

## TÉCNICA DE CRIAÇÃO DE *Diabrotica speciosa* (GERM.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) PARA BIOENSAIOS COM BACILOS E FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS

Joseilde O. Silva-Werneck<sup>1</sup>, Marcos R. de Faria<sup>1</sup>, José Ricardo M.V. Abreu Neto<sup>1</sup>,  
Bonifácio P. Magalhães<sup>1</sup> e Francisco G.V. Schmidt<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Rearing Technique of *Diabrotica speciosa* (Germ.) (Coleoptera: Chrysomelidae) for Bioassays with Entomopathogenic Bacteria and Fungi

A rearing technique of *Diabrotica speciosa* (Germ.) was developed to screen entomopathogenic bacteria and fungi. Larvae were reared on corn seedlings and adults were reared on bean leaves. The efficacy of this technique was confirmed by the production of enough larvae for bioassays and by the biological data obtained. The pre-oviposition and oviposition periods lasted 9.7 and 16.6 days, respectively, and females laid an average of 384.6 eggs. The incubation period of the eggs was 8.1 days, and the total immature period, from larvae to adult, was 26.2 days. The sex ratio was 0.525. Head-capsule width for first, second and third instar larvae was, 0.220, 0.340 and 0.482 mm. The longevity of adults was 31.6 days for males and 26.6 days for females. Twenty one isolates of *Bacillus thuringiensis* Berliner and six isolates of *B. cereus* Frankland & Frankland were evaluated against larvae of *D. speciosa* and none of them was pathogenic. Thirteen isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin and nine of *Metarhizium anisopliae* Metsch. were tested, and the highest rate of confirmed infection observed was 30% *M. anisopliae*, isolate CG 293.

KEY WORDS: Insecta, pathogenicity, *Bacillus thuringiensis*, *B. cereus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*.

### RESUMO

Foi desenvolvida uma técnica de criação de *Diabrotica speciosa* (Germ.) em laboratório, visando avaliar sua susceptibilidade a bactérias e fungos entomopatogênicos. A criação de larvas foi feita em radículas de plântulas de milho e a de adultos em folhas de feijoeiro. A eficiência desta técnica foi confirmada pela produção de larvas suficientes para realização de bioensaios e pelos dados biológicos obtidos. O período de pré-oviposição foi de 9,7 dias e o de oviposição foi de 16,6, sendo que o número de ovos por fêmea foi de 384,6. O período de incubação foi de 8,1 dias e a duração da fase imatura, compreendida entre a eclosão das larvas e a emergência dos adultos, foi de 26,2 dias. Obteve-se razão sexual de 0,525 em laboratório.

Recebido em 09/12/93. Aceito em 06/02/95.

<sup>1</sup>EMBRAPA/CENARGEN, Caixa postal 02372, 70849-970, Brasília, DF.

O tamanho da cápsula cefálica para larvas imaturas de 1º, 2º e 3º instar foi, 0,220, 0,340 e 0,482 mm. A longevidade dos adultos foi de 31,6 dias para machos e 26,6 dias para fêmeas. Foram avaliados 21 isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner e seis de *B. cereus* Frankland & Frankland sobre larvas de *D. speciosa* e nenhum se mostrou patogênico. Foram testados 13 isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e nove de *Metarhizium anisopliae* Metsch., sendo o maior índice de infecção confirmada de 30% para *M. anisopliae*, isolado CG 293.

**PALAVRAS-CHAVE:** Insecta, patogenicidade, *Bacillus thuringiensis*, *B. cereus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) possui cerca de 334 espécies descritas, com distribuição principalmente neotropical (Jackson 1985). *Diabrotica speciosa* (Germ.) ocorre em vários países produtores de feijão das Américas (Souza 1987). No Brasil encontra-se difundida em todo território nacional, sendo considerada praga principal ou secundária de várias culturas (Lorenzato 1984, Magalhães & Carvalho 1988), em especial leguminosas, cucurbitáceas e solanáceas.

Os adultos de *D. speciosa* alimentam-se da parte aérea das plantas e são transmissores de doenças viróticas (Lin et al. 1984, Souza 1987). As larvas injuriam a parte subterrânea, inclusive sementes em germinação e nódulos de leguminosas, provocando muitas vezes a total destruição da mesma (Lourenção & Rossetto 1982, Oliveira et al. 1988).

O controle de *D. speciosa* tem se baseado quase que exclusivamente no emprego de produtos químicos, havendo muitas vezes a necessidade de várias aplicações para a obtenção de resultados satisfatórios (Lorenzato 1984, Carvalho 1990). O controle biológico desta praga através de microrganismos entomopatogênicos pode representar uma alternativa viável, havendo necessidade de determinação do potencial destes agentes biológicos sobre o inseto. Assim, foi desenvolvida uma técnica de criação de *D. speciosa* visando a produção de larvas para avaliação da ação de bactérias e fungos entomopatogênicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Criação de *D. speciosa*.** Adultos de *D. speciosa* foram coletados em lavouras de soja na região do Distrito Federal e mantidos em gaiolas cilíndricas de acrílico, com tampa telada (13,5 x 13,0 cm). A dieta para adultos constituiu-se de folhas de feijoeiro (variedade Carioca). Para obtenção de postura, usou-se placa de Petri (9,0 x 1,5 cm) contendo areia autoclavada coberta por papel filtro e gase preta umedecidos com água destilada. As folhas e o recipiente para postura foram trocados a cada dois dias. Os ovos obtidos foram transferidos com pincel para placas de Petri de plástico (6,0 x 2,0 cm), contendo algodão umedecido recoberto por papel filtro. As larvas recém-eclodidas foram transferidas com pincel para caixas de acrílico com tampa, tipo gerbox (11,5 x 3,5 cm) com solo arenoso autoclavado (56% de areia, 16% de silte e 28% argila) e plântulas de milho híbrido, obtidos em papel germinação, com umidade aproximada de 21,6%. As caixas de acrílico permaneceram tampadas até a emergência dos adultos. Foram colocadas no máximo 50 larvas por gerbox. Todas as etapas da criação foram conduzidas em câmara climatizada com temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 14 horas.

A validade desta técnica foi testada através da obtenção de dados biológicos de *D. speciosa*. Assim, foram montadas 10 gaiolas (15 x 8 cm) com uma média de seis casais de *D. speciosa* por gaiola (variando de dois a 12) recém emergidos. Foram realizadas observações sobre período de pré-oviposição, número de ovos por fêmea, viabilidade de ovos e larvas e longevidade dos adultos. Larvas neonatas, com até duas horas de eclosão, foram acondicionadas em gerbox (50 por gerbox), como descrito anteriormente, para estudo do desenvolvimento larval. Ao longo de todo o estágio larval, cerca de 10 larvas foram coletadas diariamente para medição da cápsula cefálica e do comprimento do corpo com o auxílio de uma ocular micrométrica adaptada a um microscópio estereoscópico.

### Testes de patogenicidade.

**Fungos entomopatogênicos.** Larvas de segundo estágio foram coletadas através de peneiramento (peneira de 1 mm/mm) do solo dos gerboxes. Foram avaliados 13 isolados de *B. bassiana* e nove de *M. anisopliae* (Tabela 1), provenientes do Banco de Germoplasma de Microrganismos do CENARGEN/EMBRAPA. As larvas foram colocadas em peneira e imersas em suspensão de  $10^8$  conídios/ml durante aproximadamente 5 segundos. Para o controle empregou-se solução de Tween 80 a 0,1%. Para cada tratamento foram realizadas três repetições com 10 indivíduos. Em seguida, as larvas foram transferidas para placas de Petri contendo papel filtro e plântulas de milho híbrido, e mantidas em incubadoras do tipo B.O.D. a 28°C, UR de 70% e ausência de luz. O número de larvas infectadas foi avaliado sete dias após a inoculação.

Tabela 1. Isolados de fungos entomopatogênicos avaliados sobre larvas de segundo estágio de *Diabrotica speciosa*.

Espécie	Isolado	Hosp. Original <sup>1</sup>	Local de coleta
<i>B. bassiana</i>	CG05	Coleóptero	Brasília-DF
<i>B. bassiana</i>	CG11	<i>Sternechus</i> sp.	Londrina-PR
<i>B. bassiana</i>	CG12	<i>Cycloneda sanguinea</i>	Londrina-PR
<i>B. bassiana</i>	CG52	Coleóptero	Brasília-DF
<i>B. bassiana</i>	CG79	<i>Maecolaspis monrosi</i>	Argentina
<i>B. bassiana</i>	CG121	Coleóptero	Brasília-DF
<i>B. bassiana</i>	CG138	<i>Cosmopolites sordidus</i>	Recife-PE
<i>B. bassiana</i>	CG140	<i>Oryctes rhinocerus</i>	Nova Zelândia
<i>B. bassiana</i>	CG155	<i>Diabrotica speciosa</i>	Pelotas-RS
<i>B. bassiana</i>	CG160	Coleóptero	Brasília-DF
<i>B. bassiana</i>	CG304	<i>Sternechus subsignatus</i>	Passo Fundo-RS
<i>B. bassiana</i>	CG316	<i>Diabrotica speciosa</i>	Pelotas-RS
<i>B. bassiana</i>	CG317	<i>Diabrotica speciosa</i>	Pelotas-RS
<i>M. anisopliae</i>	CG47	<i>Galactica</i> sp.	Brasília-DF
<i>M. anisopliae</i>	CG94	<i>Deois flavopicta</i>	Brasília-DF
<i>M. anisopliae</i>	CG122	<i>Deois flavopicta</i>	Brasília-DF
<i>M. anisopliae</i>	CG256	<i>Chalcodermus aeneus</i>	Goiânia-GO
<i>M. anisopliae</i>	CG292	<i>Aphodius tasmaniae</i>	Austrália
<i>M. anisopliae</i>	CG293	<i>Ancognatha scarabaecides</i>	Colômbia
<i>M. anisopliae</i>	CG294	<i>Popillia japonica</i>	Japão
<i>M. anisopliae</i>	CG295	<i>Oryctes</i> sp.	Papua Nova Guiné
<i>M. anisopliae</i>	CG343	<i>Curculio caryae</i>	EUA

<sup>1</sup>Exceto *Galactica* sp. (Lepidoptera) e *Deois flavopicta* (Homoptera), todos os hospedeiros pertencem à ordem Coleoptera.

**Bacilos entomopatogênicos.** Foram testados 21 isolados de *B. thuringiensis* e seis de *B. cereus* (Tabela 2) pertencentes ao Banco de Germoplasma de Microrganismos do CENARGEN/EMBRAPA. Os isolados foram cultivados em meio à base de caldo nutritivo, por 48 a 60 horas, em incubador rotativo a 200 rpm e 30°C. Plântulas de milho foram imersas nas suspensões bacterianas por 15 a 30 minutos e, em seguida, colocadas em placas de Petri de plástico pequenas com papel filtro. Larvas de primeiro estágio de *D. speciosa*, coletadas por peneiramento, foram adicionadas às placas. Para a testemunha foi usado meio de cultura não inoculado. Para cada tratamento foram realizadas três repetições com cinco indivíduos. As placas de Petri foram colocadas em câmara climatizada 26 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 14 horas. A leitura do número de larvas mortas foi realizada sete dias após o tratamento.

Tabela 2. Isolados de bactérias entomopatogênicas avaliados sobre larvas de primeiro estágio de *Diabrotica speciosa*.

Espécie	Isolado	Hospedeiro/ Substrato	Origem
<i>B. cereus</i>	S65	solo	Criciúma-SC
<i>B. cereus</i>	S70	solo	Franca-SP
<i>B. cereus</i>	S73	solo	Padre Bernardo-GO
<i>B. cereus</i>	S136	solo	Uberlândia-MG
<i>B. cereus</i>	S144	solo	Rubim-MG
<i>B. cereus</i>	S145	solo	Virgem da Lapa-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S41	solo	Vitória-ES
<i>B. thuringiensis</i>	S49	-	Prod. comerc. (DIPEL <sup>R</sup> )
<i>B. thuringiensis</i>	S66	solo	Criciúma-SC
<i>B. thuringiensis</i>	S76	solo	Padre Bernardo-GO
<i>B. thuringiensis</i>	S89	solo	Inst. Pasteur-França
<i>B. thuringiensis</i>	S90	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S92	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S93	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S109	solo	Nova Alvorada-MS
<i>B. thuringiensis</i>	S110	solo	Nova Alvorada-MS
<i>B. thuringiensis</i>	S128	-	Inst. Pasteur-França
<i>B. thuringiensis</i>	S130	-	Virginia Politechnic Inst.
<i>B. thuringiensis</i>	S133	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S135	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S138	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S141	solo	Uberlândia-MG
<i>B. thuringiensis</i>	S244	solo	Planalto-BA
<i>B. thuringiensis</i>	S298	solo	Ibotirama-BA
<i>B. thuringiensis</i>	S392	-	Fiocruz-RJ
<i>B. thuringiensis</i>	S453	solo	Cruz das Almas-BA
<i>B. thuringiensis</i>	S597	<i>D. speciosa</i>	Brasília-DF

Visando a uma melhor interpretação dos resultados obtidos nos ensaios com bactérias, mediu-se o pH intestinal de *D. speciosa*. Larvas de terceiro estágio, selecionadas por produzirem maior quantidade de líquido intestinal que larvas mais jovens, foram submetidas a choque elétrico de 35 volts, utilizando-se potenciômetro Powerstar<sup>R</sup>. Após regurgitação, provocada pelo choque elétrico, o pH do conteúdo intestinal foi estimado através de fita indicadora de pH (Merck).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A manutenção dos adultos utilizando folhas verdes de feijoeiro proporcionou resultados satisfatórios. Haji (1981) relata que alimentou os adultos com folhas de batatinha e que foi impossível criá-los em folhas de soja e feijão, pois ocorria alta mortalidade.

A oviposição iniciou-se  $9,8 \pm 3,9$  dias após a emergência dos adultos, e teve continuidade por um período médio de 16,6 dias. A produção de ovos ( $384,6 \pm 294,7$  ovos/fêmea) é comparável à produção obtida por Haji (1981) (419,6 ovos/fêmea) e superior à obtida por Carvalho & Hohmann (1983) (143,7 ovos/fêmea). Por outro lado, a viabilidade média dos ovos (63,2%) é comparável à observada por Carvalho & Hohmann (1983) (76,8%) e bem superior aos valores obtidos por Haji (1981) (29,7%). A viabilidade de ovos pode ser mantida pela redução de eventuais contaminações, através de esterilização do material utilizado para postura e eclosão.

A taxa de emergência de adultos a partir de larvas foi de 38,6%, significativamente superior aos 3,3% obtidos por Haji (1983). A razão sexual dos adultos emergidos em laboratório foi de 0,525. A distinção entre machos e fêmeas foi feita de acordo com White (1977), baseando-se nas diferenças dos segmentos terminais do abdômen do adulto, sendo que o macho apresenta um esclerito extra no ápice, o que o torna mais rombudo do que o da fêmea.

A duração da fase imatura, compreendida entre a eclosão das larvas e a emergência dos adultos, nas nossas condições (plântulas de milho cultivadas em solo), foi em média de 26,2 dias (Tabela 3); resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho & Hohmann (1983) (23,3 dias) também usando plântulas de milho, desenvolvidas em algodão absorvente. Por outro lado, usando tubérculos de batatinha enraizados sobre algodão, ou plântulas de batatinha para manutenção das larvas, Haji (1981) obteve duração da fase imatura de 43,2 dias. Trabalhando com *D. tibialis* Jacoby Branson & Kryzan (1987) obtiveram duração da fase imatura de 29 dias. A longevidade dos adultos foi em média de 31,6 dias para machos e 26,6 dias para fêmeas, superior aos 14,6 dias obtidos por Carvalho & Hohmann (1983) e inferior aos 50,5 dias para machos e 56,3 dias para fêmeas obtidos por Haji (1981). Para *D. balteata* LeConte, Cuthbert *et al.* (1968) relataram longevidade de aproximadamente 30 dias e, para *D. tibialis*, Branson

Tabela 3. Duração (dias) dos diferentes estágios do ciclo de vida de *Diabrotica speciosa* em condições de laboratório.

	Ovo	Estágio larval	Estágio pré pupal/pupal	Fase adulta	
				Macho	fêmea
Média	8,1	19,1	7,0	31,6	26,7
Varição	5-10	18-21	3-9	10-57	9-49

& Kryzan (1987) registraram longevidade média para fêmeas de 333,0 dias.

A duração de cada estágio larval, largura da cápsula cefálica, razão média de crescimento da cápsula e comprimento do corpo, encontram-se na Tabela 4. A razão média de crescimento de 1,48 seguiu a regra de Dyar (1890), que é também válida para muitos insetos das ordens Lepidoptera, Archaeognata, Hymenoptera, Coleoptera e Hemiptera (Parra 1991). Os dados referentes ao número de estágios e largura da cápsula cefálica são comparáveis àqueles obtidos

Tabela 4. Duração dos estágios, largura (mm) da cápsula cefálica e comprimento do corpo de larvas de *Diabrotica speciosa*.

Estágio	Nº de larvas	Duração (dias)	Largura cáp. cefálica ( $\bar{X} \pm \text{EPM}$ )	Razão de crescim.	Comprimento do corpo ( $\bar{X} \pm \text{EPM}$ )
1º	68	6,3	0,220 $\pm$ 0,001		2,771 $\pm$ 0,102
2º	40	4,0	0,340 $\pm$ 0,002	1,55	5,767 $\pm$ 0,162
3º	70	8,8	0,482 $\pm$ 0,001	1,42	9,496 $\pm$ 0,188

por Carvalho & Hohmann (1983) para larvas desta espécie.

Os dados obtidos demonstram a elevada capacidade reprodutiva de *D. speciosa*, uma vez que cada fêmea pode originar, cerca de 250 larvas, que por sua vez originam 100 indivíduos adultos. Em condições naturais, sobretudo em épocas e agroecossistemas favoráveis, acreditamos que estes valores podem ser significativamente maiores, aumentando ainda mais o potencial destrutivo desta praga.

### Testes de Patogenicidade

**Fungos Entomopatogênicos.** Apesar da provável variabilidade genética intra e interespecífica existente no grupo de isolados analisados, obteve-se baixos índices de infecção sobre larvas de *D. speciosa* (Fig. 1). Dentre os 13 isolados de *B. bassiana* testados, quatro foram patogênicos, sendo a maior taxa de infecção confirmada de apenas 10%. Dos nove isolados testados de *M. anisopliae*, sete foram patogênicos, e a maior taxa de infecção foi de 30%.

**Bactérias Entomopatogênicas.** Nenhum dos isolados de *B. thuringiensis* e *B. cereus* avaliados mostrou-se patogênico às larvas de *D. speciosa*. O isolado S130, *B. thuringiensis* subsp. *san diego*, que é referido como sendo patogênico a coleópteros, embora com fraca atividade contra as espécies de *Diabrotica* testadas (*D. undecimpunctata* Mannerheim e *D. balteata*) (Herrnstadt et al. 1987), também não causou mortalidade em *D. speciosa*.

A atividade inseticida de *B. thuringiensis* depende de solubilização do cristal protéico no intestino do inseto, a qual ocorre em condições alcalinas (Habib & Andrade 1986, Gringorten et al. 1992). Neste trabalho, o pH medido para o conteúdo intestinal de larvas de *D. speciosa* situou-se entre cinco e seis. Isto pode ser uma das causas da inocuidade dos isolados avaliados.

A presente técnica de criação de *D. speciosa* mostrou-se adequada para manutenção de

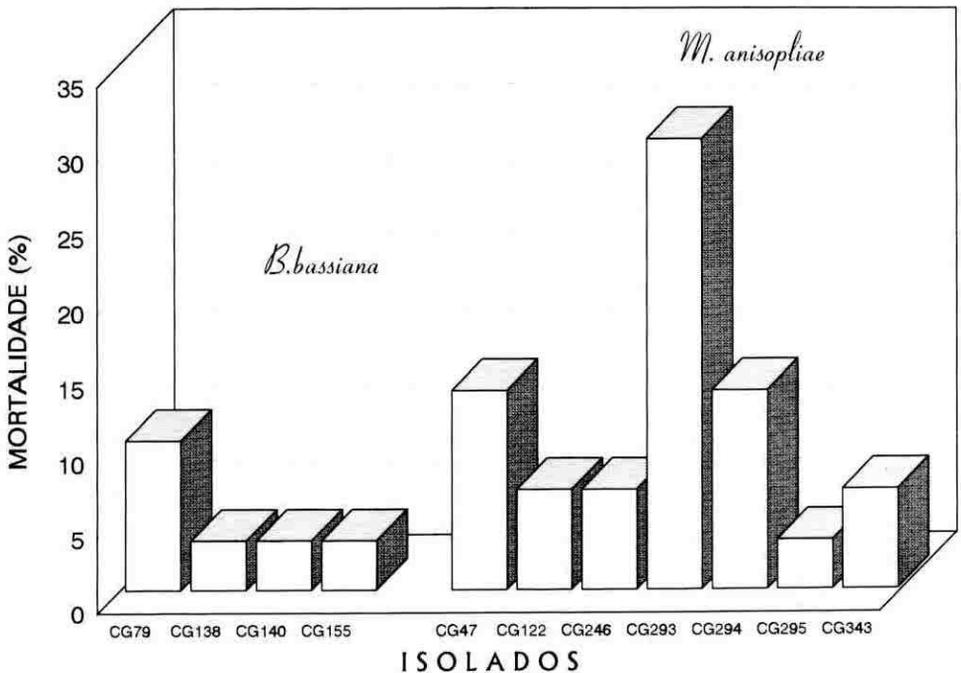


Figura 1. Mortalidade de diferentes isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre *Diabrotica speciosa*.

colônias do inseto em laboratório, obtenção de larvas para testes de patogenicidade com fungos e bacilos e estudos de biologia. Esta técnica pode ser modificada para viabilizar sua utilização em diferentes regiões, durante o ano todo, através do estudo do uso de outras espécies de plantas na alimentação de larvas e adultos, ou através do desenvolvimento de uma dieta artificial.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Luciana C. de Christo pela contribuição no estabelecimento e manutenção da colônia; ao Dr. José M.C.S. Dias, CENARGEN/EMBRAPA, pelo constante incentivo e comentários; e a Carmen Pires, CENARGEN/EMBRAPA, e a um revisor anônimo pelas sugestões apresentadas.

#### LITERATURA CITADA

- Branson, T.F. & J.L. Krysan. 1987. Laboratory biology of *Diabrotica tibialis* and a closely related *Diabrotica* species (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Kans. Entomol. Soc. 60: 46-450.
- Carvalho, S.M. de & C.L. Hohmann. 1983. Biology and leaf consumption of *Diabrotica*

- speciosa* (Germ., 1824) in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L., 1753), under laboratory conditions. Annu. Rep. Bean Improv. Coop., p. 65-66.
- Carvalho, S.M. 1990.** Em defesa do feijão. *Ciência Hoje* 11: 64-65.
- Cuthbert, F.P. Jr., C.S. Creighton & R.B. Cuthbert II. 1968.** Mass rearing banded cucumber beetles, with notes on rearing spotted and striped cucumber beetles. *J. Econ. Entomol.* 61: 288-292.
- Dyar, H.G. 1890.** The number of molts of lepidopterous larvae. *Psyche* 5: 420-422.
- Habib, M.E.M. & C.F.S. Andrade. 1986.** Bactérias entomopatogênicas, p. 127-170. In S.B. Alves (ed.), *Controle microbiano de insetos*. São Paulo, Manole, 407p.
- Haji, F.N.P. 1981.** Biologia, danos e controle do adulto de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), em cultura de batatinha (*Solanum tuberosum* L.). Tese de doutorado, ESALQ/USP. Piracicaba, 53p.
- Herrnstadt, C., F. Gaertner, W. Gelernter & D.L. Edwards. 1987.** *Bacillus thuringiensis* isolate with activity against Coleoptera, p. 101-113. In K. Maramorosch (ed.), *Biotechnology in invertebrate pathology and cell culture*. New York, Academic Press, 511p.
- Gringorten, J.L., R.E. Milne, P.G. Fast, S.S. Sohi & K. van Frankenhuyzen. 1992.** Suppression of *Bacillus thuringiensis* & endotoxin activity by low alkaline pH. *J. Invertebr. Pathol.* 60: 47-52.
- Jackson, J.J. 1985.** *Diabrotica* spp., p. 237-254. In P. Singh & R.F. Moore (eds.), *Handbook of insect rearing* Vol. I. Amsterdam, Elsevier, 488p.
- Lin, M.T., J.H. Hill, E.W. Kitajima & C.L. Costa. 1984.** Two new serotypes of cowpea severe mosaic virus. *Phytopathology* 74: 581- 585.
- Lorenzato, D. 1984.** Controle integrado de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) em frutíferas de clima temperado com caiomônio encontrado em raízes de plantas nativas da família cucurbitaceae, p. 347-355. In *Anais Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 7, Florianópolis, SC, 434p.
- Lourenção, A.L. & C.J. Rossetto. 1982.** Ocorrência de larvas de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) danificando vagens e sistema radicular de amendoimzeiro. *Bragantia* 41: 241-243.
- Magalhães, B.P. & S.M. Carvalho. 1988.** Insetos associados à cultura, p. 573-589. In M.J. de O. Zimmermann, M. Rocha & T. Yamada (eds.), *Cultura do feijoeiro - fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 589p.
- Oliveira, J.N.S., M.A.S. Oliveira & A.M.L. Nunes. 1988.** Influência da cobertura de solo associada ao controle químico sobre "vaquinhas" dos gêneros *Diabrotica* e *Cerotoma* em quatro cultivares de feijão. *EMBRAPA/UEPAE Porto Velho.* 114: 1-3.
- Parra, J.R.P. 1991.** Consumo e utilização de alimentos por insetos, p. 9-65. In A.R. Panizzi & J.R.P. Parra (eds.), *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo, Manole, 359p.
- Souza, L.A. 1987.** Parâmetros para detectar a resistência de feijoeiro a *Diabrotica speciosa*, *Cerotoma* e *Empoasca kraemeri*. *Pesq. Agropec. Bras.* 22: 27-29.
- White, R. 1977.** Sexual characters of species of *Diabrotica* (Chrysomelidae: Coleoptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 70: 168.