

CENTRO UNIVERSITÁRIO MOURA LACERDA  
CURSO DE AGRONOMIA

**Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* no controle de *Sphenophorus levis* e efeito em outras pragas de solo em cana-de-açúcar**

**LUIS ARNALDO DE ASSIS DELFANTI**

Ribeirão Preto, SP  
2012

CENTRO UNIVERSITÁRIO MOURA LACERDA  
CURSO DE AGRONOMIA

**Eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* no controle de *Sphenophorus levis* e efeito em outras pragas de solo em cana-de-açúcar**

**LUIS ARNALDO DE ASSIS DELFANTI**

Orientador: Prof. Dr. Alexandre de Sene Pinto

Trabalho apresentado ao Centro  
Universitário Moura Lacerda,  
como exigência para obtenção do  
título de Engenheiro Agrônomo.

Ribeirão Preto, SP  
2012

A Deus e meus pais.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço toda minha família pelo apoio em que me deram, não só no período de graduação, mas em todos os momentos de minha vida, em especial “Hermelindo Delfanti e Silvia Elena de Assis Delfanti”.

A minha namorada Patrícia Senhorini, pelo apoio moral e paciência durante todo esse tempo.

Meu orientador Alexandre de Sene Pinto, por toda a paciência e dedicação que teve a cada dia, pela confiança e motivação e pelas grandes oportunidades que me ofereceu.

Aos colegas Vitor Sartori Ferreira, Victor Dias Pagliarani, Nalde Salvador Neto, João Paulo Matarazzo Proença pelo auxílio na instalação e condução do experimento.

As empresas Biocontrol e Usina Vista Alegre, por ceder o material utilizado e a área experimental para a condução do experimento.

Aos professores e funcionários do Centro Universitário Moura Lacerda, que estiveram presentes durante todo o curso de Agronomia.

## SUMÁRIO

	PÁGINA
<b>RESUMO</b> .....	v
<b>SUMMARY</b> .....	vi
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Gorgulho-da-cana, <i>Sphenophorus levis</i> Vaurie (Coleoptera: Curculionidae) .....	4
2.2 Fungo entomopatogênico <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) no controle do gorgulho-da- cana .....	9
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	13
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	16
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	22
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	23

## RESUMO

Para a cana-de-açúcar algumas pragas são consideradas limitantes. Uma delas é o gorgulho-da-cana, *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae), que pode causar perdas que chegam a 30 t de cana por hectare, e causar morte de 50 a 60% dos perfilhos em cana-planta. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do fungo *Metarhizium anisopliae* no controle do *S. levis*, em diferentes formulações e doses, na cultura da cana-de-açúcar, e o efeito sobre outras pragas de solo. O ensaio foi conduzido em Itapetininga, SP, em cana-de-açúcar, num delineamento de parcelas subdividas, onde cada um dos 4 tratamentos foi repetido 5 vezes e distribuídos em uma área de 5.000 m<sup>2</sup>. As formulações WP foram aplicadas sobre as soqueiras com o auxílio de um trator e um aplicador de inseticidas. A formulação GR foi aplicada manualmente sobre as touceiras. Foi feita uma avaliação prévia e após 21, 60 e 100 dias. Houve diferenças significativas entre os tratamentos para porcentagem média de colmos danificados. Baseando-se nas condições do ensaio, o fungo *M. anisopliae* se mostrou eficaz no controle do *S. levis*, nas fases larval e adulta, em campo. A formulação WP teve ação mais rápida que a formulação GR. A dose de 225 g conídios ha<sup>-1</sup> é adequada para o controle de *S. levis*

**Palavras-chave:** controle microbiano, pragas agrícolas, fungo entomopatogênico, Scarabaeidae, Curculionidae.

## SUMMARY

### **Efficacy of the fungus *Metarhizium anisopliae* to control *Sphenophorus levis* and effect on other soil pests in sugarcane.**

For sugarcane some pests are considered limiting. One is the sugarcane weevil, *Sphenophorus levis*, which can cause losses that reach 30 tons of cane per hectare, and cause death in 50 to 60% of tillers in plant cane. This study aimed to evaluate the efficacy of the fungus *Metarhizium anisopliae* in controlling *S. levis*, in different formulations and doses, in sugarcane crop, and the effect on other soil pests. The trial was conducted in Itapetininga, São Paulo State, in sugarcane, in a split-plot design of where each of the 4 treatments was repeated 5 times and spread over an area of 5,000 m<sup>2</sup>. Water powder (WP) formulations were applied on the knuckles with the help of a tractor and an applicator of pesticides. Granulated (GR) formulation was applied manually on the clumps. An assessment was made prior and after 21, 60 and 100 days of the treatment. There were significant differences between treatments in mean percentage of stems damaged. Based on the experiment conditions, the fungus *M. anisopliae* proved effective in controlling larvae and adult *S. levis* in the field. The WP formulation was faster to control the pest than the GR one. The dose of 225 g of conidia per ha is suitable for the control of *S. levis*.

**Keywords:** microbial control, crop pests, entomopathogenic fungus, Scarabaeidae, Curculionidae.

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma planta da família Poaceae e do gênero *Saccharum*, que englobam muitas outras espécies. Hoje as canas cultivadas, na grande maioria, são híbridas de várias espécies (CLAYTON; DANIELS, 1975). De acordo com Aguirre Junior (1936) e Daniels, Smith e Paton (1975), a obtenção desses híbridos visa unir a rusticidade e resistência a moléstias com a riqueza e qualidade de açúcar das variedades nobres.

As primeiras canas introduzidas no Brasil chegaram por volta de 1502 (CORRÊA, 1926). Cairo (1924), Calmon (1935) e Corrêa (1935) comentam que em 1580 o Brasil já teria conseguido o monopólio mundial na produção de açúcar. Atualmente, é o maior produtor mundial da cultura, sendo o Estado de São Paulo o mais expressivo em área colhida na safra 2008/2009 e com a maior produtividade nacional (AGRIANUAL, 2009).

Macedo e Araújo (2000) comentaram que a cultura da cana-de-açúcar é um agroecossistema que hospeda muitas espécies de insetos, sendo que algumas dessas espécies, dependendo da época do ano e da região, podem ser consideradas pragas, ocasionando prejuízos econômicos.

O gorgulho-da-cana, *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae), ataca as lavouras de cana-de-açúcar e é considerado limitante à produção da cultura em algumas regiões do Estado de São Paulo (ALMEIDA, 2005). Segundo Degaspari et al. (1987), as principais perdas são na produção, podendo chegar a 30 toneladas por hectare por ano. Na cana-planta com 5 a 7 meses de idade, cerca de 50 a 60% dos perfilhos podem ser mortos por causa da praga (PRECETI; ARRIGONI, 1990). Degaspari et al. (1987) afirmam que as



larvas é quem causam danos, atacando os internódios basais do colmo, construindo galerias no seu interior, levando à morte das touceiras.

De acordo com Precetti e Arrigoni (1990) e Almeida (2005), até aquele momento não existiam inseticidas registrados para o controle da praga. Hoje existem alguns (AGROFIT, 2012), mas a eficácia ainda não é a mais adequada. Os inseticidas propiciam uma alta produtividade, mas podem apresentar efeitos negativos, tanto sobre o solo, a vegetação, as águas, os animais e o homem (SCOLLON et al., 2001; VIEIRA; TORRES; MALM, 2001; FILIZOLA et al., 2002).

Outras táticas de controle vêm sendo estudadas, sendo que ainda não existem resultados que comprovem a eficiência em campo ou viabilidade de uso. O controle biológico é uma alternativa viável para o combate das pragas e dos patógenos, possuindo vantagens em relação ao controle químico, visando especialmente o lado ambiental, financeiro, e específico contra o desenvolvimento de resistência (FRANCESCHINI et al., 2001).

Alves (1998a) mencionou que o fungo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) é amplamente distribuído na natureza e é encontrado facilmente nos solos, onde sobrevive por longos períodos. Este fungo pode colonizar mais de 300 espécies de insetos de várias ordens, sendo que nelas estão incluídas pragas de grande importância (ALVES, 1998a). Alves et al. (2008) destacaram o uso desse fungo e de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Clavicipitaceae), em iscas, para o controle de *S. levis* e *Metamasius hemipterus* (L., 1765) (Coleoptera: Curculionidae) em cana-de-açúcar, com até 92% de eficiência (BADILLA; ALVES, 1991). Entretanto, utilizando-se iscas de colmos, na base de 200 por hectare (ALVES et al., 2008), torna a tática inviável, necessitando ser aprimorada.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do fungo *M. anisopliae* no controle do *S. levis*, em diferentes formulações e doses, na cultura da cana-de-açúcar, e o efeito sobre outras pragas de solo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A grande importância da cana-de-açúcar no agronegócio brasileiro é indiscutível e com toda a tecnologia nas diferentes etapas de produção o Brasil se destaca no cenário internacional, mas ainda necessita-se de um grande apoio da pesquisa científica para diminuir problemas e maximizar a produção (COSTA, 2005).

Segundo Bonilla (1992), a cana-de-açúcar assim como qualquer outra cultura é atacada por diversas espécies de pragas, vindo a causar grandes prejuízos econômicos, com a intenção de combater e reduzir esses danos utiliza-se o método de controle químico, porém o seu custo é crescente e o seu uso geralmente é mais frequente e muitas vezes causam o extermínio de vários insetos benéficos.

Para que possa manter elevada produtividade nos canaviais, deve-se investir em técnicas de condução da cultura destacando diversos aspectos como o Manejo Integrado de Pragas, e o uso de novas alternativas de controle (GALLO et al., 2002).

De acordo com Alves e Almeida (1997), o controle biológico é uma boa alternativa, pois não é poluente, não provoca desequilíbrios biológicos, é duradouro e aproveita o potencial biótico do agroecossistema além de não ser tóxicos para homens e animais. Sua aplicação pode ser feita com máquinas convencionais ou, às vezes, necessitando de pequenas alterações.

Dentre os agentes utilizados para o controle biológico de insetos, cerca de 80% das enfermidades são causadas pelos fungos entomopatogênicos

(ALVES, 1998a). Alves (1998a) afirma que Sorokin classificou o fungo como *Metarhizium anisopliae* no ano de 1883 e desde então a sua utilização e ação vem sendo estudada em várias espécies de insetos. Sua primeira utilização foi no controle de larvas de curculionídeo pelo russo Ilya Metchnikoff no ano de 1879 (ALVES, 1998a).

Leite et al. (2006) afirmam que apesar de todas as medidas de controle sendo aplicadas, a praga vem elevando a sua população, e sendo cada vez mais frequente nos últimos anos, com novas áreas infestadas. Esse fato mostra como é difícil o controle do inseto, e ressalta que a pesquisa é fundamental para buscando técnicas mais eficientes de controle.

## **2.1 Gorgulho-da-cana, *Sphenophorus levis* Vaurie (Coleoptera: Curculionidae)**

A ordem Coleoptera constitui uma grande diversidade de insetos, com cerca de aproximadamente 360 mil espécies descritas, sendo 40% dos insetos e 30% dos animais (LAWRENCE; NEWTON, 1995). Crowson (1981) e Henning (1981) afirmam que ela é dividida taxonomicamente em quatro subordens: Adephaga, Polyphaga, Archostemata e Myxophaga.

Segundo Daly et al. (1998), o grande sucesso dessa ordem está diretamente ligado a presença de élitros e a capacidade de consumir diferentes tipos de alimentos. Os coleópteros ocupam diferentes tipos de ambientes, porém a grande maioria possuem hábitos terrestres (GILLOT, 2005).

De acordo com Lawrence e Briton (1994) e Marinoni et al. (2001), os coleópteros podem ser fungívoros ou herbívoros, já outros podem atuar como predadores de outros invertebrados ou mesmo de pequenos vertebrados, existindo também algumas espécies endoparasitas ou ectoparasitas. Eles tem um papel fundamental dentro do ecossistema, pois atuam como decompositores de matéria orgânica vegetal e animal (DIDHAM et al., 1996;

NICHOLS et al., 2008) e até mesmo como polinizadores (KEVAN; BAKER, 1983; NOGUEIRA; ARRUDA, 2006).

Mas por outro lado estes insetos são encontrados atacando e causando vastos prejuízos em várias espécies de plantas como em Poaceae, Bromeliaceae, Arecaceae, Musaceae entre outras (ZORZENON et al., 2000).

Algumas espécies da família Curculionidae (ANDRADE, 1928), são consideradas insetos-praga (PEDROSA-MACEDO, 1993). Os besouros da superfamília Curculionidae são mais conhecidos como curculionídeos e dentre eles já foram descritas mais de 60.000 espécies (MARVALDI; LANTERI, 2005).

Kuschel (1995) diz que os insetos adultos dessa família possuem a cabeça prolongada em um rostro, que pode variar de comprimento facilitando a sua identificação, e as suas antenas podem ser clavadas ou geniculadas. O seu comprimento pode variar de 0,5 a 90 mm (incluindo o rostro). Suas larvas são ápodas, subcilíndricas, e quase sempre pouco curvadas, os tergitos presentes em seu abdome geralmente possuem de 3 a 4 pregas transversais (COSTA; VANIN; CASARI-CHEN, 1988).

Segundo Borrer e DeLong (1969), quase todas as espécies descritas alimentam-se de matéria vegetal. E a grande maioria dos curculionídeos é fitófaga, tanto na fase larval como na fase adulta (VANIN, 1999).

Marvaldi e Lanteri (2005) afirmaram que o inseto *S. levis* (Figura 1) pertence à família Curculionidae e subfamília Dryophthorinae. O gênero *Sphenophorus* possui algumas espécies de insetos que causam danos em diversas culturas de grande importância econômica, citando as gramíneas como uma delas. Só os EUA abriga mais de 64 espécies desse gênero (WOODRUFF, 1996).

*S. levis*, mais conhecido como bicudo-da-cana ou gorgulho-da-cana, tem a fase larval considerada como a mais crítica para a cultura. As larvas destroem a parte inferior da planta, lesando os perfilhos ou mesmo toda a soqueira (Figuras 1 e 2B) (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

Degaspari et al. (1987) comentaram que esta espécie em condições de laboratório (27 a 30°C e fotofase de 12 horas) pode variar o seu ciclo entre 58 e 307 dias, com média de 173,2 dias. Segundo Precetti e Arrigoni (1990), os insetos adultos quase sempre são encontrados abaixo do nível do solo, sua coloração varia de castanho-escuro a marrom, com manchas pretas no dorso do tórax e listras longitudinais sobre os élitros (Figura 2D). O adulto tem hábito noturno, é pouco ágil e quando se sente ameaçado finge de morto (DEGASPARI et al., 1987). A longevidade das fêmeas é de até 249 dias e dos machos de 247 dias.



Figura 1. Dano causado na base do colmo de cana-de-açúcar por larvas de *Sphenophorus levis*, destacando um adulto farato no interior da galeria (Foto: Negri).

As fêmeas põem os seus ovos na base das brotações, podendo ser abaixo ou ao nível do solo. Utilizando as mandíbulas, elas perfuram a casca dos colmos e perfilhos para inserir os ovos, sendo colocados um por vez até 4 mm no seu interior (DEGASPARI et al., 1987; PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

Segundo Degaspari et al. (1987), os ovos após a postura possuem coloração branco-leitosa com forma elíptica (Figura 2A), e período de

incubação de 7 a 12 dias. Ao se aproximar da eclosão os mesmos vão adquirindo uma coloração mais escura.

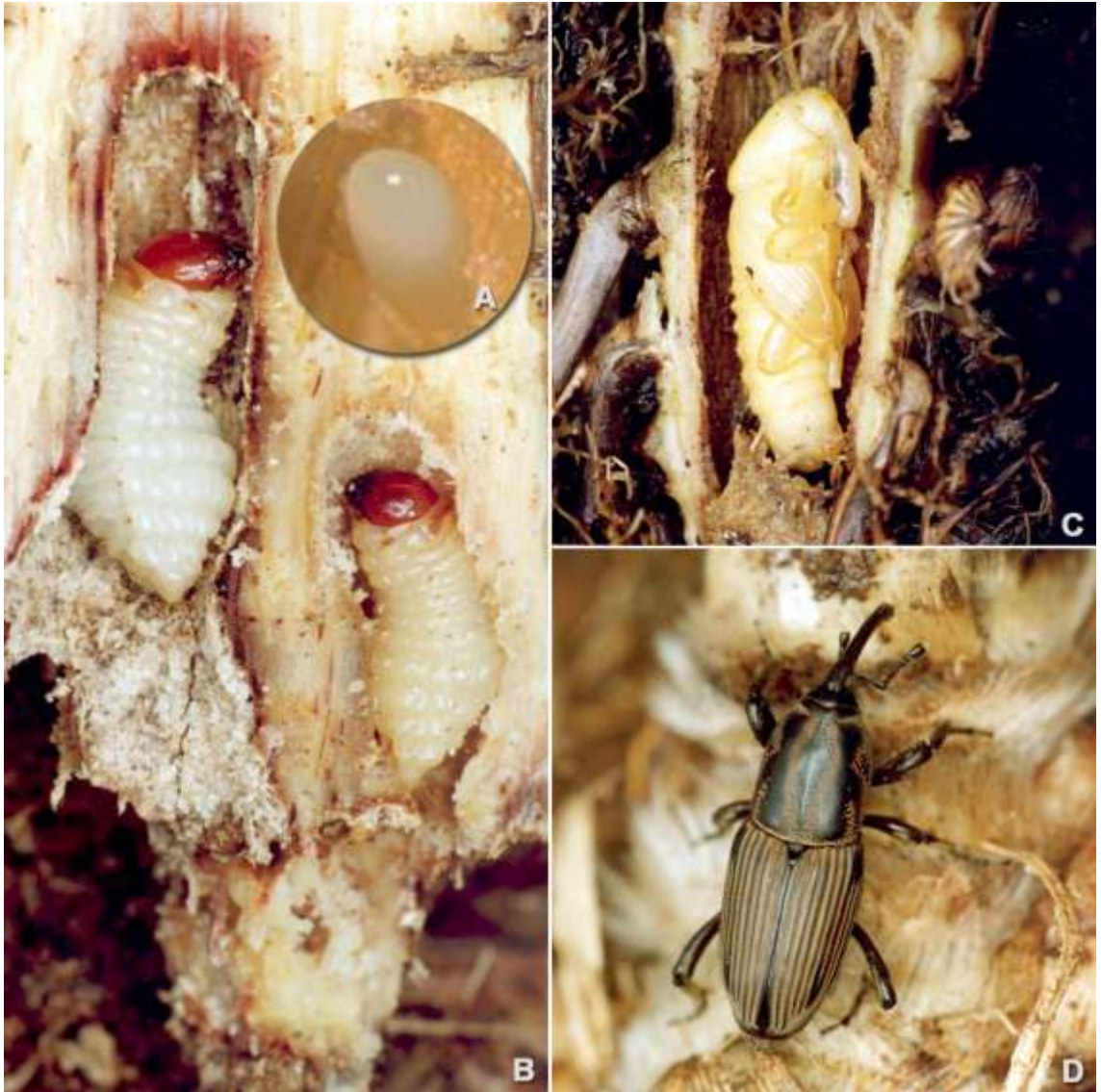


Figura 2. Estádios de desenvolvimento de *Sphenophorus levis*, destacando o ovo (A), larvas no interior da galeria feita no colmo (danificado) (B), pupa dentro da câmara pupal construída pela larva no interior do colmo (C) e adulto (D) (Fotos: Negri).

Após a eclosão, surge a larva que também possui coloração branco-leitosa, porém com o seu desenvolvimento ganha uma coloração amarelada

(Figura 2B). Todo o desenvolvimento da larva pode durar em torno de 30 a 60 dias, e durante esse período ela apoia-se nas paredes das galerias abertas para locomover-se (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

De acordo com Degaspari et al. (1987), pouco antes da larva se tornar uma pupa, ela refaz sua galeria para facilitar a saída do adulto (câmara pupal) e, a partir daí, não se movimenta e nem se alimenta. Logo quando a larva se transforma em pupa, ela possui coloração clara e a partir do momento que se aproxima da emergência do adulto a sua coloração se torna castanha (Figura 2C). Essa fase dura de 5 a 13 dias, e nesse período o inseto fica envolvido em uma camada de serragem (DEGASPARI et al., 1987).

Segundo Pinto et al. (2006), o inseto tem preferência por solos claros, argilosos e com boa umidade. O clima influencia na população, sendo que em todas as fases eles são mais ativos durante os meses quentes e úmidos e diminuem a sua atividade nos meses frios e secos (TERÁN; PRECETTI, 1982).

Precetti e Arrigoni (1990) observaram que a aplicação excessiva de vinhaça aumenta a ocorrência do *S. levis*, porém ainda não se pode afirmar o motivo deste fenômeno. Há relatos que a praga se hospeda em bromeliáceas e tem o potencial de completar o seu ciclo em plantas de milho (PRECETTI; ARRIGONI, 1990).

O gorgulho-da-cana tem dois picos populacionais no ano. Os adultos têm um pico principal nos meses de fevereiro e março e outro, de outubro a novembro. As larvas tem pico entre os meses de maio a julho e depois em novembro (DEGASPARI et al., 1987). Com baixa capacidade de voo (PRECETTI; ARRIGONI, 1990), nas revoadas os adultos chegam até 300 m de distância. Por causa da baixa capacidade de voo, *S. levis* deve dispersar principalmente por meio de mudas retiradas de locais infestados e enviadas para locais não infestados (LEITE et al., 2005)

## **2.2 Fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) no controle do gorgulho-da-cana**

Os fungos da ordem Hypocreales possuem aproximadamente 80 gêneros e habitam diversas latitudes diferentes, não sendo encontrados apenas nos polos Norte e Sul, mas em regiões tropicais sua diversidade é bem maior (SAMUELS, 1997).

Segundo Martins-Corder e Melo (1998), os fungos dessa ordem são encontrados nos solos com certa facilidade, onde exercem antagonismo com fitopatógenos, por meio de antibiose ou parasitismo.

Além de tudo os Hypocreales são ecologicamente e economicamente importantes. São fungos que podem ser classificados como sapróbios, entomopatogênicos ou micoparasitas (ROSSMAN et al., 1999).

Os fungos da família Clavicipitaceae (Ascomycota, Hypocreales) compõem grande parte de patógenos e simbiontes de plantas, artrópodes e fungos (ROGERSON, 1970).

Segundo Eriksson (2006), a família Clavicipitaceae é um grupo enorme, que compõe mais de 33 gêneros e aproximadamente 800 espécies de fungos.

A sua distribuição é cosmopolita em quase todos os ecossistemas terrestres, tanto em regiões temperadas como as tropicais do mundo. Esta família é facilmente reconhecida pela morfologia dos ascos e ascósporos (DIEHL, 1950; LUTTREL, 1955; SPATAFORA; BLACKWELL, 1993).

De acordo com Diehl (1950), Hywel-Jones (2002) e Rogerson (1970), os ascos são longos e cilíndricos, possuindo uma ponta, filiformes e contêm ascósporos multiseptados, que são frequentemente desarticulados em períodos de esporos na maturidade (DIEHL, 1950; HYWEL-JONES, 2002; ROGERSON, 1970).



O fungo *M. anisopliae* (Figura 3) é um organismo entomopatogênico e em sua fase anamórfica pertence ao filo Ascomycota, a classe Sordariomycetes (Pyrenomycetes), a ordem Hypocreales e a família Clavicipitaceae (SUNG et al., 2007).



Figura 3. Grãos de arroz com conídios do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*, utilizados na aplicação granulada.

Segundo Driver et al., (2000), os fungos pertencente ao gênero *Metarhizium* são compostos por três espécies, dentre as mesmas ocorre uma divisão em dez variedades: *M. anisopliae* variedade *anisopliae*, *majus*, *lepidiotum* e *acridim*; *M. flavoviride* Gams and Rozsypal variedades tipo E, *flavoviride*, *minus*, *novazealandicum* e *pemphigum*; e *M. album* Petch.

*Metarhizium* é um gênero que ainda não possui o seu habitat natural totalmente definido, pois é possível se isolar esse fungo em solos de todo o mundo, excluindo a Antártica (GOETTEL; INGLIS, 1997).

De acordo com Roberts e St. Leger (2004) as formas de reprodução do fungo atualmente conhecidas são a assexual, onde o fungo cresce vegetativamente, e a parasexual, que é uma alternativa para troca de material genético.

*M. anisopliae* é um fungo considerado de fácil cultivo, pois basicamente necessita de uma fonte nutricional a base de amido (ONOFRE et al., 2002). Alves e Pereira (1998) e Alves et al. (2008) comentaram que no Brasil os fungos entomopatogênicos ainda são produzidos em escala semi-industrial, pois se utiliza muita mão-de-obra no processo. No Brasil, a produção massal de fungos entomopatogênicos geralmente tem como substrato arroz cozido (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

St. Leger et al. (1996) comentaram que a infecção do fungo *M. anisopliae* necessita de uma sequência de eventos mecânicos e bioquímicos o conídio é depositado sobre a cutícula do hospedeiro de uma forma sincronizada, o próximo processo é a germinação do conídio, por ação mecânico-enzimática ele penetra pela cutícula, invadindo e colonizando o corpo do inseto, produzindo toxinas e expondo as estruturas fungicas que produzem conídios sobre a carcaça do hospedeiro que depois é disseminado.

Quando os insetos são colonizados pelo fungo, os mesmos ficam duros e uma massa pulverulenta de conídios recobre o seu corpo e ganha uma coloração que varia entre a verde-clara e escura, acinzentada ou esbranquiçada com pontos verdes (Figura 4). Esta doença recebe o nome de “muscardine” verde (ALVES, 1998b).

Vey et al. (2002) citaram que o hospedeiro após ser colonizado perde a sensibilidade, fica inquieto, perde seus movimentos e para de se alimentar, levando à morte.

Para o controle de *S. levis*, um conjunto de medidas tem sido utilizado, que são: destruição mecânica da soqueira, uso de iscas tóxicas, manutenção

da área com soqueira destruída livre de vegetação hospedeira, por um período prolongado de mais de três meses, e plantio com aplicação de fipronil (PRECETTI; ARRIGONI, 1990; ALMEIDA, 2005; DINARDO-MIRANDA, 2005; MACEDO; GARCIA; BOTELHO, 2006; PINTO; GARCIA; OLIVEIRA, 2006). Entretanto, apesar de todas estas medidas, ainda tem ocorrido incremento nas populações da praga, sendo frequentes, nos últimos anos, registros de novas áreas infestadas.



Figura 4. Adultos do gorgulho-da-cana, *Sphenophorus levis*, mortos pelo fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*.

Badilla e Alves (1991) avaliaram, em laboratório, o efeito de isolados do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre adultos de *S. levis*. O isolado 447 foi o mais eficiente dentre todos avaliados. Em campo, utilizando toletes de cana contaminados com o fungo, chegaram à dose de  $4,9 \times 10^{11}$  conídios por tolete de cana para ocasionar 92,3% de mortalidade.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi instalado nos dias 3 e 4 de novembro de 2011, na Usina Vista Alegre, em Itapetininga, SP, e foi conduzido dos dias 3 de novembro de 2011 ao dia 22 de abril de 2012 em canavial comercial da variedade SP81-3250 (cana-soca), com um mês de desenvolvimento. O fungo *Metarhizium anisopliae* utilizado no ensaio foi fornecido pela Biocontrol – sistema de controle biológico Ltda. –, Sertãozinho, SP, produzido sobre arroz.

O delineamento experimental foi de parcelas subdivididas, onde cada um dos 4 tratamentos foi repetido 5 vezes. Cada parcela teve as dimensões de 50 x 100 m (5.000 m<sup>2</sup>). Os tratamentos foram:

- (1) *M. anisopliae* formulação WP aplicado com água, no equivalente a 225 g conídios ha<sup>-1</sup>;
- (2) *M. anisopliae* formulação WP aplicado com água, no equivalente a 450 g conídios ha<sup>-1</sup>;
- (3) *M. anisopliae* formulação GR aplicado com o arroz onde foi produzido, no equivalente a 10 Kg ha<sup>-1</sup>;
- (4) testemunha (sem pulverização).

Os fungos foram aplicados uma dose de cada vez, no final da tarde. Para a formulação WP, foi utilizado um trator da marca New Holland modelo 7630, 105 cavalos, 4x4, e um aplicador de inseticida com reservatório de 300 L,

que possuía discos de corte, onde os mesmos abriam as soqueiras ao meio para facilitar a penetração dos conídios, e logo atrás existiam bicos que distribuíam o produto (Figura 5D). Foi utilizado 90 L de água por hectare. Para a formulação GR, a aplicação foi feita manualmente, distribuindo os grãos + conídios sobre as touceiras.



Figura 5. Arrancando 1 metro de soqueira (A). Perfilho arrancado (B). Avaliação dos internódios basais (C). Implemento aplicando os produtos WP (D).

Antes da aplicação (prévia) e após 21, 60 e 100 dias foram realizadas as avaliações. Em quatro pontos escolhidos ao acaso dentro de cada parcela, foram vistoriados todos os internódios basais de um metro linear (Figura 5ABC). Foi anotado em ficha própria o número de internódios basais de colmos e o número daqueles com sintoma de ataque do gorgulho-da-cana, número de larvas, pupas ou adultos de *Sphenophorus levis* e a presença de outros organismos, como corós e cupins.

Na colheita, foram escolhidos 10 colmos ao acaso em cada um dos 4 pontos na parcela, esses colmos foram pesados em feixes de 10.

Como houve diferenças significativas entre os tratamentos para porcentagem média de colmos danificados, calculou-se a porcentagem média de mortalidade para cada tratamento e fez-se a correção (% RC) desse valor pela fórmula de Henderson e Tilton (1955), que leva em consideração a população para cada tratamento antes e após a aplicação dos mesmos. A fórmula utilizada foi:

$$\% RC = 100 - \left( \frac{(n^\circ \text{ na testemunha na prévia} \times n^\circ \text{ no tratamento na data})}{(n^\circ \text{ na testemunha na data} \times n^\circ \text{ no tratamento na prévia})} \times 100 \right)$$

Os dados obtidos foram transformados em médias e, posteriormente, estes foram submetidos à análise de comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível máximo de 5% de significância.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A área experimental escolhida para aplicar os tratamentos tinha, em 03/11/2011 (avaliação prévia), infestação média de 35,27% de colmos atacados, mas apresentava apenas 0,57 e 0,66 larvas e adultos do gorgulho-da-cana, respectivamente, em média, nos colmos e solo de 1 metro linear de cana-de-açúcar.

Até os 21 dias após a aplicação dos fungos não houve diferenças significativas entre os tratamentos quanto à porcentagem média de colmos atacados por *Sphenophorus levis* (Figura 6). Aos 60 dias após, o tratamento testemunha apresentou o maior valor, diferindo estatisticamente dos tratamentos *Metarhizium anisopliae* aplicados via líquida (Figura 6). Aos 100 dias após a aplicação, a testemunha apresentou o maior valor e diferiu dos demais tratamentos (Figura 6).

Não existiam pesquisas com o fungo *M. anisopliae* controlando *S. levis* em campo e os primeiros resultados na redução de colmos atacados indicaram um bom potencial desse micro-organismo em programas de controle biológico. O fungo na formulação líquida, nas duas doses testadas, reduziu acima de 80% os danos nos colmos já aos 60 dias após a aplicação, o mesmo ocorrendo com a formulação granulada aos 100 dias (Figura 7).

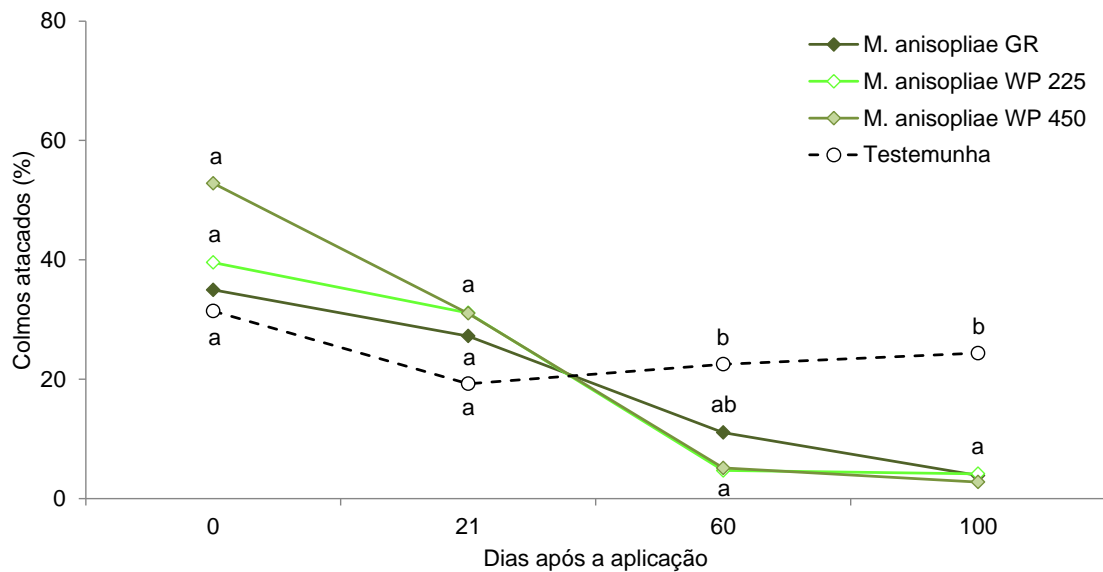


Figura 6. Porcentagem média de colmos atacados por larvas de *Sphenophorus levis* após a aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* nas formulações GR e WP (duas doses) em canavial após colheita. Itapetininga, SP, 2011. Pontos seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Quanto ao número médio de larvas de *S. levis* por colmo e solo em um metro linear na linha de plantio da cana-de-açúcar, houve diferenças significativas entre os tratamentos aos 21 dias após a aplicação, onde o tratamento WP maior dose apresentou o maior valor, diferindo dos demais tratamentos com fungos e não diferindo da testemunha, que apresentou valor intermediário (Figura 8). Não houve explicação para essa diferença.

Aos 60 dias após a aplicação, o tratamento WP menor dose apresentou o menor valor, diferindo estatisticamente apenas da testemunha, que apresentou o maior valor (Figura 8).

Aos 100 dias após a aplicação os tratamentos WP apresentaram os menores valores, diferindo apenas da testemunha. O tratamento GR não diferiu da testemunha, que apresentou o maior valor (Figura 8).



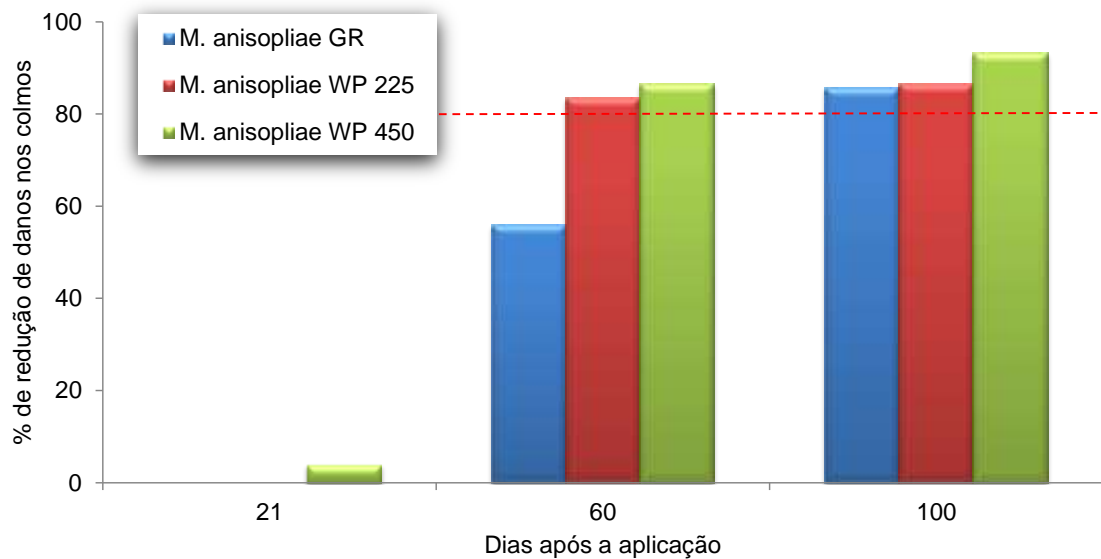


Figura 7. Porcentagem média de redução corrigida (HENDERSON; TILTON, 1955) dos danos nos colmos atacados por larvas de *Sphenophorus levis* após a aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* nas formulações GR e WP (duas doses) em canavial após colheita. Itapetininga, SP, 2011.

Não houve diferenças significativas entre os tratamentos quanto ao número médio de pupas (Tabela 1) de *S. levis* nos colmos e solo de um metro linear, nem quanto ao número médio de larvas de corós (Tabela 3). As fases de desenvolvimento do gorgulho citadas acima e as larvas de corós ocorreram em baixas quantidades durante todo o ensaio, exceto para esse último aos 100 dias após as aplicações dos produtos (Tabela 3).

Entretanto, quanto ao número médio de adultos de *S. levis*, aos 100 dias após a aplicação dos fungos, todos os tratamentos foram nulos e diferiram significativamente da testemunha, onde foram encontrados  $0,80 \pm 0,37$  insetos  $m^{-1}$  (Tabela 2).

Foram observados poucos exemplares de pupas e adultos de corós, cupins e outros organismos de solo.

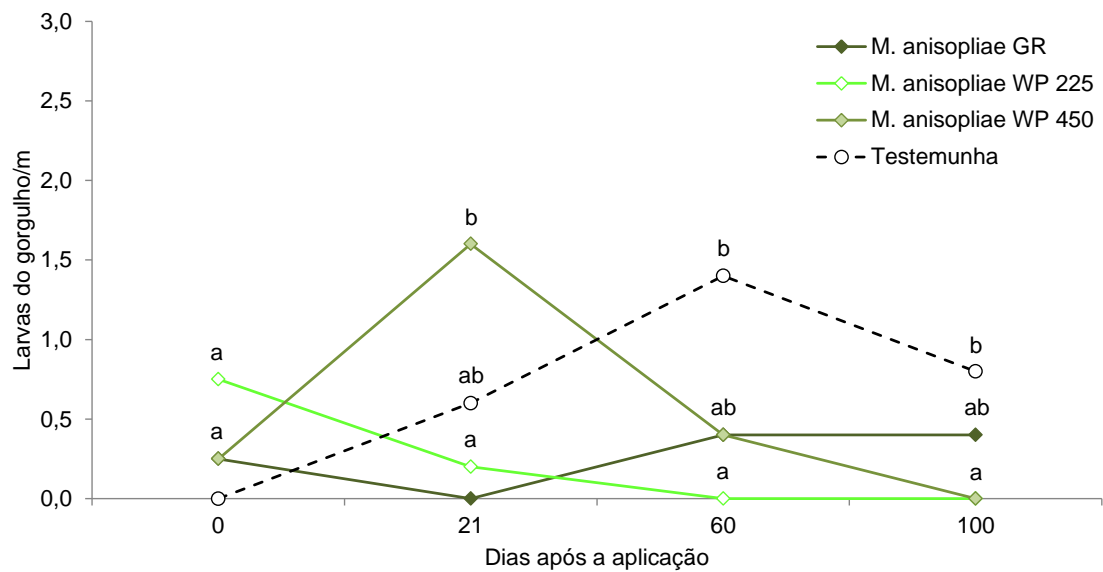


Figura 8. Número médio de larvas de *Sphenophorus levis* por colmos ou solo de 1 metro linear após a aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* nas formulações GR e WP (duas doses) em canavial após colheita. Itapetininga, SP, 2011. Pontos seguidos pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,01$ ).

Tabela 1. Número médio de pupas de *Sphenophorus levis* em colmos ou solo de 1 metro linear após a aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* nas formulações GR e WP (duas doses) em canavial após colheita. Itapetininga, SP, 2011.

Tratamentos	Dias após a aplicação			
	0	21	60	100
<i>M. anisopliae</i> GR	0,50±0,29 a <sup>1</sup>	0,00±0,00 a	0,20±0,20 a	0,00±0,00 a
<i>M. anisopliae</i> WP 225	0,25±0,25 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,20±0,20 a
<i>M. anisopliae</i> WP 450	0,25±0,25 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a
Testemunha	0,50±0,29 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Tabela 2. Número médio de adultos de *Sphenophorus levis* em colmos ou solo de 1 metro linear após a aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* nas formulações GR e WP (duas doses) em canavial após colheita. Itapetininga, SP, 2011.

Tratamentos	Dias após a aplicação			
	0	21	60	100
<i>M. anisopliae</i> GR	1,25±1,25 a	0,40±0,24 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 b
<i>M. anisopliae</i> WP 225	1,25±0,95 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 b
<i>M. anisopliae</i> WP 450	0,75±0,48 a	0,40±0,40 a	0,00±0,00 a	0,00±0,00 b
Testemunha	0,25±0,25 a	0,40±0,40 a	0,00±0,00 a	0,80±0,37 a

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,04).

Os dados sobre a produtividade foram perdidos na colheita e, portanto, não foram incluídos no ensaio.

Tabela 3. Número médio de larvas de corós (Coleoptera: Scarabaeidae) em colmos ou solo de 1 metro linear após a aplicação do fungo *Metarhizium anisopliae* nas formulações GR e WP (duas doses) em canavial após colheita. Itapetininga, SP, 2011.

Tratamentos	Dias após a aplicação			
	0	21	60	100
<i>M. anisopliae</i> GR	0,50±0,29 a	0,00±0,00 a	0,20±0,20 a	1,80±0,92 a
<i>M. anisopliae</i> WP 225	0,50±0,50 a	0,40±0,40 a	0,40±0,24 a	1,20±0,58 a
<i>M. anisopliae</i> WP 450	0,50±0,50 a	0,20±0,20 a	0,20±0,20 a	0,20±0,20 a
Testemunha	0,00±0,00 a	0,00±0,00 a	0,20±0,20 a	1,20±0,73 a

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05).

Os resultados confirmam as afirmações de Macedo, Garcia e Botelho (2006), em que o fungo *M. anisopliae* pode ser usado no controle do gorgulho-da-cana.

A formulação WP de *M. anisopliae*, para ser aplicada via líquida, mostrou ter ação mais rápida do que a formulação GR para a época em que o ensaio foi conduzido e com predominância de larvas no local, apesar de ter causado diminuição dos adultos também.

A aplicação de *M. anisopliae* GR, ou seja, na forma granulada sobre as soqueiras, demorou mais tempo para mostrar resultados, mas aos 100 dias foi tão eficaz quanto a formulação WP.

Nenhuma das formulações ou doses teve efeito sobre as larvas de corós presentes no ensaio. Entretanto, a população desse grupo de insetos só aumentou após os 100 dias da aplicação dos fungos.

Novos ensaios em locais distintos e em épocas diferentes deverão ser conduzidos para confirmar a eficácia de *M. anisopliae* no controle de *S. levis*. Esses ensaios também permitirão compreender melhor o efeito do clima na eficiência de controle do fungo. Também as diferentes doses e modos de aplicação deverão ser levados em consideração em novas pesquisas.

## 5 CONCLUSÕES

Baseado nas condições em que o ensaio foi conduzido, ou seja, presença de danos expressivos da praga, clima e localidade, pode-se concluir que:

- o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* é eficaz no controle do gorgulho-da-cana, *Sphenophorus levis*, nas fases larval e adulta em campo;
- a formulação WP, para ser aplicada via líquida com cortador de soqueira, tem ação mais rápida que a formulação GR, para ser aplicada via granulada por espalhamento sobre as soqueiras;
- a dose de 225 g conídios ha<sup>-1</sup> é adequada para o controle de *S. levis*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP, 2009. 495p.

AGROFIT. Disponível em:

<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acesso em: 23/10/2012.

AGUIRRE JUNIOR, J.M. de. **Criação de novas variedades de cana de açúcar no estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1936. 64p. (Boletim Técnico, 34)

ALMEIDA, L.C. **Bicudo da cana-de-açúcar**: informação técnica. Piracicaba: Centro de Tecnologia Canavieira, 2005. (Boletim Técnico)

ALVES, S.B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**, 2.ed. Piracicaba: Fealq, 1998a. p.28-37.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**, 2.ed. Piracicaba: Fealq, 1998b. p.289-381.

ALVES, S.B.; PEREIRA, R.M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**, 2.ed. Piracicaba: Fealq, 1998. p.845-867.

ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M. Controle biológico das pragas das pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMA DE PASTAGENS, 3., 1997, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal: Unesp, 1997. p.318-341.

- ALVES, S.B.; LEITE, L.G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; MARQUES, E.J. Produção massal de fungos entomopatogênicos na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq, 2008. p.215-238.
- ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; VIEIRA, S.A.; TAMAI, M.A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq, 2008. p.69-110.
- ANDRADE, E.N. Contribuição para o estudo da entomologia florestal paulista. **Boletim Agrícola**, v.29, n.7/8, p.446-453, 1928.
- BADILLA, F.F.; ALVES, S.B. Controle do gorgulho da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae) com *Beauveria* spp. em condições de laboratório e campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.20, n.1, p.251-262, 1991.
- BONILLA, J.A. **Fundamentos da agricultura ecológica: sobrevivência e qualidade de vida**. São Paulo: Nobel, 1992. 260p.
- BORROR, D.J.; DELONG, D.M. **Introdução ao estudo dos insetos**. Rio de Janeiro: USAID, 1969. 653p.
- CAIRO, N. **O livro da cana-de-açúcar**, 2.ed. Curitiba: Empresa Gráfica Paranaense, 1924. 161p.
- CALMON, P. Açúcar, sua história e influência na civilização brasileira. In: CALMON, P. **Anuário açucareiro**. Rio de Janeiro: I.A.A., 1935. p.7-12.
- CLAYTON, W.D.; DANIELS, C.A. Geographical, historical and cultural aspect of origin of the Indian and Chinese sugarcane *S. barberi* and *S. sinensis*. **ISSCT Sugarcane Breeding Newsletter**, v.36, p.4-23, 1975.
- CORRÊA, M.A. **Sinopse histórica do açúcar em São Paulo**. In: CALMON, P. **Anuário açucareiro**. Rio de Janeiro: I.A.A., 1935. p.153-163.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**, v.1. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1926. 747p.

- COSTA, C.; VANIN, S.A.; CASARI-CHEN, S.A. **Larvas de Coleoptera do Brasil**. São Paulo: Museu de Zoologia/USP, 1988. 282p.
- COSTA, M.C.G. **Distribuição e crescimento radicular em soqueiras de cana-de-açúcar**: dois cultivares em solos com características distintas. 2005. 88f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- CROWSON, R.A. **The biology of Coleoptera**. London: Academic Press, 1981. 802p.
- DALY, H.V.; DOYEN, J.T.; PURCELL, A.H. **Introduction to insect biology and diversity**. Oxford: Oxford University Press, 1998. 680p.
- DANIELS, J.; SMITH, P.; PATON, N. The origin of sugarcane and centers of genetic diversity in *Saccharum*. **Sugarcane Breeding Newsletter**, v.35, p.4-18, 1975.
- DEGASPARI, N.; BOTELHO, P.S.M.; ALMEIDA, L.C.; CASTILHO, H.J. Biologia de *Sphenophorus levis* (Vaurie, 1978) (Coleoptera: Curculionidae) em dieta artificial e no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.22, n.6, p.556-558, 1987.
- DINARDO-MIRANDA, L.L. Nematoides e pragas de solo em cana-de-açúcar. **Informações Agronômicas**, v.110, n.1, p.25-32, 2005. (Encarte técnico)
- DIDHAM, R.K.; GHAZOUL, J.; STORK, N.E.; DAVIS, A.J. Insects in fragmented forests: a functional approach. **Tree**, v.11, n.6, p.255-260, 1996.
- DIEHL, W.W. *Balansia* and the *Balansiae* in America. **U.S.D.A. Agricultural Monograph**, n.4, p.1-82, 1950.
- DRIVER, F.; MILNER, R.J.; TRUEMAN, J.W.H. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. **Mycological Research**, v.104, n.2, p.134-150, 2000.
- ERIKSSON, O.E. (Ed.). Outline of Ascomycota - 2006. **Myconet**, v.12, n.27, p.1-82, 2006.



- FARIA, M.R.; MAGALHÃES, B.P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.2, n.2, p.18-21, 2001.
- FILIZOLA, H.F.; FERRACINI, V.L.; SANS, L.M.A.; GOMES, M.A.F.; FERREIRA, C.J. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.5, p.659-667, 2002.
- FRANCESCHINI, M. et al. Biotecnologia aplicada ao Controle Biológico: o entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.4, n.23, 2001.
- GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920p. (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 10)
- GILLOTT, C. **Entomology**, 3. ed. Dordrecht: Springer, 2005. 831p.
- GOETTEL, M.S.; INGLIS, G.D. Fungi: Hyphomycetes. In: LACEY, L.A. (Ed.). **Manual of techniques in insect pathology**: New York: Academic Press, 1997. p.213-249.
- HENDERSON, C.F.; TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. **Journal of Economic Entomology**, v.48, p.157-161, 1955.
- HENNIG, W. **Insect Phylogeny**. Chichester: John Wiley e Sons, 1981. 514p.
- HYWEL-JONES, N.L. Multiples of eight in Cordyceps ascospores. **Mycological Research**, v.106, p.2-3, 2002.
- KEVAN, P.G.; BAKER, H.G. Insects as flower visitors and pollinators. **Annual Review of Entomology**, v.28, p.407-453, 1983.
- KUSCHEL, G.A. Phylogenetic classification of Curculionidae to families and subfamilies. **Mem. Entomol. Soc. Wash.** v.14, p.5-33, 1995.
- LAWRENCE, J.F.; BRITON, E.B. **Australian beetles**. Carlton: Melbourne University Press, 1994. 192p.
- LAWRENCE, J.F.; NEWTON, E.B. Families and subfamilies of coleopteran (with select genera, notes, references and data on family-group names) In: PAPALUK, J.; S.A. SLIPINSKI, S.A.; (Eds.). **Biology, phylogeny and**

**classification of Coleoptera:** Varsóvia: Museum I Institut Zoologii PAN, 1995. p.779-1006.

LEITE, L.G.; BATISTA, A.F.; GINARTE, A.M.A.; TAVARES, F.M.; ALMEIDA, L.C.; BOTELHO, P.S.M. Alternativa de controle: bicudo da cana-de-açúcar. **Cultivar Grandes Culturas**, n.83, mar. 2005.

LEITE, L.G.; MACHADO, L.A.; AMBRÓS, C.M.; TAVARES, F.M. O uso de nematoides entomopatogênicos no controle de pragas da cana-de-açúcar. Ribeirão Preto: **Biocontrol**, 2006 (Boletim Técnico).

LUTTREL, E.S. The ascostromatic ascomycetes. **Mycologia**. v.47, p.511–532. 1955.

MACEDO, L.P.M.; GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M. Outros besouros-praga da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. de S. (Org.). **Controle de pragas da cana-de-açúcar**. Sertãozinho: Biocontrol, 2006. p.49-52.

MACEDO, N.; ARAÚJO, J. R. Efeitos da queima do canavial sobre insetos predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. Londrina: v.29, n.1, p. 79-84, 2000.

MARINONI, R.C.; GANHO, N.G.; MONNÉ, M.L.; MERMUDES, J.R.M. **Hábitos alimentares em Coleóptera (Insecta)**. Ribeirão Preto: Holos. 2001. 64p.

MARTINS-CORDER, M.P.; MELO, I.S. de. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. A *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, n.1, p.1-7, jan./abr. 1998.

MARVALDI, A.E.; LANTERI, A.A. Key to taxa of South American weevils based on adult characters (Coleoptera, Curculionoidea). **Revista Chilena de História Natural**. .v.78, p.65-87, 2005.

NICHOLS, E.; SPECTOR, S.; LOUZADA, J.; LARSEN, T.; AMEZQUITA, S.; FAVILA, M.E.. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. **Biological conservation**, v.141, p.1461-1474, 2008.

NOGUEIRA, E.M.L.; ARRUDA, V.L.V. de. Fenologia reprodutiva, polinização e sistema reprodutivo de *Sophora tomentosa* L. (Leguminosae – Papilionideae) em restinga da praia da Joaquina, Florianópolis, Sul do Brasil. **Biotemas**, v.19, n.2, p.29-36, 2006.

ONOFRE, S.B.; VARGAS, L.R.B.; ROSSATO, M.; BARROS, N.M.; BOLDO, J. T.; NUNES, A.R.F.; AZEVEDO, J.L. Controle biológico de pragas na agropecuária, por meio de fungos entomopatogênicos. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Org.). **Biociencia**: avanços na agricultura e na agroindústria. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. p.295-328.

PEDROSA-MACEDO, J.H. Risco da não utilização de resíduos florestais. IN: **Curso de atualização sobre sistema de exploração e transporte florestal**. Curitiba: FUPEF, 1984. cap.5, p.40-49.

PINTO, A. de S.; GARCIA, J.F.; OLIVEIRA, H.N. de Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.V.; PINTO, A. de S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J.C.M. de. (Orgs.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. p.257-280.

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

ROBERTS, D.W.; R.J. ST. LEGER. *Metarhizium* spp., Cosmopolitan Insect-Pathogenic Fungi: Mycological Aspects. **Advances in Applied Microbiology**, New York, v.54, p.1-70, 2004.

ROGERSON, C.T. Os fungos hypocreales (Ascomycetes, Hypocreales) **Mycologia**. v.62, p.864-910. 1970.

ROSSMAN, A.Y.; SAMUELS, G.J.; ROGERSON, C.T.; LOWEN, R. Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes). **Studies in Mycology**. v.42, p.1-248. 1999.

SAMUELS, G.Y. Tropical Hypocreales. In: HYDE, K.D. (Ed.). **Diversity of Tropical Microfungi**. University of Hong Kong Press. 1997. p.297-325.

SCOLLON, E.J.; GOLDSTEIN, M.I.; PARKER, M.E.; HOOPER, M.J.; LANCHER, T.E.; COBB, G.P. Chemical and biochemical evaluation of Swainson's hawk mortalities in Argentina. In: JOHNSTON, J.J. (Ed.). **Pesticides and wildlife**. Washington, DC: American Chemical Society, 2001. p.294-308.

SPATAFORA, J.W., BLACKWELL, M. Molecular systematics of unitunicate perithecial ascomycetes: the Clavicipitales–Hypocreales connection. **Mycologia** v.85, p.912-922. 1993.

ST. LEGER, R.J.; JOSHI, L.; BIDOCHKA, M.J.; ROBERTS, D.W. Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.93, p.6349-6354, 1996.

TERÁN, F; PRECETTI, A. *Sphenophorus levis* e *Metamasius hemipterus* como pragas na cana-de-açúcar. **Boletim Técnico Copersucar**. São Paulo, n. 18, p. 24-26, 1982.

VANIN, S.A. Curculionidae spp. In: BRANDÃO, C.R.F.; CANCELLO, E. (eds.). **Invertebrados terrestres**, v.5. Biodiversidade no estado de São Paulo: síntese do conhecimento ao final do século XX. Joly, C.A. e Bicudo, C.E.M. (orgs.). São Paulo, Fapesp. p.133-140. 1999.

VEY, A.; MATHA, V.; DUMAS, C. Effects of the mycotoxin E on insect haemocytes and on dynamics and efficiency of the multicellular immune reaction. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.80, p.177-187. 2002.

VIEIRA, E.D.R.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. DDT environmental persistence from its use in a vector control program: a case study. **Environmental Research – Section A**, v.86, p.174-182, 2001.

WOODRUFF. R.E. The hunting billbug, *Sphenophorus venatus vestitus* Chittenden, in Florida (Coleoptera, Curculionidae). **Entomology Circular**, Florida Department of Agriculture, n.45, p.1-2, 1966.

ZORZENON, F.J.; BERGMANN, E.C. e BICUDO, J.E. Primeira ocorrência de *Metamasius hemipterus* (Linnaeus, 1958) e *Metamasius ensirostris* (Germar, 1928) (Coleoptera: Curculionidae) em palmitreiro dos gêneros *Euterpe* e *Bactris*

(Arecaceae) no Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.67, n.2, p.265-268, 2000.