

VIRULÊNCIA DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS AO GORGULHO-AQUÁTICO

José Francisco da Silva Martins ⁽¹⁾, Mirtes Mello ⁽¹⁾, Maria Laura Turino Mattos ⁽¹⁾, Viviane Ribeiro Chocorosqui ⁽¹⁾, Denise Silva Weber ⁽²⁾, Juliana Carret Soares ⁽²⁾. ¹ Embrapa Clima Temperado, Caixa Postal 403, CEP 96.001-970, Pelotas, RS. martins@cpact.embrapa.br, ² Universidade Católica de Pelotas, Caixa Postal 402, CEP 96.010-970, Pelotas, RS.

Palavras-chave: *Oryzophagus oryzae*, bicheira-da-raiz, controle biológico, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*.

Gorgulho-aquático é o nome vulgar do inseto adulto da espécie *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima) (Coleoptera: Curculionidae) praga-chave do arroz irrigado no Brasil, principalmente no Sul do País, onde se concentra o cultivo do cereal. O adulto é prejudicial apenas em cultivos de arroz pré-germinado, podendo destruir muitas plântulas na fase inicial da cultura. As larvas (bicheira-da-raiz) cortam as raízes de arroz e causam os principais prejuízos, independente do sistema de cultivo. No Rio Grande do Sul, onde predomina a semeadura de arroz em solo seco, o inseto ocorre somente após a inundação das lavouras, em $\pm 25\%$ da área cultivada, reduzindo em $\pm 10\%$ a produtividade. Em Santa Catarina, onde predomina o arroz pré-germinado, semeado em solo inundado, o inseto ocorre mais cedo, em quase toda a área orizícola, reduzindo em $\pm 25\%$ a produtividade (Prando & Pegoraro, 1993).

Associado ao impacto econômico, advindo do dano de *O. oryzae* ao arroz irrigado, há o risco de impacto ambiental negativo, oriundo de práticas de manejo do inseto, basicamente do controle químico, geralmente usado sem critérios técnicos (Martins et al., 2001). O controle biológico, por meio de fungos entomopatogênicos, como um componente básico do manejo integrado de pragas, pode contribuir para a redução do uso de inseticidas químicos (Prando & Sosa-Gomez, 1998). No caso de ser inserido no sistema de manejo de *O. oryzae*, contribuiria para minimizar os custos de produção e os riscos de poluição ambiental relacionados ao cultivo de arroz irrigado.

O controle microbiano de *O. oryzae* possui maior adaptabilidade a pequenas lavouras, onde o arroz é cultivado continuamente por vários anos. Nestas áreas, é factível aplicar fungos entomopatogênicos em locais de hibernação do inseto ou diretamente neste, em pontos de maior concentração, durante a invasão das lavouras, como é praticado em Cuba em relação à espécie *Lissorhoptus brevisrostris* Hustache (Meneses Carbonell et al., 1996).

No Brasil, a pesquisa sobre controle de gorgulhos-aquáticos por meio de fungos entomopatogênicos, antes restrita, atualmente está em fase de intensificação. Inicialmente foi detectada a patogenicidade das cepas de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin a espécie *Lissorhoptus tibialis* Hustache (Martins et al., 1987). Em seqüência, foi enfocada a espécie *O. oryzae*, sendo constatado: (1) controle satisfatório através da mistura de *B. bassiana* e óleo de soja (Leite et al., 1992); (2) infecção de gorgulhos hibernantes por uma linhagem nativa de *B. bassiana* (Mielitz & Silva, 1992); (3) redução de 90% da população larval, em arroz pré-germinado, via pulverização foliar de *B. bassiana* ou *M. anisopliae* misturados a 50% da dose recomendada de fipronil, similarmente ao obtido com a dose completa do inseticida (Prando & Sosa-Gomez, 1998) e (4) ineficiência de aplicações puras de *B. bassiana* no controle de larvas (Leite et al., 1998). Recentemente, em laboratório, foram obtidos resultados promissores de controle de *O. oryzae* via formulações comerciais de *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Costa et al., 2001).

Neste trabalho foi avaliada a virulência de isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* a adultos de *O. oryzae*, visando obter subsídios à implantação de táticas de controle afins com a segurança alimentar e ambiental, basicamente em sistemas de produção de arroz orgânico.

O experimento foi realizado em fevereiro de 2003 no Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, no delineamento de tratamentos inteiramente casualizados [dois isolados (CP) de *M. anisopliae* (*Ma*) três de *B. bassiana* (*Bb*) e testemunha], com seis repetições. Os isolados, cultivados e dosados no Laboratório de Microbiologia Agrícola e

Ambiental da Embrapa Clima Temperado, pertencem à Coleção de Culturas de Fungos Entomopatogênicos, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e foram selecionados para o estudo por infectarem outras espécies de curculionídeos. Os adultos de *O. oryzae* utilizados foram obtidos de criação em plantas de arroz (Martins et al., 2001b).

A parcela experimental constou de um recipiente de vidro com 8 cm de diâmetro e 17 cm de altura (capacidade = 800 mL), contendo duas plantas de arroz, da cultivar BRS Chuí (raízes cortadas a 3 cm de comprimento e colmos a 8 cm de altura), 200 mL de água destilada e 15 gorgulhos (5 fêmeas e 10 machos). As plantas e os insetos, em cada recipiente, foram tratados com 1 mL de uma suspensão de esporos (10^7 esporos.mL⁻¹), numa solução a 0,1% de Tween 80 em água ultra pura, por meio de um micro-pulverizador, sendo a viabilidade dos cinco isolados superior a 95%. O tratamento testemunha consistiu apenas da aplicação da solução de Tween em água destilada. O registro do número de insetos mortos foi realizado 3, 5, 7, 9, 11, 13, 17 e 21 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), ocasiões em que o volume de 150 mL de água nos recipientes foi repostos. Para confirmação de infecção, os insetos mortos foram retirados dos recipientes a cada registro de mortalidade e colocados em Placas de Elisa, mantidas em câmara climatizada à temperatura de 27 C° e UR de 90%. Além da avaliação visual, os insetos mortos foram dissecados e examinados em microscópico ótico quanto à presença de estruturas dos fungos entomopatogênicos.

Para análise estatística, os dados numéricos cumulativos (X) de insetos mortos e com infecção confirmada, em cada data de observação (3, .. 11, .. e 21 DAT), foram transformados em $\sqrt{X + 1}$, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott & Knott (1974). Os resultados, porém, são apresentados como porcentagem de insetos mortos e de insetos infectados.

Entre os isolados de *M. anisopliae* e de *B. bassiana* avaliados, CP034Ma e CP207Bb destacaram-se como os mais virulentos a *O. oryzae* (Tabela 1). Ambos os isolados, já entre 5 e 7 DAT proporcionaram índices significativamente superiores de mortalidade e até 21 DAT causaram os mais elevados índices de infecção. Em segundo plano, destacou-se o CP343Ma. Este isolado exerceu efeito de mortalidade nos gorgulhos igual ao dos isolados CP034Ma e CP207Bb, porém, foi significativamente inferior em relação ao índice de infecção (Tabela 1).

TABELA 1. Mortalidade e infecção de adultos de *Oryzophagus oryzae* após tratamento com suspensão de esporos de isolados (CP) dos fungos *Beauveria bassiana* (Bb) e *Metarhizium anisopliae* (Ma) em laboratório¹. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, RS. 2003.

| Tratamentos | 3 DAT ² | 5 DAT | 7 DAT | 9 DAT | 11 DAT | 13 DAT | 17 DAT | 21 DAT |
|---|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Porcentagem cumulativa de insetos mortos ^{3,4} | | | | | | | | |
| CP034Ma | 3,3 a | 30,0 a | 56,7 a | 74,5 a | 78,7 a | 84,7 a | 90,0 a | 90,0 a |
| CP207Bb | 0 a | 6,7 b | 44,7 a | 66,7 a | 73,3 a | 78,0 a | 84,7 a | 85,3 a |
| CP343Ma | 3,3 a | 28,7 a | 51,3 a | 65,3 a | 71,3 a | 74,6 a | 75,3 a | 76,7 a |
| CP475Bb | 0 a | 11,3 b | 26,7 b | 38,7 b | 51,3 b | 54,7 b | 56,6 b | 60,0 b |
| CP478Bb | 0 a | 0 c | 8,0 c | 13,3 c | 16,7 c | 16,7 c | 26,7 c | 28,0 c |
| Testemunha | 0 a | 0 c | 3,3 c | 5,3 c | 6,7 c | 6,7 d | 8,7 d | 10,0 d |
| Tratamentos | 3 DAT ¹ | 5 DAT | 7 DAT | 9 DAT | 11 DAT | 13 DAT | 17 DAT | 21 DAT |
| Porcentagem cumulativa de insetos infectados ^{3,4} | | | | | | | | |
| CP034Ma | 2,7 a | 29,3 a | 56,0 a | 74,0 a | 78,0 a | 84,0 a | 90,0 a | 90,0 a |
| CP207Bb | 0 b | 6,0 b | 40,7 a | 61,3 a | 68,0 a | 72,7 a | 79,3 a | 80,7 a |
| CP343Ma | 3,3 a | 24,7 a | 43,3 a | 60,7 a | 62,7 a | 62,7 a | 64,0 b | 64,0 b |
| CP475Bb | 0 b | 10,7 b | 26,0 b | 37,3 b | 47,3 a | 50,0 a | 51,3 b | 51,3 b |
| CP478Bb | 0 b | 0 c | 8,0 c | 12,7 c | 16,0 b | 16,0 b | 26,0 c | 26,7 c |
| Testemunha | 0 b | 0 c | 0 c | 0 d | 0 c | 0 c | 0 d | 0 d |

¹Dose: 1mL de suspensão (10^7 esporos.mL⁻¹ de solução de 0,1% de Tween 80 e água ultra pura).

²Dias após aplicação dos tratamentos.

³Médias com a mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott & Knott (P= 0,05).

⁴C.V. (%) < 20

É importante avaliar os isolados como CP034Ma e CP207Bb (virulentos a *O. oryzae* em laboratório) quanto à capacidade de se estabelecer e desenvolver no corpo do inseto em

arrozais irrigados e também em relação à persistência neste ambiente, incluindo água, solo, restos vegetais, etc. Quanto maior a quantidade de gorgulhos mortos com micose e de outras fontes de inócuo, nos arrozais, maior será, no sentido temporal e espacial, o potencial de disseminação dos fungos entomopatogênicos no ecossistema de arroz irrigado. A manutenção da virulência dos fungos no campo é fundamental para o sucesso da tática de controle microbiológico e sua inserção em sistemas de manejo integrado do inseto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, E. L.N.; CRUZ, F.Z. da; DIAS, R.B. de O; SILVA, R.F.P. da; OLIVEIRA, J.V. de; FIUZA, L.M. Controle de adultos de *Oryzophagus oryzae* (Col.: Curculionidae) com formulações comerciais de fungos entomopatogênicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001. Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: IRGA, 2001. p. 357-359.
- LEITE, L.G.; CAMARGO, L.M.P.C.A.; BATISTA FILHO, A.; URASHIMA, A.S.; ASAYAMA, T.; LEITE, N.; VILELLA, O.; PRADA, W.L.A. Controle de adultos do gorgulho aquático pela aplicação da mistura do fungo *Beauveria bassiana* com óleo de soja, em campos irrigados. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v.21, n.1, p.83-94, 1992.
- LEITE, L.G.; TAKADA, H.M.; ALVES, S.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, *Oryzophagus oryzae*. Arquivos do Instituto Biológico, v.65, n.2, p.19-23, 1998.
- MARTINS, J.F. da S.; MAGALHÃES, B.P.; LORD, J.C.; FERREIRA, E.; ZIMMERMANN, F.J.P. Efeitos dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* sobre *Lissorhoptus tibialis*, gorgulho aquático do arroz. Goiânia: Embrapa-CNPAP, 1986. 7p. (Embrapa-CNPAP. Pesquisa em Andamento, 60).
- MARTINS, J.F. da S.; CARBONARI, J.J.; PRANDO, H.F. Gorgulho-aquático-do-arroz, *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (eds.). Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil, com ênfase na fruticultura. Ribeirão Preto: Holos. 2001a. p.128-134.
- MARTINS, J.F. da S.; MELO, M.; SILVA, F.F. da, GRÜTZMACHER, A.D.; CUNHA, U.S. da. Novo método para aferição da densidade populacional do gorgulho-aquático em plantas de arroz irrigado. Agropecuária Clima Temperado, Pelotas, v.4, n.2, p.363-370, 2001b.
- MENESES CARBONEL, R.; GUTIÉRREZ YANIS, A.; GARCIA RUBIAL, A.; ANTIGUA PEREIRO, G.; GÓMEZ SOUSA, J. Guia para el trabajo de campo en el manejo integrado de plagas del arroz. Cuba: Instituto de Investigaciones del Arroz, 1996. 35p.
- MIELITZ, L.R.; SILVA, L. da. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill em adultos de *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v.21, n.1, p.263-265, 1992.
- PRANDO, H.F.; PEGORARO, R.A. Controle da bicheira-da-raiz do arroz (*Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) com tratamento de sementes. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 20., 1993, Pelotas. Anais. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1993. p.220-221.
- PRANDO, H.F.; SOSA-GOMEZ, D.R. *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e fipronil para o controle de *Oryzophagus oryzae* (Col., Curculionidae), em arroz irrigado, sistema pré-germinado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., 1998. Rio de Janeiro, Resumos. Rio de Janeiro, SEB/UFRRJ, 1998. p.86.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. Biometrics, Releigh, v.30, n.130, p.507-512, 1974.

Apoio Financeiro: PRODETAB - Projeto de Apoio ao Desenvolvimento de Tecnologia Agropecuária para o Brasil (Edital 01/2001, Conv. 080)