande	3
3. Rostro em perfil, giboso na margem anterior, élitros sem mancha de escamas brancas.....	<i>Lissorhoptrus tibialis</i>
Rostro não giboso, achatado na margem anterior, élitro com manchas de escamas brancas.....	<i>Oryzophagus oryzae</i>

* VANIN, S.A. Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 1998. (Comunicação Pessoal).

As folhas de arroz utilizadas para a alimentação dos adultos durante o experimento foram obtidas de plantas com 15 a 30 dias de idade cultivadas em bandejas plásticas de 45 x 30 x 10 cm, contendo 6 litros de solo peneirado e adubado com 4g de N, 14g de P₂O₅ e 8 g de K₂O.

Para acelerar a germinação, 200 g de arroz da variedade IAC 103 foi imerso, por 24 horas, em água e depois escorrido e mantido abafado em pano de algodão recoberto com plástico preto sob o sol. Após 3 dias as sementes germinavam, sendo distribuídas nas bandejas plásticas (Fig. 2B).



Figura 2 (A) Local de manutenção dos adultos; (B) Cultivo de arroz para alimentação dos adultos.

3.2 Seleção de isolados

3.2.1. Determinação da concentração de conídios para a seleção dos isolados padrões de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*

Na fase inicial dos testes foi determinada a concentração de conídios/mL a ser utilizada para a seleção dos isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* mais virulentos ao gorgulho aquático.

Foram avaliados no caso de *B. bassiana* dois isolados, o material CB-74 proveniente de *L. oryzaophilus*, gorgulho aquático com o mesmo hábito que *O. oryzae*, e o CB-66 por apresentar ótimos resultados em *Cosmopolites sordidus* (Germar) e originalmente isolado da broca do café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867), as duas pragas da mesma família que o gorgulho do arroz (Batista et al., 1995). No teste com *M. anisopliae* o E9 foi eleito por apresentar resultados satisfatórios em diversos trabalhos de seleção de isolados em várias espécies de pragas (Ramos, 2001; Neves, 1998) (Quadro 2).

Quadro 2. Procedência e hospedeiro dos isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Oryzophagus oryzae*.

Isolado	Espécie	Substrato ou Hospedeiro	Procedência
CB-74	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Lissorhoptrus oryzaophilus</i>	Japão
CB-66	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Hypothenemus hampei</i>	São José do Rio Pardo-SP
E9	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Mahanarva posticata</i>	Pernambuco

Os isolados de *M. anisopliae* (E9) e *B. bassiana* (CB-74 e CB-66) foram repicados em placas de Petri contendo os meios de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) (Quadro 3). O meio foi preparado com esterilização a 120°C por 20 minutos. A operação foi realizada em câmara de fluxo laminar, inoculando-se uma suspensão de conídios puros sobre o meio de cultura, seguido da distribuição da suspensão com alça de Drigalsky.

O material foi mantido, durante 10 dias, em câmara de germinação sob condições controladas de temperatura (26°C±1°C) e fotofase de 12 horas. Ao atingir a esporulação foi realizada, na superfície do meio de cultura, uma raspagem para extração dos

conídios e micélios, os quais foram conservados a -12°C até o momento do preparo das diluições e inoculação.

As suspensões dos conídios foram preparadas com água destilada estéril e 0,1% do espalhante adesivo Tween 20. Foram usadas as concentrações de 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 conídios/mL, as quais foram determinadas em câmara de Neubauer através de leituras sob microscópio ótico com aumento de 400x.

Quadro 3 – Composição do meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA)

Ingredientes	Quantidade
Ágar	20 g
Dextrose	15g
Batata	200g
H ₂ O	1000 mL

Foram selecionados 15 adultos de *O. oryzae*, por repetição e separadas em placas de Petri (20 cm de diâmetro) e, com auxílio de uma bomba de vácuo a 7,5 lbs/pol² (0,5 kgf/cm²), e uma pistola de pulverização, foi aplicado 1 mL da suspensão fúngica de cada isolado por placa (fig. 3A). Para cada tratamento foram utilizadas 5 repetições. As placas possuíam todas as suas superfícies internas revestidas com papel de filtro e 0,40 g de folhas de arroz utilizadas na alimentação dos adultos. Além disso, uma tira de filme de PVC foi colocada na lateral para impedir a saída dos insetos e manter o ambiente interno úmido.

A forração de papel de filtro e as folhas eram inspecionadas diariamente durante a semana. Após esse período, o papel de filtro e o arroz eram trocados a cada 2 dias, aumentando a frequência de troca com o decorrer do ensaio (fig. 3B, C).

As placas contendo os insetos foram transferidas para câmara climatizada tipo BOD ajustadas para temperatura de $26^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e 12 horas de fotofase (fig. 3D).

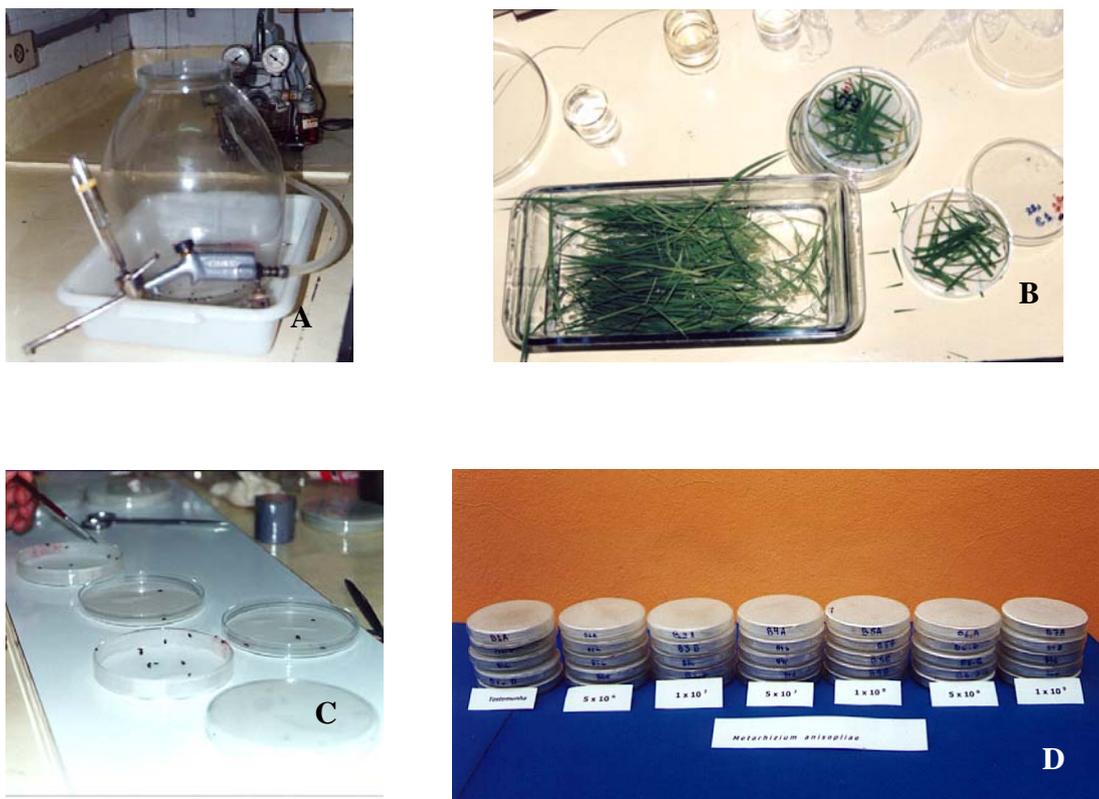


Figura 3. (A) Equipamentos para aplicação; (B) Preparação das placas; (C) Separação dos adultos de *Oryzophagus oryzae* inoculados nas placas de Petri; (D) Vista do ensaio instalado.

As parcelas com os insetos foram avaliadas diariamente até o 15^o dia, registrando-se a contagem dos insetos vivos e mortos. Para confirmação da morte, os insetos

imóveis eram mergulhados em água destilada por 5 minutos e caso permanecessem imóveis eram considerados mortos. Para confirmar as causas da mortalidade decorrente dos patógenos, os cadáveres eram mergulhados em álcool 70% por 30 segundos, e posteriormente transferidos para as câmaras úmidas dentro de placas plásticas de Petri, com o objetivo de permitir a extrusão e esporulação do fungo. Os dados obtidos foram analisados usando-se Probit. Assim, foram determinadas as concentrações que ocasionaram mortalidades confirmadas de adultos em 50 e 70%.

3.2.2. Seleção de isolados de *M. anisopliae* a *O. oryzae*

Nos bioensaios de patogenicidade foram utilizados 21 isolados de *M. anisopliae*, provenientes de diferentes localidades do Brasil e obtidos a partir de amostras de solo e de cadáveres de insetos infectados (Quadro 4). Os isolados se encontram armazenados no Banco de patógenos “Oldemar Cardim Abreu”, pertencente ao Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental do Instituto Biológico, localizado em Campinas-SP.

Os isolados foram multiplicados preliminarmente à montagem dos ensaios, e as técnicas de repicagem, esporulação e raspagem dos esporos foram similares ao descrito no item 3.2.1.

A suspensão dos isolados para a pulverização foi padronizada na dosagem de 5×10^8 conídios/mL, concentração determinada anteriormente para o isolado E9 de *M. anisopliae* que causou a CL_{70} confirmada nos adultos de *O. oryzae*.

Quadro 4. Hospedeiro e procedência dos isolados de *Metarhizium anisopliae* utilizados nos bioensaios com *Oryzophagus oryzae*.

Isolado	Substrato ou Hospedeiro	Procedência
CB-10	Cigarrinha da pastagem	Araçatuba - SP
CB-103	<i>Scaptocoris castanea</i>	Campinas - SP
CB-104	<i>Scaptocoris castanea</i>	Campinas - SP
CB-116	Solo	Contagem - MG
CB-117	Solo	Belo Horizonte - MG
CB-142	Solo	Cascabel - SP
CB-153	Solo	Arae Moreira - MS
CB-155	Solo	Cascavel - PR
CB-160	Solo	Cascavel - PR
CB-162	Solo	Cascavel - PR
CB-167	Solo	Cascavel - PR
CB-168	Solo	Cascavel - PR
CB-171	Solo-soja	Arae Moreira - MS
CB-176	Solo	Cascavel - PR
CB-179	Solo	Cascavel - PR
CB-183	Solo	Cascavel - PR
CB-191	Solo-soja	Cascavel - PR
CB-197	Solo-mata	Guaraniaçu - PR
CB-217	Solo-manga	Ribeirão Preto - SP
CB-218	Solo-manga	Ribeirão Preto - SP
CB-232	Solo-eucalipto	Aracruz - ES
CB-233	Solo-manga	Santo Antônio da Posse - SP
CB-234	Solo-milho	Casa Branca - SP

3.2.3. Comparação dos isolados de *M. anisopliae* mais virulentos a *O. oryzae*

Este bioensaio foi instalado a partir dos melhores isolados do item anterior, os quais causaram mortalidade confirmada superior ao isolado padrão E9. Neste teste, os procedimentos adotados foram similares aos utilizados nos itens anteriores, aumentando-se apenas o número de repetições para sete.

3.2.4. Produção em arroz pré-cozido

No ensaio de produção, os isolados mais virulentos, selecionados anteriormente, foram comparados com o isolado padrão (E9) quanto à produção de conídios em arroz pré-cozido.

Os isolados foram repicados conforme metodologia descrita anteriormente. Foram preparados como substrato para crescimento e esporulação 100 gramas de arroz pré-cozido em água, acondicionado em um saco plástico de polipropileno de 35 cm de comprimento e 22 cm de largura. Esse saco foi fechado com grampos de metal e submetido a esterilização em autoclave (120°C por 30 minutos) e resfriado em condição ambiente. A inoculação foi realizada em câmara de fluxo laminar vertical com 1 mL da suspensão de $5,5 \times 10^6$ conídios/mL. O arroz inoculado foi agitado para a distribuição adequada dos conídios. Foram utilizados 5 sacos plásticos para cada isolado, sendo cada saco uma repetição.

Após a inoculação, os sacos foram acondicionados em sala climatizada sob condições controladas (temperatura de 25°C; UR=60% e fotofase de 12 horas) por 11 dias até a obtenção dos conídios.

Decorrido esse período foi retirada, ao acaso, três amostras por saco contendo, cada uma, 1 grama de arroz com fungo. Essas amostras foram suspensas em 10 mL de

água destilada e agitados em Vórtex. Os conídios produzidos foram quantificados sob microscopia óptica aumento de 400x, através de câmara de Neubauer. Os dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey ao nível de 5%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Manutenção de *Oryzophagus oryzae* em laboratório

Para a manutenção do vigor dos insetos coletados no campo, foram adaptadas em laboratório as condições ambientais naturais e uma cuidadosa manipulação dos espécimes, nas diversas etapas da instalação dos bioensaios.

Como o adulto está adaptado ao hábito aquático e também necessita de uma superfície como folhas de plantas, para alimentação e repouso, procurou-se fornecer essa situação no frasco de coleta, com o revestimento de papel de filtro e pedaços de folhas de arroz. No laboratório os adultos foram distribuídos em aquários com água sem cloro, similar ao microclima nas várzeas. As paredes laterais foram recobertas com papel de filtro ou jateado numa faixa acima e abaixo do nível da lâmina de e folhas de arroz na sua superfície, facilitando a sua movimentação para as laterais do aquário, com o intuito de reduzir a tensão superficial da água próximo a superfície lisa do vidro.

Nesse estudo, a manutenção dos insetos, antes e após a instalação dos experimentos, foi adequada, pois a mortalidade na testemunha até o 15º dia de avaliação, era de

apenas 5,3%. Esse resultado foi possível devido ao revestimento da placa de Petri com papel filtro, artifício que permitiu a fixação dos insetos, evitando o “stress” causado pelo esforço em manter-se aderido as placas. Essa técnica facilitou a manipulação dos insetos nas operações de limpeza e avaliação.

4.2. Determinação da concentração de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para a seleção de isolados contra *Oryzophagus oryzae*.

Foi utilizada a mortalidade confirmada como parâmetro para estudar o comportamento dos melhores isolados, pois representa a capacidade de colonização do patógeno superando todos os agentes microbianos competidores presentes no inseto, e o nível de conidiogênese do isolado, que é um fator determinante na disseminação do patógeno no ambiente (Neves, 1998). Entretanto, foi definido que a concentração padrão utilizada na seleção dos isolados, determinada pela análise de Probit, seria a CL_{90} , obtida no 10º dia (mortalidade total do padrão E9). Essa decisão foi baseada na baixa capacidade de esporulação desse isolado, o que provocaria uma CL_{90} alta, caso fosse analisado pela mortalidade confirmada, inviabilizando a pulverização devido à alta concentração do fungo. A mortalidade total representa a somatória da mortalidade causada diretamente (mortalidade confirmada) e indiretamente pelo patógeno, além da mortalidade causada por outros fatores como o estresse e manuseio.

Considerando que nos insetos mortos, onde o fungo não esporulou, ocorreu uma septicemia pelo seu aspecto de podridão, duas hipóteses podem ser consideradas para explicar esta mortalidade não confirmada ou indireta como: (1) o fungo possibilita a entrada de outros microrganismos (bactérias) através dos orifícios feitos na cutícula, quando de sua penetração e (2) quando ingeridos, os conídios provocam o rompimento do epitélio intestinal,

pela germinação/penetração ou pela liberação de toxinas que desestruturam a parede intestinal, possibilitando a contaminação da hemolinfa por bactérias. Esta contaminação da hemolinfa, principalmente pelos orifícios na cutícula, está intimamente relacionada com a contaminação externa dos gorgulhos que por sua vez pode ser maior quando estes são manipulados na instalação dos bioensaios. Assim, a mortalidade indireta pode ser causada por diferentes fatores, que podem ou não ocorrer, tornando-a bastante variável. Por outro lado, a mortalidade direta ou confirmada representa o número de insetos nos quais o fungo esporulou, evidenciando a capacidade do isolado completar todo o seu ciclo dentro do hospedeiro (Neves, 1998) (Fig. 4).

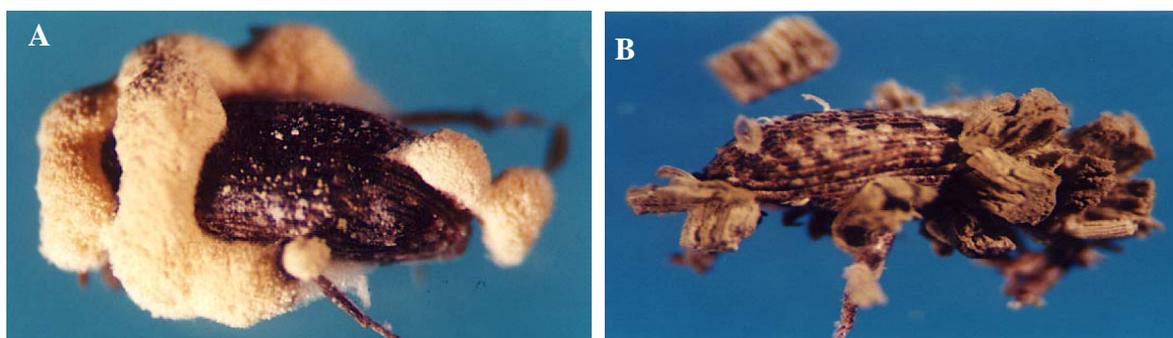


Figura 4. Infecção de adultos de *Oryzophagus oryzae* pelo fungo: (A) *Beauveria bassiana*, isolado CB-74; (B) *Metarhizium anisopliae*, isolado E9 (15x).

Os insetos tratados com *M. anisopliae* (E9), nas concentrações de 1×10^7 , 5×10^6 e 5×10^7 conídios/mL, apresentaram mortalidade confirmada abaixo de 30% no 10º dia de avaliação (Quadro 5). Na concentração de 1×10^8 conídios/mL, a mortalidade aumentou expressivamente alcançando 50% no 9º dia (Figura 5).

Os maiores índices de infecção foram alcançados no 10º dia com as concentrações de 5×10^8 e 1×10^9 conídios/mL (68,0 e 73,3%, respectivamente) (Quadro 5).

Analisando pelo Probit o número de insetos infectados mortos acumulados até o 10^o dia, as CL₅₀, CL₇₀ e CL₉₀ foram, respectivamente, de 1,37x10⁸, 3,93x10⁸ e 1,39x10⁹ conídios/mL (Quadro 8). Considerando que a mortalidade de 70% foi obtida com 1 mL da suspensão fúngica contendo 3,93x10⁸ conídios/mL, aplicada sobre 314 cm² de superfície, para obtenção do mesmo nível de mortalidade em condições de campo seriam necessários pelo menos 1,27x10¹⁴ conídios/ha. Esta dosagem está próxima daquelas usadas para *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Nomuraea rileyi* visando o controle de pragas em condições de campo, as quais situam-se entre 10¹³ e 10¹⁴ conídios/ha. Utilizando 10¹⁴ conídios/ha de *M. anisopliae*, em condições de campo, Chen et al. (2000) obtiveram 92,8% de controle de *Lissorhoptrus oryzophilus*.

Quadro 5. Mortalidade acumulada (%) de adultos de *Oryzophagus oryzae*, submetidos a seis concentrações de *Metarhizium anisopliae*, isolado E9 (T=26°C±1°C; Fotofase=12 horas).

Conc. conídios/mL	Dias após a inoculação					
	5 dias			10 dias		
	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.
5x10 ⁶	4,0	0,0	0	22,7	0	4,0
1x10 ⁷	8,0	1,3	6,7	21,3	0	17,3
5x10 ⁷	20,0	13,3	17,3	41,3	14,6	29,3
1x10 ⁸	33,3	26,6	26,7	65,3	38,6	53,3
5x10 ⁸	66,7	60,0	45,3	94,7	68,0	68,0
1x10 ⁹	74,7	68,0	54,7	96,0	69,3	73,3

A mortalidade teve início a partir do terceiro dia nas concentrações de 5×10^7 , 5×10^8 e 1×10^9 conídios/mL, aumentando em seguida até estabilizar-se entre o 8º e 10º dia (Figura 5). Garcia (1990) também observou que a mortalidade de adultos de *Lissorhoptus brevirostris* estabilizou-se no 8º dia após a inoculação de *M. anisopliae*.

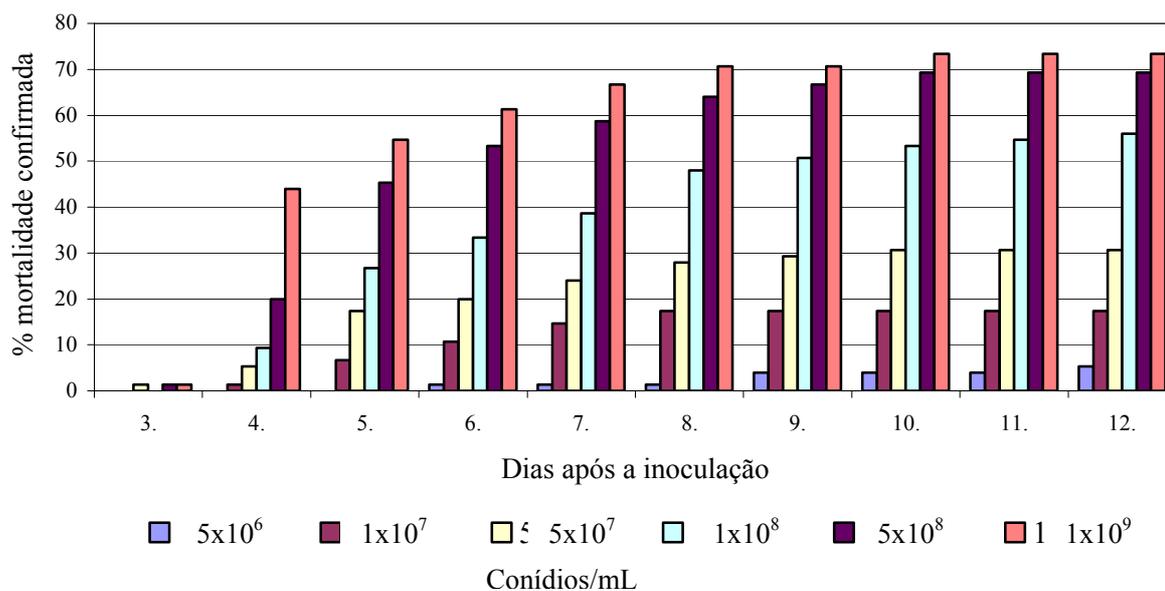


Figura 5. Mortalidade (%) de *Oryzophagus oryzae* por *Metarhizium anisopliae*, isolado E9, em 6 diferentes concentrações ($T=26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; Fotofase=12 horas).

Para o caso de *B. bassiana* (CB-66) o início da mortalidade confirmada foi observado no 3º dia, com 5,3%, aumentando em seguida até estabilizar-se no 6º dia, com 54,7% (Figura 6). Para o isolado CB-74, a mortalidade iniciou-se no 4º dia com 28,0%, estabilizando-se no 6º dia, com 42,7% (Figura 7). Leite et al. (1995a), utilizando o isolado CB-74, também observaram os mesmos resultados quanto ao período para iniciar e estabilizar a mortalidade de adultos desse inseto. Observando os períodos para iniciar a mortalidade relacionados aos fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*, pode-se atribuir uma maior rapidez na atuação para o primeiro patógeno.

Quadro 6. Mortalidade acumulada (%) (total e confirmada) de *Oryzophagus oryzae*, submetido a seis concentrações de *Beauveria bassiana*, isolado CB-66 (T=26°C±1°C; Fotofase =12 horas).

[C] conídios/mL	Dias após a mortalidade					
	5 dias			10 dias		
	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.
5x10 ⁶	6,7	5,4	0,0	26,7	24,0	9,3
1x10 ⁷	14,7	13,4	4,0	29,3	26,6	10,7
5x10 ⁷	13,3	12,0	9,3	38,7	36,0	20,0
1x10 ⁸	38,7	37,4	20,0	57,3	54,6	33,3
5x10 ⁸	57,3	56,0	44,0	78,7	76,0	57,3
1x10 ⁹	65,3	64,0	61,3	74,7	72,0	68,0

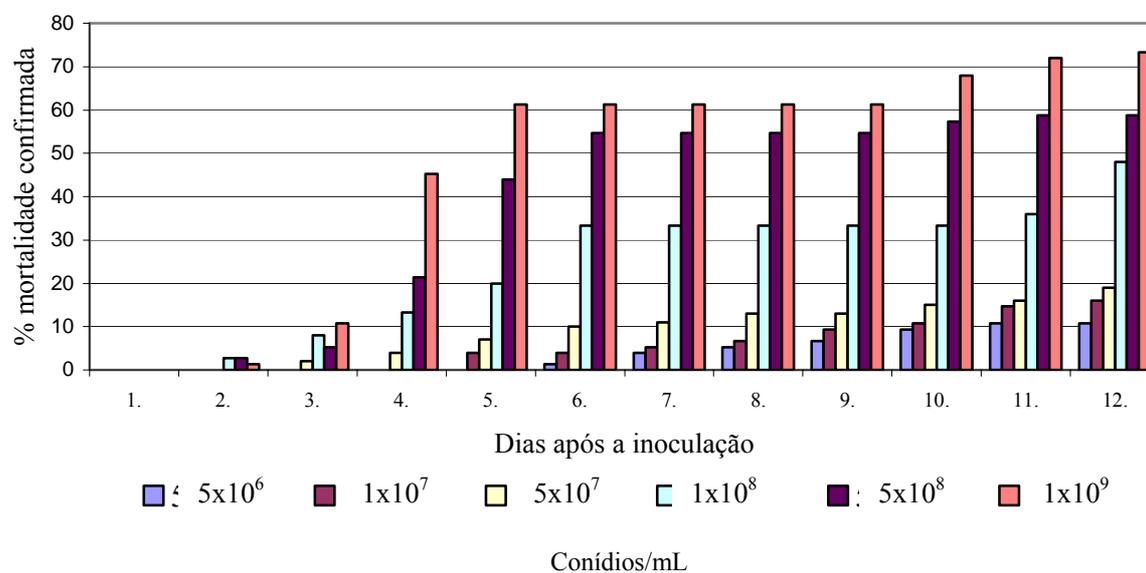


Figura 6. Mortalidade (%) de *Oryzophagus oryzae* por *Beauveria bassiana*, isolado CB-66, em 6 diferentes concentrações (T=26°C±1°C; Fotofase=12 horas).

Quadro 7. Mortalidade acumulada (%) (total e confirmada) de *Oryzophagus oryzae*, submetido a seis concentrações de *Beauveria bassiana*, isolado CB-74 (T=26°C±1°C; Fotofase = 12 horas).

[C] conídios/mL	Dias após a inoculação					
	5 dias			10 dias		
	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.
5x10 ⁶	38,7	20,0	0	85,3	29,3	1,3
1x10 ⁷	54,7	36,0	4,0	77,3	21,3	8,0
5x10 ⁷	37,3	18,6	14,7	82,7	26,7	36,0
1x10 ⁸	57,3	38,6	10,7	90,7	34,7	22,7
5x10 ⁸	57,7	39,0	33,3	92,0	36,0	54,7
1x10 ⁹	53,3	34,6	37,3	82,7	26,7	54,7

O tempo que o fungo leva para provocar a morte do inseto (tempo médio de incubação) varia em função de diversos fatores, incluindo a espécie do hospedeiro, mesmo dentro de uma mesma família. Batista Filho et al. (1995) observaram que o isolado CB-66 levou 8 dias para provocar 14% de mortalidade em adultos de *Cosmopolites sordidus* após a aplicação de 5x10⁶ conídios/mL do fungo. Esse tempo para causar a morte é inferior ao observado para o gorgulho, usando o mesmo isolado, na mesma concentração levou 12 dias para provocar 10% de mortalidade (Figura 6). A ação lenta do produto pode estar ligado ao modo de aplicação do produto e segundo os autores, a ação lenta pode ser uma susceptibilidade da população em função da época de coleta, condição fisiológica, ou de reações específicas do fungo nos processos de penetração, colonização, ação de toxinas e mecanismos de defesa do inseto. Outro fator que pode

afetar a virulência do entomopatôgeno foi observado por Batista Filho et al. (1987) quando constataram que um isolado de *M. anisopliae* (CB-32) apresentou variação em sua virulência quando multiplicados em diferentes meios de culturas, em arroz causou mortalidade superior quando comparado a produção em macerado de feijão. Para outras espécies de insetos e ácaros também foram encontradas variações no intervalo de mortalidade dos fungos entomopatogênicos. Tamai (1997) observou para *Tetranychus urticae* Koch que *B. bassiana* foi mais eficiente entre o 5º e o 6º dias após a inoculação. A mortalidade causada por *M. anisopliae* (E9) sobre *Bemisia tabaci* foi maior entre o 3º e o 5º dia enquanto para *Cornitermes cumulans* o pico de mortalidade ocorreu no 3º dia para os dois fungos.

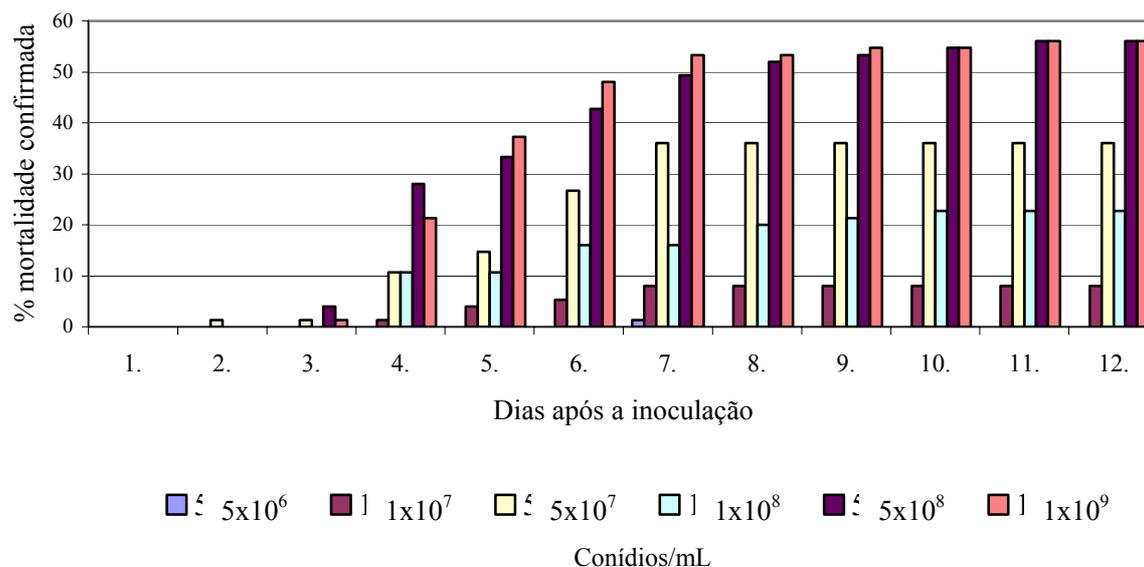


Figura 7. Mortalidade (%) de *Oryzophagus oryzae* por *Beauveria bassiana*, isolado CB-74, em 6 diferentes concentrações (T=26°C±1°C; Fotofase=12 horas).

Verificamos que os valores obtidos da mortalidade confirmada (%) é sempre menor que a mortalidade total (%) nos tratamentos, pois nem todos os insetos mortos manifestam os sinais característicos da doença ou morreram por causa do fungo. A mortalidade corrigida (%) calculada, a partir da mortalidade total (%) subtraída da mortalidade acumulada da testemunha no período avaliado, e estima apenas os efeitos dos tratamentos com o fungo e descontar as causas não controláveis, como não adaptação ao ambiente artificial, variabilidade natural da população do inseto. Verifica-se que há uma grande variação da mortalidade corrigida comparada com a confirmada, portanto o melhor parâmetro para avaliar os tratamentos é a mortalidade confirmada.

O período utilizado para avaliação foi adequado, pois a mortalidade tendeu a estabilizar-se após o 10º dia da inoculação. Após esse período, a sobrevivência dos insetos na testemunha foi afetada. Condição mais crítica foi observada por Neves (1998) para *Cornitermes cumulans*, cujo período de avaliação foi de 5 dias, devido a resistência do inseto.

Comparando-se os isolados de *B. bassiana* (CB-66 e CB-74) na concentração de 5×10^8 conídios/mL, foi observado que eles tiveram, aos 10 dias, desempenhos muito próximos, com 57,3 e 54,7% de mortalidade, respectivamente (Quadro 6 e 7). Por outro lado, Leite et al. (1990) obtiveram diferença mais acentuada entre esses isolados na avaliação contra adultos de *O. oryzae*, com maior eficiência para o CB-74 (91,4%) do que para o CB-66 (76,9%).

O fungo *M. anisopliae*, isolado E9, causou mortalidade de 68% no 10º dia de avaliação, apresentando-se mais patogênico que os isolados de *B. bassiana* (Quadro 5). A DL_{70} determinada para *M. anisopliae*, de $3,95 \times 10^8$ conídios/mL, é menor que as DL_{70} determinadas para *B. bassiana*, de $7,8 \times 10^8$ conídios/mL para o isolado CB-66, e $9,6 \times 10^8$ conídios/mL para o CB-74 (Quadro 8).

Quadro 8. Análise de Probit do teste de concentração da mortalidade acumulada confirmada, de *Oryzophagus oryzae* aos 10 dias após a inoculação com *Metarhizum anisopliae*, isolado E9, e *Beauveria bassiana*, isolados CB-66 e CB-74.

Espécie / Isolado	CL ₅₀	CL ₇₀	CL ₉₀	Q ²	r ²	a	B
<i>M. anisopliae</i> (E9)	1,37.10 ⁸	3,93.10 ⁸	1,81.10 ⁹	32,34	0,7861	-1,64	0,82
<i>B. bassiana</i> (CB-66)	2,52.10 ⁸	7,81.10 ⁸	4,00.10 ⁹	26,52	0,77	-1,95	0,82
<i>B. bassiana</i> (CB-74)	3,20.10 ⁸	9,60.10 ⁸	4,74.10 ⁹	32,51	0,68	-1,164	0,71

Garcia (1990), também evidenciou maior patogenicidade de *M. anisopliae* do que *B. bassiana* contra adultos de *L. brevisrostris* aos 8 dias da inoculação. Portanto, *M. anisopliae*, isolado E9, apresentou melhores resultados de mortalidade para adultos de *O. oryzae*, razão pela qual foi selecionado somente isolados dessa espécie de fungo para as etapas seguintes. Da mesma forma, Ramos (2001) verificou que esse fungo (E9) foi mais patogênico para ninfas de *Bemisia tabaci*, quando comparado com outros isolados de *B. bassiana*.

A concentração selecionada para os testes utilizando isolados de *M. anisopliae* foi de 5×10^8 conídios/mL, que causou a mortalidade acumulada total de 94,7% no 10º dia (Quadro 5).

4.3 Isolados de *Metarhizium anisopliae* x *Oryzophagus oryzae*

Os isolados de *M. anisopliae* provocaram níveis de infecção dos adultos de 9,3 % a 85,3% (Quadro 9). Foi observado uma diferença na esporulação dos insetos tendo alguns deles pequenos sinais do fungo na região das articulações das pernas e membranas intersegmentares, enquanto outros insetos tinham o corpo com esses sinais mais acentuados e com uma boa esporulação. Todos esses sinais foram considerados para confirmar a infecção causada pelo fungo (Figura 7B).

Verificamos uma variação nos resultados da mortalidade confirmada do isolado padrão E9 de *M. anisopliae* entre as várias etapas realizadas, conseqüências das diferenças de população, alterações no tempo de manipulação do inseto e outros fatores, portanto para permitir uma comparação mais adequada, cada isolado foi comparado com os resultados obtidos pelo padrão E9 daquele teste.

Quadro 9. Mortalidade acumulada (%) total, corrigida e confirmada, de *Oryzophagus oryzae* aos 10 dias após a inoculação com diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae* na concentração de 5×10^8 conídios/mL, em diferentes experimentos (T=26°C±1°C; Fotofase=12 horas).

Isolado	Dias após a inoculação					
	5 dias			10 dias		
	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.	Mortal. Total	Mortal. Corrig.	Mortal. Confir.
E9	53,3	22,6	13,3	96,0 a	18,7	32,0 a
CB-153	81,3	50,6	24,0	93,3 a	16,0	32,0 a
CB-142	61,3	30,6	10,7	100 a	22,7	29,3 a
CB-155	57,3	26,6	18,7	93,3 a	16,0	29,3 a
CB-160	65,3	34,6	13,3	96,0 a	18,7	22,7 a
Test.	30,7	-	-	77,3 a	-	-
E9	50,7	9,4	32,0	93,3 ab	16,0	44,0 ab
CB-103	88,0	46,7	50,7	96,0 ab	18,7	52,0 a
CB-167	94,7	53,4	29,3	98,7 a	21,4	29,3 c
CB-162	72,0	29,7	29,3	92,0 a	14,7	29,3 bc
Test.	41,3	-	-	77,3 b	-	-
E9	54,7	38,7	36,0	90,7 a	57,4	58,7 a
CB-179	40,0	24,0	33,3	86,7 a	53,4	73,3 a
CB-116	52,0	36,0	48,0	76,0 a	42,7	69,3 a
CB-117	50,7	34,7	46,7	80,0 a	46,7	69,3 a
CB-183	42,7	26,7	30,7	89,3 a	56,0	54,7 a
Test.	16,0	-	-	33,3 b	-	-

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si nas colunas e tratamentos separados pela linha pontilhada, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Dados transformados por raiz quadrada de $\sqrt{(x+0,5)}$.

Quadro 9. (cont.) Mortalidade acumulada (%) total, corrigida e confirmada, de *Oryzophagus oryzae* aos 10 dias após a inoculação com diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae* em diferentes experimentos (T=26°C±1°C; Fotofase=12 horas).

Isolado	Dias após a inoculação					
	5 dias			10 dias		
E9	76,0	62,7	50,7	100,0 a	58,7	70,7 ab
CB-104	84,0	70,7	73,3	98,7 a	57,4	85,3 a
CB-191	66,7	53,4	57,3	88,0 a	46,7	73,3 ab
CB-171	80,0	66,7	48,0	98,7 a	57,4	58,7 ab
CB-176	73,3	60,0	42,7	92,0 a	50,7	49,3 b
Test.	13,3	-	-	41,3 b	-	-
E9	34,7	33,4	26,7	72,0 a	46,7	54,7 a
CB-197	46,7	45,4	44,0	77,3 a	52,0	69,3 a
CB-217	53,3	52,0	44,0	76,0 a	50,7	65,3 a
CB-218	53,3	52,0	42,7	78,7 a	53,4	65,3 a
Test.	1,3	-	-	25,3 b	-	-
E9	28,0	24,0	16,0	73,3 a	58,6	48,0 a
CB-233	62,7	58,7	50,7	90,7 a	76,0	74,7 a
CB-10	68,0	64,0	52,0	89,3 a	74,6	69,3 a
CB-234	68,0	64,0	36,0	89,3 a	74,6	54,7 a
CB-168	13,3	9,3	9,3	60,0 ab	45,3	13,3 b
CB-232	6,7	2,7	3,6	38,7 bc	24,0	9,3 bc
Test.	4,0	-	-	2,7 c	-	-

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si nas colunas e tratamentos separados pela linha pontilhada, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Dados transformados por raiz quadrada de $\sqrt{(x+0,5)}$.

Os isolados selecionados foram aqueles que apresentaram mortalidade confirmada superior ao E9 no 10^o dia de avaliação, para cada grupo avaliado. O desempate foi

avaliado pelo índice no 5º dia. O índice foi calculado a partir da comparação da porcentagem da mortalidade confirmada do isolado avaliado e do isolado padrão E9 (Quadro 10), a partir da seguinte relação:

$$\text{Índice de superioridade} = \frac{\% \text{ Mortalidade acumulada confirmada do Isolado}}{\% \text{ Mortalidade acumulada confirmada do Padrão}} \times 100$$

Quadro 10. Índices de superioridade dos melhores isolados de *Metarhizium anisopliae* para provocar mortalidade em adultos de *Oryzophagus oryzae* comparados ao padrão E9.

Isolados	Dias após a inoculação	
	5 dias	10 dias
CB-233	3,16	1,57
CB-10	3,25	1,44
CB-153	1,80	-
CB-197	1,65	1,27
CB-179	-	1,25
CB-103	1,58	1,18
CB-155	1,41	-
CB-116	1,33	1,18
CB-117	1,30	1,18
CB-234	1,25	1,14
CB-217	0,65	1,10
CB-218	0,60	1,10
CB-191	0,13	1,03

Assim foram selecionados os isolados CB-233, CB-10, CB-197, CB-179, CB-104, CB-103 (Quadro 11). O isolado CB-179 foi descartado na etapa final dos isolados por ter apresentado problemas durante a produção.

A partir dos seis isolados selecionados, incluindo o padrão, foi realizado um novo ensaio. Os isolados CB-103, CB-104 e CB-233 proporcionaram as maiores mortalidades ao longo das avaliações, causando mais de 80% de infecção dos insetos no décimo dia (Quadro 11, Figura 8). Todos os isolados tiveram respostas acima do padrão. Segundo Paccola-Meirelles & Azevedo (1990) e Kleespies & Zimmermann (1994) a variabilidade genética dos isolados é resultado das diferenças na produção de enzimas (amilase, protease, lipase) e toxinas na velocidade de germinação dos conídios, na atividade mecânica de penetração na cutícula e na capacidade de colonização dos isolados.

Urtz (1997) caracterizou os isolados de *B. bassiana* obtidos de *L. oryzaephilus* e verificou não haver similaridade genética entre os isolados, sugerindo que certos genótipos de *B. bassiana* podem ter variação na infecção ao gorgulho aquático.

Moino Junior (1993) estudou a patogenicidade de 72 isolados do fungo *B. bassiana* e *M. anisopliae* a três espécies de pragas de grãos armazenados (Curculionidae). O autor encontrou uma grande variação na mortalidade, obtendo isolados ineficientes e outros com 100% de mortalidade. Essas variações também foram observados por Vieira et al. (1993) e Almeida (1994), ao avaliarem a patogenicidade de mais de uma centena de isolados dos mesmos fungos à barata *Periplaneta americana* (L.) e ao cupim *Heterotermes tenuis* (Hagen), respectivamente. No primeiro caso, foi selecionado 12 isolados de *M. anisopliae* e 21 isolados de *B. bassiana* que provocaram 100% de mortalidade a *P. americana*. Para o cupim *H. tenuis*, foi possível selecionar o isolado 634 de *B. bassiana*, que causou alta mortalidade ao inseto e apresentou boa produção de conídios em diversos meios de cultura e sobre o inseto teste.

De forma similar, Neves (1998) selecionou o isolado 1037 de *M. anisopliae* com potencial para o controle de *C. cumulans*.

Quadro 11. Mortalidade acumulada (%) de adultos de *Oryzophagus oryzae* inoculados com os 6 melhores isolados de *Metarhizium anisopliae* (T=26°C±1°C; Fotofase=12 horas).

Isolados	Dias após a inoculação					
	5 dias			10 dias		
	Mortal. Total	Mortal. Corrig	Mortal. ¹ Confir	Mortal. Total	Mortal. Corrig	Mortal. ¹ Confir
CB-103	82,9	67,7	69,5 A	100	52,4	81,0 A
CB-104	77,1	61,9	64,8 A	94,3	46,7	81,0 A
CB-233	60,0	44,8	56,2 A	92,4	44,8	80,0 A
E9	44,8	29,6	28,6 B	87,6	40,0	60,9 AB
CB-10	41,9	26,7	25,7 B	84,8	37,0	57,1 AB
CB-197	34,3	19,1	17,1 B	85,7	38,1	47,6 B
Test.	15,2	-	-	47,6	-	-
C.V.= 15,23%			C.V.= 9,67%			

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si na coluna ao nível de 1% pelo teste de Tukey

Dados transformados por raiz quadrada de $\sqrt{(x+0,5)}$.

Em se tratando de gorgulhos aquáticos a diversidade de isolados tem sido pouco explorada para fins de seleção contra o inseto, existindo apenas um experimento com a avaliação de 37 isolados de *M. anisopliae*, dos quais 6 apresentaram mortalidade acima de 90% (Chai et al., 2000).

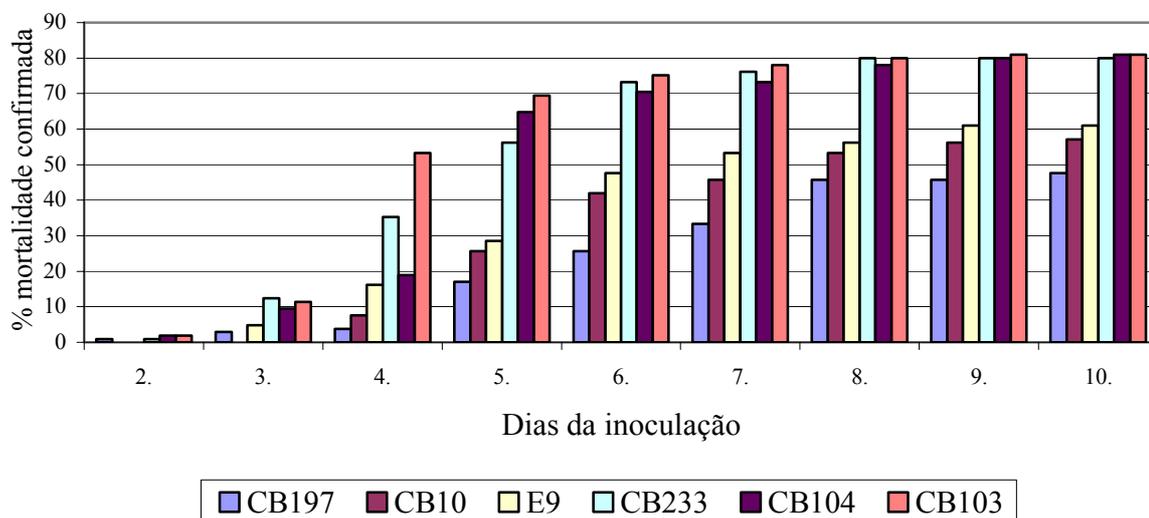


Figura 8. Mortalidade acumulada confirmada (%) de *Oryzophagus oryzae* até 10 dias após a inoculação de isolados de *Metarhizium anisopliae* ($T=26^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$; Fotofase=12 horas).

4.4 Produção dos isolados selecionados

Os isolados CB-104, CB-233 e CB-103, com rendimentos de $2,40 \times 10^8$; $2,32 \times 10^8$ e $2,25 \times 10^8$ conídios/g de arroz, respectivamente, foram os mais produtivos, não diferindo estatisticamente entre si mas diferindo do padrão E9 (Quadro 12).

Já em estudo realizado por Neves (1998), não houve diferença significativa entre o E9 e os melhores isolados de *M. anisopliae* quando aplicados sobre *Cornitermes cumulans*.

A produção dos isolados entre $2,25 \times 10^8$ e $2,40 \times 10^8$ conídios/g de arroz, foram inferiores em 20 vezes quando comparados aos obtidos por Alves et al. (1989) para a produção de *M. anisopliae* (50×10^8 conídios/g). A produção dos isolados analisados, CB-104,

CB-233 e CB-103, com rendimentos de $2,40 \times 10^8$; $2,32 \times 10^8$ e $2,25 \times 10^8$ conídios/g, respectivamente, apresentaram produções inferiores comparados aos isolados 1037, 447, E9, 1097 e 760, estudados por Neves (1998), com rendimento de $33,7 \times 10^8$; $26,6 \times 10^8$; $15,4 \times 10^8$; $10,4 \times 10^8$ e $1,2 \times 10^8$ conídios/g, respectivamente. Enquanto Alves & Pereira (1988) obtiveram para o isolado 1037 de *M. anisopliae* uma produção 4 vezes menor ($8,13 \times 10^8$ conídios/g), e verificamos para os isolados 865, 866, 259, com $32,3 \times 10^8$, $23,5 \times 10^8$ e $24,5 \times 10^8$ conídios/g (Fernandes, 1991). Essas diferenças devem-se aos fatores como a técnica de produção, intervalo da avaliação, variedades de arroz, condições ambientais, diferentes condições de armazenamento do patógeno e vigor do isolado.

Quadro 12. Médias de produção de conídios para os diferentes isolados.

Isolado	Número médio de conídios
	Por grama de arroz ¹ ($\times 10^8$)
CB-104	2,40 a
CB-233	2,32 a
CB-103	2,25 a
E9	0,07 b

Coefficiente de variação: 18,76%

¹ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% pelo teste de Tukey.

Dados transformados por raiz quadrada de $\sqrt{(x+0,5)}$.

Portanto, como os isolados CB-104, CB-233 e CB-103 apresentaram um comportamento superior ao isolado E9, considerado um isolado com boa produção de conídios (Neves, 1998), eles são promissores para o estabelecimento de programas de controle microbiano de *O. oryzae*.

Entre os 6 melhores isolados de *M. anisopliae* selecionados, quatro foram provenientes de insetos, sendo os 18 isolados restantes, avaliados nesse estudo, provenientes de solo (Quadro 4). Além disso, os dois melhores são provenientes do percevejo castanho, *Scaptocoris castanea*. Alguns autores citam que os isolados mais virulentos são os encontrados parasitando a espécie alvo ou espécies intimamente relacionadas (Soares et al., 1983; Proprawski et al., 1985). Neste trabalho, os melhores isolados não são provenientes de gorgulho aquático, mas estão provavelmente mais adaptados a insetos do que os isolados provenientes do solo.

Esses isolados poderão resultar em níveis de controle de adultos do inseto, em condições de campo, acima de 50% se aplicados no final do ciclo da cultura, pouco antes da drenagem do terreno. Essa afirmativa baseia-se no fato de que um isolado de *B. bassiana* menos patogênico do que os selecionados nesse estudo, aplicado nessa fase da cultura, proporcionou 50% de controle dos insetos (Takada et al., 1996).

A ação do fungo nas larvas é reduzida, pois ela permanece grande parte do seu ciclo submerso nas raízes. Nesse estágio ela só é susceptível no momento após a eclosão, com o ovo inserido na bainha da folha submersa, a larva deverá ficar exposta após sair do ovo e por um pequeno período vai raspar a folha e locomover para as raízes.

O melhor estágio a ser atingido é o adulto, isto pode ser feito quando os gorgulho estão ativos para alimentação e acasalamento, no momento da instalação da cultura com a inundação das várzeas, com a aplicação do fungo e mantendo os conídios suspensos na lâmina de água. No caso da formulação manter o fungo submerso, a redução da entrada da água e infiltração, força o adulto a entrar em contato com o fungo na superfície do solo. Os fatores negativos da época de aplicação é que nessa fase a cultura não apresenta boa cobertura foliar e a radiação ultra-violeta vai inviabilizar os conídios na superfície da água, além da água estimular

prematuramente a germinação sem estar aderido ao tegumento do inseto. Argumentos esses justificados pelos resultados pouco promissores obtidos nos trabalhos com o fungo *Beaveria bassiana* (Leite et al, 1992a; Leite et al, 1994; Leite et al, 1995b; Leite et al, 1995c).

Uma estratégia promissora seria a aplicação do fungo após a colheita do arroz nas quadras que apresentaram elevada população da praga. A maior quantidade de restos culturais disponíveis na fase final da cultura e a retirada da água resulta em um ambiente mais adequado ao fungo, conservando umidade e proteção da radiação solar. Como a população de adultos permanecem nessas áreas na entressafra, serão infectados no momento do trânsito para o local para a hibernação.

5. CONCLUSÕES

Todos os isolados testados do fungo *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* são patogênicos a *Oryzophagus oryzae*.

Os isolados CB-103, CB-104, CB-233 de *M. anisopliae* são promissores para o controle microbiano de *O. oryzae*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA: AGRIANUAL 2000. 6.ed., São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, p.183-93, 2001.

ALMEIDA, J.E.M. *Avaliação de fungos entomopatogênicos visando ao controle do cupim subterrâneo **Heterotermis tenuis** (Hageen, 1858) (Isoptera, Rhinotermitidae)*. Piracicaba, 1994. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: _____. *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998. p.289-381.

ALVES, S.B., PEREIRA, R.M.P. Produção de *Metarhizium anisopliae* (Metsck) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em bandejas. *Ecossistema*, v.14, p.188-92, 1989.

AMARAL, S.F. A cultura do arroz e os gorgulhos aquáticos no Estado de São Paulo. *Biológico*, v.16, p.73-82, 1950a.

- AMARAL, S.F. Ensaio de campo com hexaclorociclexano, dicloro-difenil-tricloroetano e tiofosfato de dietila paranitrofenila para controle dos insetos da planta do arroz. *Arquivos do Inst. Biol.*, v.19, p.283-98, 1950b.
- AQUINO, G.B., PATHAK, M.D. Enhanced absorption and persistence of carboruran and chlordimeform in rice plant on root zone application under flood conditions. *J. Econ. Entomol.*, v.65, p.686-90, 1976.
- AZEREDO, J. Bicheira da raiz do arroz. *Lavoura Arrozeira*, v.16, n.183, p.8-9, 25, 1962.
- BATISTA FILHO, A., CAMARGO, L.M.P.C. de A., MYZAKI, I., CRUZ, B.P.B., OLIVEIRA, D.A. Controle biológico do “moleque” da bananeira (*Cosmopolites sordidus* Germar, 1824) pelo uso de fungos entomógenos, no laboratório. *Biológico*, v.53, p.1-6, 1987.
- BATISTA FILHO, A., LEITE, L.G., RAGA, A., SATO, M.E. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.24, p.405-8, 1995.
- BAUCKE, O. Bicheira da raiz do arroz. *Lav. Arrozeira*, v.11, n.121, p.27, 1957.
- BERTELS, A., MARTINS, J.F. da S. Insetos pragas do arroz e seu combate. In: EMBRAPA. CPACT. *Fundamentos para a cultura do arroz irrigado*. Campinas: Fundação Cargill, 1985. p.277-304.

- BOTTON, M., CARBONARI, J.J., MARTINS, J.F. da S. Eficiência de métodos de aplicação de inseticidas no controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae), na cultura do arroz irrigado. *Pesq. Agropecu. Gaúcha*, v.5, n.1, p.71-5, 1999.
- BOTTON, M., VENDRAMIM, J.D., MARTINS, J.F. da, CARBONARI, J.J. Associação entre densidade populacional de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima) e produção de grãos em cultivares de arroz irrigado. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.25, p.233-7, 1996.
- BOWLING, C.C. Effect of nitrogen levels on rice water weevil populations. *J. Econ. Entomol.*, v.56, p.826-7, 1963.
- BOWLING, C.C. Tests with insecticides as seed treatment to control rice water weevil. *J. Econ. Entomol.*, v. 60, p. 18-9, 1967.
- BUNYARAT, M., TUGWEL, P., RIGGS. R.D. Seasonal incidence and effect of a mermithid nematode parasite on the mortality and egg production of the rice water weevil, *Lissorhoptrus oryophilus*. *Environ. Entomol.*, v.6, p.712-4, 1977.
- CAMARGO, L.M.P.C de A. *Insetos nocivos a cultura do arroz no Estado de São Paulo*. Campinas: Instituto Biológico, 1986. 9p. (Informação técnica, 13).

- CAMARGO, L.M.P.C. de A., ASAYAMA, T., LEITE, N. Locais de hibernação preferidos pelos adultos dos gorgulhos aquáticos do arroz irrigado no município de Pindamonhangaba, Estado de São Paulo. *Rev. Agric.*, v.65, n.1, p.75-9, 1990a.
- CAMARGO, L.M.P.C.A., LEITE, N., VILLELA, O.V., LEITE, L. G., ASAYAMA, T. Gorgulhos aquáticos (Coleoptera: Curculionidae) que ocorrem em cultivos de arroz no Vale do Paraíba, SP. *Arq. Inst. Biol.*, v.57, n.1-2, p.51-5, 1990b.
- CARBONELL, R.M., ECHEVARRIA, C. Efectividad de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., y *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin en el control sobre *Lissorhoptrus brevisrostris* (Suffr) (Coleoptera: Curculionidae). *Cienc. Tec. Agríc.-Arroz*, v.7, n.1, p.107-21, 1980.
- CARBONELL, R.M., MONZON, R.S., NUNEZ, M. Viabilidade de las esporas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en agua y su virulência sobre *Lissorhoptrus brevisrostris* (Coleóptera: Curculionidae). *Agrotéc. Cuba*, v.13, n.1, p.53-67, 1981.
- CARBONELL, R.M. Bionomics of the rice water weevil *Lissorhoptrus brevisrostris* (SFFR) in Cuba. *Int. Rice Res. Newsl.*, v.7, n.5, p.20, 1982.
- CARBONELL, R.M. Pathogens and nematodes for control of rice water weevil in Cuba. *Int. Rice Res. Newsl.*, v.8, n.6, p.16-7, 1983.
- CARBONELL, R.M. Rice water weevil host plants in Cuba. *Int. Rice Res. Newsl.*, v.10, n.1, p.21-2, 1985.

- CARBONELL, R.M. Importância de *Lissorhoptrus brevirostris* (Suffr.) em el cultivo de arroz em Cuba. *Int. Rice Res. Newsl.*, v.10, n.1, p.9-11, 1989.
- CAVE, G.L., SMITH, C.M., ROBINSON, J.F. Population dynamics, spatial distribution, and sampling of the rice water weevil on resistant and susceptible rice genotypes. *Environ. Entomol.*, v.13, p.822-7, 1984.
- CHAI, Y.Q., CHEN, Z., FENG, H., PAN, L.C. Biossay of patogenicity of *Metarhizium anisopliae* on the rice water weevil *Lissorhoptrus oryzoophilus*. *Chinese J. Biol. Control*, v.16, p.22-5, 2000. In: *CAB Abstr. CD-ROM*, 2000. (Abstract).
- CHANG, T., BARDENAS, E. *The morphology and varietal characteristics of the rice plant*. Philippines: International Rice Research Institute, 1965. 40p. (Technical Bulletin, 4).
- CHEN, Z., SHAI, L.C., LIU, Y.G., PAN, L.C., WAING, G., FANG, Y.J. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* for control of *Lissorhoptrus oryzoophilus* in the field. *Chinese J. Biol. Control*, v.16, p.53-5, 2000. In: *CAB Abstr. CD-ROM*, 2000. (Abstract).
- COLLIOT, F., KUKOROWSKI, K.A., HAWKINDS, D.W., ROBERTS, D.A. Fipronil: a new soil and foliar broad spectrum insecticide. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE: PESTS AND DISEASES, 1992, Brigton. *Resumos...*Brigton: British Crop Protection Council, 1992. p.29-34.

- COSTA LIMA, A. Dois Curculionídeos daninhos no Rio Grande do Sul. *Campo*, Rio de Janeiro, v.7, n.84, p.23-4, 1936.
- CRUZ, F.Z. Controle da bicheira da raiz do arroz – *Oryzophagus oryzae* (Lima, 1936) (Col., Curculionidae, Erihininae) – com cyclosal (cicloprotrím), um novo inseticida piretróide. *Lavoura Arrozeira*, v.45, n.404, p.11-2, 1992.
- DUVAL, G. Uma nova espécie de *Lissorhoptrus* Lec. (Col.:Curc.) *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.16, p.337-41, 1945.
- ESTATÍSTICAS. *Inf. Econ.*, v.19, n.10, p.117, 1989.
- ESTATÍSTICAS. *Inf. Econ.*, v.27, n.11, p.104, 1997.
- ESTATÍSTICAS. *Inf. Econ.*, v.30, n.1, p.86, 2000.
- ESTATÍSTICAS. *Inf. Econ.*, v.12, n.1, p.20, 2001.
- EVERETT, T.R., TRAHAN, G. Oviposition by rice water weevil in Luisiana. *J. Econ. Entomol.*, v.60, n.1, p.305-7, 1967.
- FERNANDES, P.M., *Controle microbiano de Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera, Termitidae) utilizando *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch)

Sorok. Piracicaba, 1991. 114p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

GARCIA, A., VAXQUEZ, T., PEREZ, T., LUJAN, M. Efectividad de los hongos entomopatogenos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana* en suspensiones conidiales individuales y mezcla de ambos sobre *Lissorhoptus brevisrostris*. *Ciênc. Tec. Agric.-Arroz*, v.13, n.1-2, p.29-38, 1990.

GIFFORD, J.R, OLIVER, B.F., TRAHAM, G.B. Rice water weevil with pirimiphos-ethyl seed treatment. *J. Econ. Entomol.*, v.68, p.79-81, 1972.

GRIGARICK, A.A., BEARDS, G. W. Ovopositional of habits of the rice water weevil in California as related to a greenhouse evaluation of seed treatments. *J. Econ. Entomol.*, v.58, p.1053-6, 1965.

GRIGARICK, A.A., WEBSTER, R.K., MEYER, R.P. , ZALOM, F.G., SMITH, K.A. Effect of pesticide treatments on nontarget organisms in California rice paddies. I. Impact of triphenyltin hydroxide. *Hilgardia*, v.58, n.1, p.1-36, 1990.

GUESSAN, F.K., QUISENBERRY, S.S., THOMPSON, R.A., LINScombe, S.D. Assesment of Louisiana rice breeding lines for tolerance to the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.*, v.87, p.476-81, 1994.

GUIMARÃES, E.P., SANT'ANA, E.P. Sistemas de cultivo. In: SANTOS, A.B., VIEIRA, N.R.A., SANT'ANA, E.P. *A cultura do arroz no Brasil*. Santo Antônio de Goiás: Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão/EMBRAPA, 1999. p.17-35.

HIX, R.L., DONN, T.J., BERNHADT, J.L. Swimming behaviour of an aquatic weevil, *Lissorhoptrus oryzophilus* (Coleoptera: Curculionidae). *Flórida Entomol.*, v.83, p.316-8, 2000.

HELTON, T. In with the new. *Rice J.*, v.14, n.11, p.14-7, 1998.

HESLER, S.L., GRIGARICK, A.A., ORAZE, M.J., PALRANG, A.T. Effects of temporary drainage on selected life history stages of the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) in California. *J. Econ. Entomol.*, v.85, p.950-6, 1992.

ISLEY, D., SCHWARDT, H.H. The rice water weevil. *Arkansas Agric. Exp. Stn. Bull.*, v.299, p.1- 44., 1934.

ISHIY, T. Bicheira da raiz. *Lav. Arrozeira*, n.285, p.30-1, 1975.

IVANCKO, C.M.A.M., PEREZ FILHO, A., NOGUEIRA, F.P., DONZELE, P.L., CHIARINI, J.V. *Distribuição espacial das várzeas no Estado de São Paulo*. Campinas: Instituto Agrônômico, 1985. 15p. (Boletim Científico, 2)

- KLEESPIES, R.G., ZIMMERMANN, G. Effect of aditive on the production, viability and virulence of blastospores of *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci. Technol.*, v.4, p.309-19, 1994.
- KUSHEL, G. Revision de *Lissorhoptrus* LeConte y generos vecinos de America. *Rev. Chilena Entomol.*, v.1, p.23-74, 1951.
- KUSHEL, G. Revision de los Premnotrypini y adiciones a los Bagoini. *Bol. Bus. Nac. Hist. Nat.*, v.26, n.220-35, 1956.
- LANGE, W.H., GRIGARICK, A.A. Rice water weevil beetle pest in rice growing areas of southern states discovered in California. *California Agr.*, ,v.13, n.8, p.10-1, 1959.
- LECUONA, R.E., TIGANO, M.S., DIAZ, B.M. Caracterization and pathogenicity of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) in Argentina. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.25, p.299-377, 1996.
- LEITE, L.G., CAMARGO, L.M.P.C., BATISTA FILHO, A., PRADO, W.L.A., GIOMO, G.S., FERREIRA, F.B. Patogenicidade de diferentes isolados de *Beauveria* sp. ao gorgulho aquático do arroz, *Oryzophagus oryzae*. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ, 4, 1990, Goiânia. *Resumos...* Goiânia: Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão/EMBRAPA, 1990. p.27.

LEITE, L.G., CAMARGO, L.M.P.C.A., BATISTA FILHO, A., URASHIMA, A.S., ASAYAMA, T., VILLELA, O.V., PRADA, W.L.A. Controle de adultos de gorgulho aquático do arroz pela aplicação da mistura do fungo *Beauveria bassiana* com óleo de soja em campos irrigados. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.21, p.83-94, 1992a.

LEITE, L. G., BATISTA FILHO, A., CARDOSO, C.L. Efeito de diferentes níveis populacionais do gorgulho aquático em plantas de arroz irrigado. *Arq. Inst. Biol.*, v.59, n.1/2, p.29-32, 1992b.

LEITE, L.G., TAKADA, H.M., AUGUSTO, N.T., BATISTA FILHO, A., AMARAL, C.M. Controle do gorgulho aquático do arroz irrigado pelo fungo *Beauveria bassiana*, em formulação pó-molhável. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 7, 1998, São Paulo. *Resumos...*São Paulo: Instituto Biológico, 1994. p.45.

LEITE, L.G., BATISTA FILHO, A., ALVES, E.B., TAKADA, H.M. Agressividade de *Beauveria bassiana* ao gorgulho aquático do arroz, *Oryzophagus oryzae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15, 1995, Caxambú. *Resumos...* Caxambú: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995a. p.407.

LEITE, L.G., TAKADA, H.M., VILLELA, O.V., BATISTA FILHO, A., AMARAL, A. C. M. do, AGUIAR, J. C. Controle do gorgulho aquático do arroz irrigado pelo fipronil e óleo de soja associado ao fungo *Beauveria bassiana*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambú., *Resumos...* Caxambú: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995b. p.626.

LEITE, L.G., TAKADA, H.M., CARDOSO, C.L., VILLELA, O.V., BATISTA FILHO, A., AGUIAR, J.C. Controle do gorgulho aquático do arroz, *Oryzophagus oryzae*, pelo fipronil e óleo mineral associado ao fungo *Beauveria bassiana*. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.24, p.339-44, 1995c.

LEITE, L.G., TAKADA, H.M., ALVES, E.B., BATISTA FILHO, A., AUGUSTO, N.T., AGUIAR, J.C. Formulações do fipronil e do fungo *Beauveria bassiana* no controle do gorgulho aquático do arroz irrigado, *Oryzophagus oryzae*. *Arq. Inst. Biol.*, v.65, n.2, p.19-23, 1998.

LIMA, A.D.F. O bicho do arroz. *Bol. Fitossanitário*, v.5, p.49-53, 1950.

MARTINS, J.F. da S. Níveis de infestação de *Oryzophagus oryzae* (COSTA LIMA, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) durante o período de desenvolvimento da cultura do arroz. *Ciênc.Cult.*, v.28, p.1493-7, 1976.

MARTINS, J.F. da S., BERTELS, A., DITTRICH, R.C. Métodos de aplicação de inseticidas no controle da bicheira do arroz *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) *Pesq. Agropecu. Brasil.*, v.12, p.41-8, 1977.

MARTINS, J.F. da S. Profundidade de água de irrigação e nível de infestação da bicheira-da-raiz em arroz. *Pesqui. Agropecu. Brasil.*, v.14, p.97-9, 1979.

- MARTINS, J.F. da S, RANGEL, P.H.N., AQUINO, A.R.L. Adubação nitrogenada e controle da bicheira da raiz do arroz. *Lav. Arrozadeira*, v.40, n.372, p.8-11, 1987.
- MARTINS, J.F. da S., TERRES, A.L.S. Avaliação de germoplasma de arroz visando resistência a *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima). *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.24, p.445-53, 1995.
- MARTINS, J.F. da S., BOTTON, M., CARBONARI, J.J. Controle de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima) através da pulverização foliar de arroz com inseticidas piretróides. *An. Soc. Entomol. Brasil.*, v.25, p.217-37,1996.
- MATSUI, M. Expansion of distribution area of the rice water weevil and methods of controlling the insects pest in Japan. *Jpn. Agric. Res. Q.*, v.20, n.3, p.16-73, 1987.
- MENESES R., MONTES, M. Patogenicidade de *Neoaplectana* P2-M sobre *Lissorhoptrus brevirostris* en condiciones de laboratorio. I. Adultos de *L. brevirostris*. *Cienc. Tec. Agric – Arroz*, v.5, n.1, p.99-106,1982.
- MENESES R., MONTES, M. Patogenicidade de *Neoaplectana* P2-M sobre *Lissorhoptrus brevirostris* en condiciones de laboratorio. II. Larvas de *L. brevirostris*. *Cienc. Tec. Agric – Arroz*, v.6, n.1, p.87-92,1983.
- MIELITZ, L. R., SILVA, L. da. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill em adultos de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Col.: Curculionidae). *An. Soc. Ent. do Brasil*, v.21, n.1 , p.263-5, 1992.

- MIELITZ, L.R., BECKER, M., ROMANOWSKI, H.P. Hibernation dynamics of *Oryzophagus oryzae* and its implications for management. *Entomol. Exp. App.*, v.78, p.159-66, 1996.
- MOINO JÚNIOR, A. *Utilização de Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorok. e Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. para o controle de pragas de grãos armazenados*. Piracicaba, 1993. 100p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MOREIRA, G.R.P. Efeito da profundidade da lâmina d’água, densidade e idade da planta de arroz irrigado na seleção do local de oviposição por *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 21, 1996, Porto Alegre. *Resumos...* Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996. p.128.
- MORGAN, D.R., TUGWELL, N.P., BERNHRDT, J.L. Early rice field drainage for control of rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) and evaluation of an action threshold base upon leaf-feedings scars of adults. *J. Econ. Entomol.*, v.82, p.1757-9, 1989.
- NAGANO, T., FUJISAKI, Y., HONKUR, R. OIKAWA, T. Rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel parasited by green muscardine fungus, *Metarhizium* sp. *Ann. Rep. Soc. Plant Prot. North Jpn.*, n.38, p.90-1, 1987. In: *CAB Abstr. CD-ROM*, 1987. (Abstract 891114726).
- NEVES, P.M.J. *Seleção de isolados de Beauveria bassiana e Metarhizium anisopliae e controle de Cornitermes cumulans (Kollar, 1832) (Isoptera, Termitidae)*. Piracicaba, 1998. 113p.

Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

NEWELL, W. Notes on the rice water weevil and its control. *J. Econ. Entomol.*, v.6, p.55-61, 1913.

NILAKHE, S.S. Reproductive status of overwintering rice water weevils. *Ann. Entomol. Soc. Am. College Park*, v.70, p.599-601, 1977.

NITTA, A., GREY, G. Microbial control of rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus* (Coleoptera: Curculionidae) and green rice leafhopper, *Nephotetrix cinciticeps* (Hemiptera: Deutocephalidae) with entomogenous fungi (Deuteromycotina). *Japanese J. Appl. Entomol. Zool.*, v.34, p.259-62, 1996. In: *CAB Abstr. CD-ROM*, 1997.(Abstract).

OLIVEIRA, J.V. Estudo da competição de inseticidas no controle à bicheira da raiz do arroz em arroz irrigado. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 10, 1980, Porto Alegre. *Resumos...* Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 1980. p.209-10.

OLIVEIRA, J.V. Controle químico da bicheira da raiz do arroz *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) em arroz irrigado. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 17, 1988, Pelotas. *Resumos...* Pelotas: Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado/ EMBRAPA, 1988. p.224-7.

- OLIVEIRA, J.V. Controle químico da bicheira da raiz do arroz, *Oryzophagus oryzae* (Lima, 1936) em arroz irrigado. *Lav. Arrozeira*, v.47, n.413, p.3-4, 1994.
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D., AZEVEDO, J.L. Variabilidade natural no fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. *Arq. Biol. Tecnol.*, v.33, p.657-72, 1990.
- PALRANG, A.T., GRIGARICK, A.A. Flight response of the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) to simulated habitat conditions. *J. Econ. Entomol.*, v.86, p.1376-80, 1993.
- PALRANG, A.T., GRIGARICK, A.A. ORAZE, M.J.; HESLER, L.S. Association of levee vegetation to rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) infestation in California rice. *J. Econ. Entomol.*, v.87, p.1701-6, 1994.
- PEREIRA, R.P., COSTA, R.A., SILVA, V.R. Danos da bicheira de raiz em cultivares de arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10, 1986, Rio de Janeiro. *Resumos...* Rio de Janeiro: Sociedade Entomológica do Brasil, 1986, p.78.
- PRANDO, H.F. *Aspectos bioetológicos e de controle de Oryzophagus oryzae* (Costa Lima 1936) (Coleoptera: Curculionidae) em arroz irrigado, sistema de cultivo pré-germinado. Curitiba, 1999. 102p. Dissertação (Doutorado em Ciências Biológicas/Entomologia)-Universidade Federal do Paraná.

- PROPAWSKI, T.J., RIBA, G., JONES, W.A. Comparative susceptibility of *Otiorhynchus sulcatus* and *Sitona lineatus* (Coleoptera: Curculionidae) early stages to five entomopathogenic hiphomycetes. *Environ. Entomol.*, v.14, p.247-53, 1985.
- RAHIM, M.A.A., ROBINSON, J.F., SMITH, C.M. Geographic and seasonal responses of rice water weevil adults to selected insecticides. *J. Econ. Entomol.*, v.74, n.1, p.75-8, 1981.
- RAMOS, E. Q. *Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de Bemisia tabaci B.* Piracicaba, 2001. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- RAMOSKA, W.A. The influence of relative humidity on *Beauveria bassiana* infectivity and replication in the chinch bug *Blissus leucopterus*. *J. Invertebr. Pathol.*, v.43, p.389-94, 1984.
- RICE, W.C. Evaluation of *Beauveria bassiana* isolates for the control of the rice water weevil, *Lissorhoptus oryzophilus* (Kushel). In: RICE TECHNICAL WORKING GROUP, 26, 1996, Texas. *Proceedings...* Texas: College Station, 1996. p.114.
- RICE, W.C., CROUGHAN, T.P., RING, D.R., MUEGGE, M.A., STOUT, M.J. Delayed flood management of rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.*, v.28, p.1130-5, 1999.

- SANTA CECILIA, L.V.C, SOUZA, B., REIS, P.R. Ocorrência da bicheira da raiz do arroz em plantios irrigados, no município de Nepomuceno, região sul do Estado de Minas Gerais. *An. Soc. Entomol. Brasil*, v.21, p.463-6, 1992.
- SMITH, C.M., ROBINSON, J.F. Evaluation of rice cultivar grown in North America for resistance to the rice water weevil. *Environ. Entomol.*, v.11, p.334-6, 1982.
- SMITH, K.A., GRIGARICK, A.A., LYNCH, J.H., ORAZE, M.J. Effect of alsystin and diflubenzuron on the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.*, v.78, p.185-9, 1985.
- SOARES, G.G., MARCHAL, M., FERRON, P. Susceptibility of *Otiorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) larvae to *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina, Hymenozoa) at two different temperatures. *Environ. Entomol.*, v.12, p.1886-90, 1983.
- SOMMEIJER, M.J. Rice water weevils on rice. *FAO Plant Prot. Bull.*, v.23, p.161-2, 1975.
- SOUZA, J.C, REIS, P.R., REIS, P.R. Dano e controle da bicheira do arroz na região sul do Estado de Minas Gerais. *Pesqui. Agropecu. Brasil.*, v.25, p.181-4, 1990.
- TAKADA, H.M., LEITE, L.G., BATISTA FILHO, A. Controle do gorgulho aquático do arroz irrigado *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) pelo fungo *Beauveria bassiana*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5, 1996, Foz do Iguaçu, *Resumos...* Foz do Iguaçu: Centro Nacional de Pesquisa de Soja / EMBRAPA, 1996. p.163.

TAKADA, H.M., LEITE, L.G. Determinação do nível de controle de larvas de gorgulho aquático, *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) do arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17, 1998, Rio de Janeiro. *Resumos...* Rio de Janeiro: Centro Nacional de Pesquisa de Soja /EMBRAPA, 1998. p.153.

TAMAI, M.A. *Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de **Tetranychus urticae** Koch*. Piracicaba, 1997. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo.

THOMPSON, R.A., QUISENBERRY, S.S. Rice plant density effect on rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.*, v.24, n.1, p.19-23, 1995.

THOMPSON, R.A., QUISENBERRY, S.S., TRAHAN, G.B., HEAGLER, A.M., GIESLER, G. Water management as a cultural control for the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) in southwest Louisiana. *J. Econ. Entomol.*, v.87, p.223-30, 1994.

TSUZUKI, H., ASAYAMA, T., AMANO, T., OHISHI, K., TAKIMOTO, M., ISOGAWA, Y., KOUMURA, T., SYAKU, I. TAKAMATSU, M., KUDO, S., ITO, K., TANIGUSHI, M., INOUE, T., IZAWA, T. KATO, Y., KOJIMA, H., FUKUNAGA, M., MORI, K. IWATA, H., KATO, T., UEBAYASHI, Y., OZAKI, N. Studies on biology if the newly invaded insect rice water weevil (*Lissorhoptrus oryzophilus* Kushel). *Res. Bull. Aichi-Ken Agric. Res. Cent. Nagakute* (Aichi, Japan), n.15, p.133-5, supl., 1984.

TUGWELL, N.P., ESA, Y.M., MORGAN, D.R., SLAYMAKER, P.H. Control of the rice water weevil. *Arkansas Farm. Res.*, v.31, n.4, p.2, 1982.

CIVILIZAÇÕES do arroz. *Correio da Unesco*. n.2, p.3, 1985.

URTZ, B.E., RICE, W.C. RAPD-PCR characterization of *Beauveria bassiana* isolates from rice water weevil *Lissorhoptus oryzaophilus*. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.25, p.405-9, 1997.

VIEIRA, S.A., ALVES, S.B., STIMAC, J.L., ESTAVAM, R.C. Seleção de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para o controle de *Periplaneta americana* (L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14, ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTA, 5, 1993, Piracicaba. *Resumos...* Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 1993. p.347.

YOKOYAMA, M., CAMARGO, E., AMARAL, R. Sistema de cultivo. In: SANTOS, A.B., VIEIRA, N.R.A., SANT'ANA, E.P. *A cultura do Arroz no Brasil*. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão / EMBRAPA, 1999a. p.21-6.

YOKOYAMA, L.D., RUCATTI, E.G., KLUTHCOUSKI, J., AMARAL, R. Economia da produção: conjuntura, mercados e custos. In: SANTOS, A.B., VIEIRA, N.R.A., SANT'ANA, E.P. *A cultura do Arroz no Brasil*. Santo Antônio de Goiás, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão / EMBRAPA, 1999b. p.36-57.

YOSHIDA, S. *Fundamentals of rice crop science*. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. 269p.

YOSHIZAWA, E. *Hirsutella jonesii* (Speare) Evans et Samson (Moniliales: Silbaceae) attacking the rice water weevil, *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel (Coleoptera: Curculionidae). *Japanese J. Appl. Entomol. Zool.*, v.34, p.259-262, 1990. In: *CAB Abstr. CD-ROM*, 1990. (Abstract 911150564).

WIBMER, G.J., O'BRIEN, C. W. Annotated checklist of the weevils (Curculionidae sensu lato) of South America (Coleoptera: Curculionidae) *Mem. Am. Entomol. Inst.*, v.39, p.188-93, 1986.

WU, G.W., WILSON, L.T. Growth and field response of rice to rice water weevil injury. *Environ. Entomol.*, v.26, 1191-201, 1997.