



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**DAIANA DA COSTA PEREIRA**

**AVALIAÇÃO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE CUPINS URBANOS  
POR *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF) (SOROKIN)**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**NOVEMBRO – 2018**

DAIANA DA COSTA PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE CUPINS URBANOS  
POR *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF) (SOROKIN)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas.

**Orientador (as):** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Érica Caldas  
Silva de Oliveira.  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Valéria Veras Ribeiro

**CAMPINA GRANDE – PB**

**NOVEMBRO – 2018**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

P436a Pereira, Daiana da Costa.  
Avaliação do controle biológico de cupins urbanos por *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) (Sorokin) [manuscrito] / Daiana da Costa Pereira. - 2018.  
31 p.  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.  
"Orientação : Profa. Dra. Érica Caldas S. de Oliveira e Valéria Veras Ribeiro, Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."  
1. Bioinseticida. 2. Fungo entomopatógeno. 3. Térmita. 4. Controle biológico. 5. Cupim. I. Título  
21. ed. CDD 595.736

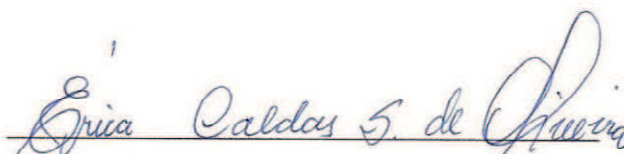
DAIANA DA COSTA PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO CONTROLE BIOLÓGICO DE CUPINS URBANOS  
POR *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF) (SOROKIN)**

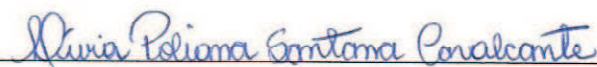
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 14/11/2018.

**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Érica Caldas S. de Oliveira (Orientadora)

Departamento de Biologia (UEPB)



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Livia Poliana Santana Cavalcante

Departamento de Biologia (UEPB)



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Shirley Rangel Germano

Departamento de Biologia (UEPB)



***A Deus, por me capacitar a chegar até aqui, e aos meus pais, por tudo que me puderam oferecer durante minha vida, sou e serei eternamente grata.***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus em primeiro lugar, por todas as oportunidades e bênçãos que me concedeu, por todas as portas que abriu e pessoas maravilhosas que colocou em minha vida nessa jornada árdua para me auxiliar e ajudar nessa conquista.

Aos meus pais, João e Antonieta, por me guiarem, me educarem e pelos esforços para eu ter uma educação de qualidade e poder chegar até aqui, por seus carinhos, conselhos, motivações. As minhas conquistas devo eternamente a vocês.

Ao meu namorado, Jason Kleiton, por toda sua paciência e companheirismo nos dias difíceis. Eu amo você!

Ao meu sobrinho, Augusto Henrique, por alegrar e iluminar meus dias.

As minhas avós, Rita e Zefa que me incentivarem a alcançar meus objetivos.

A minha orientadora Érica Caldas S. de Oliveira, pela sua orientação, paciência, conhecimentos compartilhados e dedicação, sempre paciente e em meio a tantas correrias do seu dia a dia sempre disponibilizava um tempo para me ajudar, contribuindo na realização desse trabalho.

A Valéria Veras Ribeiro que me orientou no meu ano de Iniciação Científica, por toda sabedoria e aprendizagens, que devido a algumas contingências não pôde assinar este trabalho como orientadora.

A Shirley Rangel Germano e Lívia Poliana Santana Cavalcante, que gentilmente aceitaram avaliar esse trabalho.

A Karla Patrícia de Oliveira Luna por ceder o espaço do seu laboratório para realização da pesquisa.

A Leonardo Firmino da Silva pela colaboração nessa pesquisa.

Aos colegas de turma e aos meus amigos, em especial minhas moceiras (Mayara, Aléxia e Manu), pelos bons momentos compartilhados juntos, que direta ou indiretamente também contribuíram na minha formação acadêmica.

Por fim, agradeço a todos os professores que passaram pela minha vida. Todos ensinaram algo, deixaram ensinamentos, alguns bons exemplos a serem seguidos e outros exemplos de profissionais que não devo ser.

***“Todos os seres derivam de outros seres mais antigos por transformações sucessivas”.  
(Anaximandro de Mileto).***

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Análise de variância na mortalidade de cupins no controle biológico por *Metharizium anisopliae*. Maio/2017..... 23

**Tabela 2** – Interação para mortalidade de cupins no controle biológico por *Metharizium anisopliae*. Maio/2017..... 23

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** – Valores de concentração dos inóculos de *M. anisopliae* para cada tratamento. Maio/2017..... 18
- Quadro 2** – Números da mortalidade em 24 horas de inoculação de *M. anisopliae* em *N. corniger* nos diferentes tratamentos. Maio/2017..... 20
- Quadro 3**- Números da mortalidade em 48 horas de inoculação de *M. anisopliae* em *N. corniger* nos diferentes tratamentos. Maio/2017.....20
- Quadro 4**- Números da mortalidade em 72 horas de inoculação de *M. anisopliae* em *N. corniger* nos diferentes tratamentos. Maio/2017.....22

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Vista panorâmica da área de coleta dos cupins da espécie *N. corniger*. Maio/2017..... 17
- Figura 2 -** Interação (tratamentos/horas) para mortalidade de cupins no controle biológico por *Metharizium anisopliae*. Maio/2017..... 24
- Figura 3 –** Extrusão do micélio de *Metharizium anisopliae* sobre soldado da espécie *N. corniger*. Maio/2017..... 25
- Figura 4 –** Total cobertura sobre soldado da espécie *N. corniger* pelo micélio de *Metharizium anisopliae*. Maio/2017..... 25

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1	Objetivo Geral.....	13
2.2	Objetivos Específicos.....	13
<b>3</b>	<b>REFERÊNCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
3.1	Controle biológico.....	14
3.2	Fungos Entomopatogênicos.....	14
3.3	Sociedade dos cupins.....	15
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
4.1	Obtenção das amostras e Local de Experimento.....	17
4.2	Manejos.....	17
4.2.1	Laboratorial.....	17
4.2.2	Cupins.....	18
4.2.3	Inóculo de <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	18
4.3	Dose infectiva.....	18
4.4	Procedimentos Laboratoriais .....	18
4.5	Acompanhamento e Análise dos dados.....	19
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>20</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>28</b>



# AValiação DO CONTROLE BIOLÓGICO DE CUPINS URBANOS POR *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF) (SOROKIN)

Daiana da Costa Pereira<sup>1</sup>

Érica Caldas S. de Oliveira<sup>2</sup>

Valéria Veras Ribeiro<sup>2</sup>

## RESUMO

O controle biológico constitui uma relevante ferramenta para a manutenção do balanço populacional de pragas. Tomando como base o uso de organismos no controle de pragas, esta pesquisa objetivou usar *Metarhizium anisopliae* no controle de cupins urbanos da espécie *Nasutitermes corniger*. Os cupins foram coletados em áreas urbanas do município de Campina Grande – PB, durante o mês de maio de 2017. No experimento inóculos liofilizados de *M. anisopliae*, apresentados na concentração de  $5 \times 10^{10}$  por grama, foram suspensos em água destilada utilizando agitador magnético até obtenção de soluções com esporos. Partindo da concentração de  $5 \times 10^{10}$  por grama de inóculo, foram realizados cinco tratamentos, tendo sua diluição mínima por mililitros indicada pelo fabricante: Tratamento 1 (Água destilada, sem adição de conídios), Tratamento 2 – 10g (concentração –  $50 \times 10^{10}$  conídios/mL) Tratamento 3 - 20g (concentração –  $100 \times 10^{10}$  conídios/mL); Tratamento 4 – 30g (concentração –  $150 \times 10^{10}$  conídios/mL) e Tratamento 5 – 40g (concentração –  $200 \times 10^{10}$  conídios/mL) de inóculos, com quatro repetições e leituras realizadas entre 24, 48, 72 e 96 horas. As soluções foram pulverizadas sobre soldados da espécie *N. corniger* acondicionados em placas de Petri, cada placa com 10 soldados. Os dados resultantes da mortalidade foram transformados pela raiz quadrada de  $(X+5)$  e analisados estatisticamente pela análise de variância e médias pelo teste de Tukey. Com os resultados obtidos, verificou-se que não houve significância estatística para as variáveis tratamentos e horas, sendo significativo pelo teste de Tukey a 1% a interação entre as mesmas. Nas primeiras 24 horas constatou-se uma maior mortalidade de cupins para o T2, seguido de um aumento da mortalidade após 48 horas (7,51), nas 72 horas de monitoramento registrou-se um aumento da mortalidade nos tratamentos T3 (6,93) e T4 (6,75). Considerando o desenvolvimento micelial, observou-se que o micélio vegetativo ocorreu às 72 horas nos T3, T4 e T5. O método de inoculação por contato direto dos insetos com a cultura fúngica foi eficiente, tendo ocasionado 100% de mortalidade nas doses testadas, o que comprovou a patogenicidade e a virulência de *M. anisopliae* para *N. corniger* em condições de laboratório.

**Palavras-chave:** Bioinseticida. Fungo entomopatogênico. Térmitas.

---

<sup>1</sup> Aluna de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I. E-mail: daiana.costa681@outlook.com

<sup>2</sup> Professoras do Departamento de Biologia da UEPB – Campus I

## 1 INTRODUÇÃO

O biocontrole prevê o uso racional de organismos vivos (fungos, bactérias, vírus, predadores e parasitoides) visando a redução das populações pragas, sem interferir na população de inimigos naturais, sendo empregado como alternativa para diminuir ou evitar a utilização de inseticidas químicos convencionais. Entre os microrganismos entomopatogênicos, destacam-se os fungos como agentes de controle biológico, por apresentarem vantagens como: capacidade de atacar os insetos em todos os estágios de desenvolvimento, capacidade de penetrar via tegumento e, normalmente estarem presentes como componentes naturais em muitos ecossistemas terrestres (JACKSON; ALVES; PEREIRA, 2000).

Fungos têm sido foco de pesquisas no controle biológico natural de cupins, estes patógenos são mais lentos no processo de colonização, causando assim mudanças comportamentais e fisiológicas, matando lentamente e, portanto, desenvolvendo alto potencial para a disseminação do inóculo através do contato social entre os membros da colônia. Todavia, temperatura e umidade constantes e a condição de escuro nas galerias subterrâneas dos cupins, favorecem também o crescimento e desenvolvimento do fungo (NEVES; ALVES, 2004; PIRES et al., 2010).

O controle dos cupins se tornou mais difícil com a proibição do uso de produtos clorados (Portaria no 329 de 02/09/85, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), devido ao alto poder residual e danos ao meio ambiente (BRASIL, 1985). Os efeitos deletérios decorrentes do uso indiscriminado e incorreto desses inseticidas químicos no controle aos cupins, levam pesquisadores a concentrarem seus esforços na busca de métodos alternativos, como controle biológico por fungos entomopatogênicos no sentido de preservar o meio ambiente (ALBUQUERQUE et al., 2005).

Existem cerca de 280 espécies de cupins ou térmitas no Brasil (CONSTANTINO, 2005), mas apenas uma pequena parcela resiste à urbanização. As características biológicas dos cupins, aliadas à expansão das cidades, têm proporcionado, cada vez mais, a transformação de um maior número de espécies de cupins, cerca de 18, em pragas urbanas (CONSTANTINO, 2002). O maior problema tem sido o ataque a móveis, obras de arte, bibliotecas e madeiramento de construção. O controle é geralmente difícil, nem sempre eficaz, sendo mais recomendável adotar medidas preventivas (COSTA-LEONARDO et al., 2007).

Entre os térmitas a subfamília Nasutitermes, destaca-se pela diversificação e ampla dispersão, dominando a fauna da América tropical, neles estão incluídos os nasutos, cupins cujos soldados apresentam a cabeça modificada para defesa química, um longo tubo frontal com um poro na ponta, através do qual ejetam uma substância tóxica ou repelente (CONSTANTINO, 1999).

Deste modo, o controle de cupins por fungos entomopatógenos tem sido objeto de pesquisas importantes com a finalidade de melhor preservar o meio ambiente. Os fungos entomopatogênicos: *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin tem apresentado resultados promissores em bioensaios visando o controle de cupins das espécies: *Cornitermes cumulans* (Kollar,1832) (Isoptera: Termitidae) (NEVES; ALVES, 2004) e *Nasutitermes coxipoensis* (ALBUQUERQUE et al., 2005; LOUREIRO; MOINO JR, 2006; CUNHA et al., 2009).

Face ao exposto e considerando uma abordagem na área de produção de bioinseticidas, está pesquisa buscou avaliar a atividade cupinicida da espécie *M. anisopliae* sobre cupins urbanos da espécie *Nasutitermes corniger*, em condições de laboratório.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade cupinicida do inóculo de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, no controle biológico de cupins urbanos da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky).

### 2.2 Objetivos Específicos

Estabelecer padrões de respostas dos cupins submetidos à inoculação pelos fungos em condições de laboratório;

Determinar o tempo de emissão do micélio após a inoculação;

Testar a ação patogênica do fungo *M. anisopliae* em populações de cupins urbanos.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Controle Biológico

O controle biológico consiste na utilização de inimigos naturais para controlar populações de pragas que acarretam prejuízos, evitando assim, a utilização de produtos químicos nocivos. Trata-se, portanto, de um método eficiente e sustentável que agride menos o meio ambiente.

VALICENTE (2009) destaca que com o aumento contínuo da população e, conseqüentemente, uma maior demanda por alimentos, houve nos anos de 1950 uma maior utilização de produtos químicos para realizar um controle fitossanitário eficiente. Porém, com a utilização desses produtos químicos muitos problemas ambientais começaram a surgir em larga escala, como intoxicação dos aplicadores, contaminação de rios e nascentes e dos produtos para consumo *in natura*, ocasionando ainda morte de inimigos naturais. Ao final dos anos 50 surge o conceito de Manejo Integrada de Pragas (MIP), que consiste em várias estratégias de controle e fatores de mortalidade naturais restaurando o equilíbrio natural desfeito pelo uso desses produtos nocivos.

#### 3.2 Fungos Entomopatogênicos

Os primeiros testes com fungos entomopatógenos foram realizados pelo zoologista e patologista russo Metschnikoff no final do século XIX, o qual utilizou *Metarhizium anisopliae* para o controle das larvas do besouro *Anisoplia austriaca*, tendo o fungo recebido o nome de *Entomophthora anisopliae*. Em 1883, Sorokin o transferiu para o gênero *Metarhizium*, permanecendo até os dias atuais *M. anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (FARIA; MAGALHÃES, 2001).

Entre os fungos entomopatogênicos mais empregados no controle de pragas estão *Beauveria bassiana* (Vuillemin, 1912), *M. anisopliae* e *Paecilomyces fumosoroseus* (Wise) (Holm ex SF Gray), (YOSHIDA, 2007).

Os fungos patógenos de insetos têm como hospedeiros primários os afídeos, moscas-brancas, gafanhotos, moscas, besouros, lagartas, tripes e ácaros. Possuem largo espectro de ação, capazes de colonizar diversas espécies de insetos e ácaros e de causar, com frequência, epizootias em condições naturais (ALVES et al., 2008). Esses patógenos também se diferem

de outros grupos por ter a capacidade de infectar todos os estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES *op cit.*).

Fungos entomopatógenos são responsáveis por 80% das doenças causadas em insetos e possuem a vantagem de ter uma grande variabilidade genética, o que evita possíveis problemas de resistência de pragas a este patógeno (ALVES, 1998).

*M. anisopliae* é um deuteromiceto amplamente distribuído na natureza e pode ser encontrado facilmente em solos, onde sobrevive por longos períodos (ALVES *op cit.*). Considerado patogênico para um grande número de espécies de artrópodes, foi o primeiro microrganismo a ser reconhecido pela sua importância para controle de pragas na agricultura (FRAZZON et al., 2000). A espécie está classificada Reino Fungi, Sub-reino Dykarya, Filo Ascomycota e família Moniliaceae (HIBBETT; ZHANG, 2007).

No Brasil, o interesse em pesquisas com fungos entomopatogênicos iniciou-se com a ocorrência epizootica de *M. anisopliae* sobre diversas espécies de cigarrinhas da cana de açúcar, na década de 60 e hoje a área tratada com esse fungo no Brasil é, aproximadamente, de um milhão de hectares (ALVES et al., 2008).

O ciclo biológico dos fungos entomopatogênicos, inclusive *M. anisopliae* apresenta duas fases: uma sapróbia e outra parasitária. Na fase sapróbia, o ciclo inicia-se com a germinação de conídios, os quais emitem um ou mais tubos germinativos, que se diferenciam em hifas, formam um intrincado sistema de entrelaçamento, constituindo-se em micélio onde surgem os conidióforos. Na extremidade destes, diferenciam-se as fiálides, que produzem no ápice, conídios (RIBEIRO, 1990; RIBEIRO et al., 1992).

Os conídios germinam e formam apressórios os quais penetram no hospedeiro por ação mecânica e enzimática. Na fase parasitária, os conídios no interior do inseto se diferenciam em estruturas leveduriformes, as quais secretam toxinas que invadem os tecidos do inseto. Após a morte dos insetos as hifas emergem formando conidióforos e conídios, que se dispersam e reiniciam o ciclo, fora do inseto (LUNA-ALVES LIMA, 1989; LUNA-ALVES LIMA; TIGANO, 1989; ALVES et al., 1998).

### 3.3 A Sociedade dos Cupins

Os cupins ou térmitas pertencem à classe Insecta a ordem Isoptera e são considerados insetos eussociais, são formadores de colônias, onde seus indivíduos são divididos em castas (OLIVEIRA et al., 1986). As colônias de cupins apresentam, basicamente, três castas de

indivíduos: Alados, soldados e operários, havendo uma completa divisão de tarefas entre esses indivíduos.

Nas sociedades dos cupins os indivíduos alados são responsáveis por gerar novos indivíduos para a colônia. Os soldados são responsáveis pela defesa da colônia que pode ser feita por meio de uma poderosa mandíbula ou através de substâncias que são expelidas por um poro situado na modificação da cabeça em um longo tubo frontal, presente em algumas espécies. Os operários são responsáveis pela busca de alimentos, cuidado parental com os jovens e a construção dos ninhos e galerias.

Os térmitas possuem alimentação bastante variada entre as espécies e nem todos possuem hábitos xilófagos. Muitas espécies se alimentam de matéria orgânica em decomposição, madeiras deterioradas por fungos e outras são forrageiras ou cultivam fungos (EDWARDS; MILL, 1986)

Segundo Oliveira et al. (1986) e Krishna (1970), considerando-se o aspecto evolutivo, os cupins podem ser divididos em dois grupos: cupins superiores e inferiores. Os cupins superiores são os pertencentes à família Termitidae, as demais famílias pertencem ao grupo dos cupins inferiores. Os autores acima citados descrevem como características de cupins inferiores/primitivos: pequeno número de indivíduos em colônias maduras, ninhos pouco elaborados, utilização da madeira como alimento principal, degradação da celulose através de protozoários simbiotes e encontrarem-se organizados em castas pouco definidas; e como características de cupins superiores: ocorrência de colônias muito populosas, ninhos bem elaborados, utilizar-se de outras fontes de alimento que não seja madeira, degradar a celulose através de bactérias e possuir castas bem definidas.

Em área urbana, de acordo com Fontes (1995) são considerados dois grupos de cupins: os que são benéficos e fazem parte da fauna autóctone nos grandes parques, reservas e jardins, sendo importantes para a manutenção da homeostase ambiental e os que ocasionam prejuízos econômicos pelos danos que causam ao madeiramento das construções, expandindo intensa e rapidamente suas colônias sobre terrenos baldios, casas e plantas usadas na ornamentação, dificultando grandemente o controle populacional.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção das Amostras e Local do Experimento

Foram utilizados cupinzeiros vivos da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky), obtidos no mês de maio de 2017 na zona urbana de Campina Grande-PB, cujas coordenadas geográficas são: Latitude, (07° 13' 50" S) e Longitude, (35° 52' 52" W), Altitude de 551 m e Área de 644,1 Km<sup>2</sup>, Mapa – (Figura 1).

O inóculo fúngico foi adquirido da empresa Agromilena – Nutrição Animal – Ituverava- SP, no mês de maio de 2017 e mantido sob refrigeração até o momento da preparação.

**Figura 1-** Vista panorâmica da área de coleta dos cupins da espécie *N. corniger*. Maio/2017.



O experimento foi realizado no Laboratório de Genética localizado no Complexo de Laboratório Três Marias do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba – Campus I, município de Campina Grande – PB.

### 4.2 Manejo

#### 4.2.1 Laboratorial

O laboratório foi higienizado com álcool a 96° e nas janelas foi aplicado papel pardo para diminuir a incidência de luz. Na preparação das bancadas de trabalho foi utilizado

inseticida tipo Malathion 500 CE diluído conforme o especificado na embalagem, para que nenhum outro inseto interferisse na integridade dos cupins e não houvesse contaminação.

#### 4.2.2 Cupins

Os cupinzeiros foram mantidos em uma cuba de vidro, coberto com parafilme de modo a evitar fuga dos cupins. Na cobertura do parafilme foram produzidos pequenos furos permitindo a circulação do ar.

#### 4.2.3 Inóculo de *Metarhizium anisopliae*

O inóculo foi mantido sob refrigeração em “freezer” a  $-12^{\circ}\text{C}$ , na forma de conídios puros liofilizados e acondicionados na embalagem original até momento da diluição e posterior preparação dos tratamentos.

#### 4.3 Dose Infectiva

No experimento os inóculos liofilizados de *M. anisopliae*, apresentados na concentração de  $5 \times 10^{10}$  por grama, foram suspensos em água destilada utilizando agitador magnético até obtenção de soluções com esporos. Partindo da concentração de  $5 \times 10^{10}$  por grama de inóculo, foram realizados cinco tratamentos, tendo sua diluição mínima por mililitros indicada pelo fabricante, como mostra o Quadro 1, com quatro repetições e leituras realizadas no período de 24, 48, 72 e 96 horas.

**Quadro 1** – Valores de concentração dos inóculos de *M. anisopliae* para cada tratamento, Maio/2017.

	T1	T2	T3	T4	T5
Repetições	Água destilada, sem adição de conídios	10 g (concentração- $50 \times 10^{10}$ conídios/ML)	20g (concentração- $100 \times 10^{10}$ conídios/ML)	30g (concentração- $150 \times 10^{10}$ conídios/ML)	40g (concentração- $200 \times 10^{10}$ conídios/ML)

As soluções foram pulverizadas sobre soldados da espécie *N. corniger* acondicionados em placas de Petri, cada placa com 10 indivíduos adultos, com o pulverizador distando aproximadamente, 10 cm do ponto de aplicação.

#### 4.4 Procedimentos Laboratoriais

As placas de Petri de vidro com medidas de 90 mm de diâmetro por 14,2 mm de altura, utilizadas no experimento foram autoclavadas, a uma temperatura de  $120^{\circ}\text{C}$  por 40 minutos, no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campus I,



mantidas esterilizadas até procedimento de pulverização. Para pulverização foi utilizado pulverizador tipo borrifador de 500 ml, previamente esterilizado com álcool a 70%.

Na manipulação do inóculo, foi usado espátula de metal, luva látex de procedimentos e máscara de proteção contra poeira facial. Os inóculos foram pesados em balança da marca OHAUS, com precisão de 2g do tipo “triple beam balance”. As observações foram realizadas através de microscópio estereoscópio da marca Olympus Corporation, modelo SZ2-LGB.

Foram utilizadas 20 placas de Petri, destas dezesseis receberam a dosagem infectiva e quatro destinadas às testemunhas, as placas foram forradas com papel de filtro circulares, redimensionados por corte de tesoura manual para o ideal ajuste. Com o auxílio de um pincel de ponta 0.5 mm, cada soldado foi coletado do fragmento do cupinzeiro e disposto nas placas preenchendo-as com 10 cupins cada. Posteriormente, realizou-se o borrifo dos inóculos de acordo com os tratamentos descritos acima, realizando quatro repetições por tratamento. Após as inoculações as placas foram tampadas e acondicionadas em temperatura ambiente de 26 °C com variação média de +/- 2 °C, adaptado de Ribeiro (2008).

Foram utilizados quarenta cupins testemunhas dispostos em quatro placas, perfazendo dez cupins por recipiente, pulverizadas com água destilada e acondicionada em temperatura ambiente de 26 °C (Tratamento 1). Todo o experimento foi monitorado durante as primeiras 24, 48, 72 e 96 horas, para avaliação do comportamento dos indivíduos inoculados. Após este período, as observações continuaram de modo a estabelecer o tempo de emissão do micélio fúngico.

#### **4.5 Acompanhamento e Análise dos Dados**

As observações foram realizadas 24 horas a partir da inoculação até às 96 horas, quando se observou ainda mobilidade dos cupins, após 96 horas avaliou-se o aparecimento e desenvolvimento micelial do fungo até a mortalidade total dos indivíduos infectados. Os dados resultantes da mortalidade foram transformados pela raiz quadrada de  $(X+5)$  segundo Alves e Faria (2010) e analisados estatisticamente pela análise de variância e médias pelo teste de Tukey através do Software ASSISTAT versão 7.7 2017.

Todas as médias dos dados foram analisado em um Delineamento Inteiramente Casualizado – DIC, com fatorial de 5 tratamentos x 3 horas x 4 repetições.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Encontram-se expressos nos Quadros 2 e 3 os valores de mortalidade apresentados por indivíduos da espécie *N. corniger* submetidos a exposição de inóculos de *M. anisopliae*. No Quadro 2 são apresentados os valores de mortalidade para os diferentes tratamentos nas primeiras 24 horas.

**Quadro 2-** Números da mortalidade em 24 horas de inoculação de *M. anisopliae* em *N. corniger* nos diferentes tratamentos. Maio/2017.

Repetição/Tratamento	Mortalidade – Primeiro Dia – 24 horas			
	10 g (T <sub>2</sub> )	20 g (T <sub>3</sub> )	30 g (T <sub>4</sub> )	40 g (T <sub>5</sub> )
1	10	6	8	4
2	10	7	5	4
3	10	9	4	3
4	9	4	8	10

Ao analisar-se a ação do inóculo nas primeiras 24 horas observou-se que o tratamento 2 (T<sub>2</sub>), apresentou acentuada mortalidade em todas as repetições produzidas. Nos demais tratamentos em que se encontravam maiores concentrações de inóculos, T<sub>4</sub> com aproximadamente  $150 \times 10^{10}$  conídios/ml e T<sub>5</sub> com aproximadamente  $200 \times 10^{10}$  conídios/ml os valores de mortalidade são medianos para as primeiras 24 horas.

No segundo dia de monitoramento do experimento observou-se indivíduos mais letárgicos em todos os tratamentos, os números de mortos crescem em todas as concentrações testadas, novamente constatou-se que no T<sub>2</sub> se atinge a totalidade de mortes quase em todas as repetições, Quadro 3.

**Quadro 3-** Números da mortalidade em 48 horas de inoculação de *M. anisopliae* em *N. corniger* nos diferentes tratamentos. Maio/2017.

Repetição/Tratamento	Mortalidade – Segundo Dia – 48 horas			
	10 g (T <sub>2</sub> )	20 g (T <sub>3</sub> )	30 g (T <sub>4</sub> )	40 g (T <sub>5</sub> )
1	0	4	2	6
2	0	3	5	6
3	0	1	6	6
4	1	6	2	0

Estudos que avaliaram o método de inoculação por contato direto dos insetos, realizado por Albuquerque et al. (2005), demonstraram uma alta eficiência deste método de inoculação ocasionando 100% de mortalidade nas doses testadas num período de 5 dias, comprovando a patogenicidade e virulência de *M. anisopliae* var. *anisopliae* para *N. coxiopensis*.

Pesquisas para avaliar o efeito dose-resposta da atividade patogênica de *B. bassiana* sobre a espécie *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae), realizadas por Yoshida (2007) revelaram que o tempo médio de vida das larvas e adultos tratados na concentração de  $10^6$  conídios/ml foi significativamente reduzido, contudo, a atividade patogênica sobre o estágio pupal e a ação direta sobre adultos pulverizados com solução de *B. bassiana* só se revelou mais efetiva na concentração de  $10^8$  conídios/ml, evidenciando que uma solução mais concentrada de conídios para espécie *B. bassiana* mostrou-se mais efetiva, dados que diferem dos resultados aqui apresentados, em que a ação patogênica de *M. anisopliae*, sobre adultos de *N. corniger*, foi mais efetiva no tratamento com menor concentração de inóculos ( $50 \times 10^{10}$  conídios/mL).

Possivelmente uma menor concentração de inóculos para *M. anisopliae* se mostra mais eficiente no processo de colonização dos indivíduos infectados (ALBUQUERQUE et al, 2005, OLIVEIRA, 2011).

O efeito dose-resposta na pesquisa de Yoshida (2007), difere também dos resultados aqui encontrados, uma vez que, o aumento de concentração não aumentou a patogenicidade do inóculo, considerando as primeiras 24 horas.

Analisando o potencial entomopatogênico de *M. anisopliae*, Da Silva et al. (2018), realizaram pesquisas para avaliar o efeito da inoculação de *M. anisopliae* sobre a atividade proteolítica do fungo em intestino de *Rhipicephalus microplus* (carrapato), na perspectiva de realizar um controle da infestação pelo parasita. Os resultados revelaram um aumento da atividade proteolítica associada ao fungo, possibilitando assim, que o fungo seja usado no controle biológico do carrapato.

É possível que o aumento da atividade proteolítica associada ao patógeno se configure como um mecanismo molecular de resposta de ação patogênica de *M. anisopliae* sobre insetos.

Após 72 horas de monitoramento praticamente todos os indivíduos estão mortos, Quadro 4, nota-se que para o Tratamento 5 (40 g –  $100 \times 10^{10}$  conídios/ml) ainda se observa um único espécime vivo, contudo, em um avançado estado de letargia.

**Quadro 4-** Números da mortalidade em 72 horas de inoculação de *M. anisopliae* em *N. corniger* nos diferentes tratamentos. Maio/2017.

Repetição/Tratamento	Mortalidade – Terceiro Dia – 72 horas			
	10 g (T <sub>2</sub> )	20 g (T <sub>3</sub> )	30 g (T <sub>4</sub> )	40 g (T <sub>5</sub> )
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	1
4	0	0	0	0

Nas Tabelas 1 e 2 encontram-se expressos os valores médios apresentados para o tratamento estatístico do estudo. Todas as médias dos dados foram analisados em um delineamento inteiramente casualizado (ANOVA) e as comparações múltiplas foram aferidas pelo Teste de Tukey.

Na Tabela 1, observa-se que na Análise de Variância não houve diferença estatística para tratamentos e horas, havendo significância de 1% na interação entre ambos.

**Tabela 1-** Análise de variância na mortalidade de cupins no controle biológico por *Metharizium anisopliae*. Maio/2017

FV	GL	SQ	QM	F
<b>Tratamentos</b>	4	3,70	0,92	0,97 <sup>NS</sup>
<b>Horas</b>	2	0,50	0,25	0,26 <sup>NS</sup>
<b>T x H</b>	8	31,19	3,90	4,07**
<b>Total</b>	59	78,47		

<sup>NS</sup> Não significativo, \*\* Significativo a 1% pelo teste de Turkey

**Tabela 2** – Interação para mortalidade de cupins no controle biológico por *Metharizium anisopliae*. Maio/2017.

Trat/Conc.**	Horas**		
	24	48	72
<b>T1 (ADE, sem conídios)</b>	7,61Aa		6,50abA
6,31Aa			
<b>T2 10g (50x10<sup>10</sup> conídios/ml)</b>	5,43Bb		7,51Aa
6,55Aab			
<b>T3 20g (100x10<sup>10</sup> conídios/ml)</b>	5,96abA		6,54abA
6,93Aa			
<b>T4 30g (150x10<sup>10</sup> conídios/ml)</b>	6,47abAB		5,00Bb
6,75Aa			
<b>T5 40g (200x10<sup>10</sup> conídios/ml)</b>	7,18abA	6,57abAB	5,00aB
<b>CV%</b>	15,23		
<b>DMSL</b>	1,67		
<b>DMSC</b>	1,96		
<b>Resíduo</b>	45	43,08	31,91

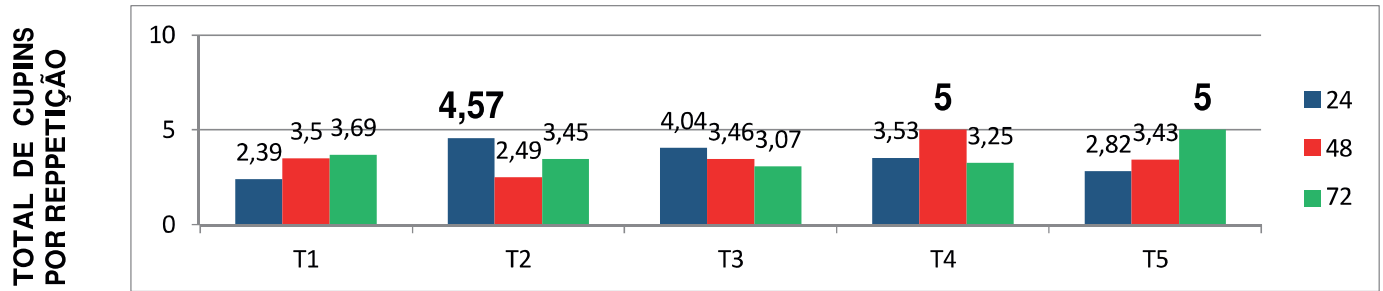
As medidas seguidas pela mesma letra na linha e coluna não diferem estatisticamente entre si.

\*\*significativo a 1% pelo teste de Turkey.

Os resultados apresentados na Tabela 2 expressam a interação tratamentos e horas. Obteve-se uma mortalidade alta para o tratamento 1 (T1) (7,61) nas 24 horas iniciais, não diferindo estatisticamente dos tratamentos T2 (7,51) às 48 horas e T1 (6,31), T3 (6,93) e T4 (6,75) às 72 horas. A maior mortalidade observou-se nos T2 (5,43) às 24 horas, T4 (5,00) às 48 horas, T5 (5,00) às 96 horas, embora não defiram entre si estatisticamente.

Os dados da Figura 2 evidenciam as médias dos tratamentos relacionados as horas de monitoramento do experimento.

**Figura 2** - Interação (tratamentos/horas) para mortalidade de cupins no controle biológico por *Metharizium anisopliae*. Maio/2017.



Na avaliação da infectividade *in vitro* do fungo *Metarhizium anisopliae*, sobre a espécie *Nasutitermes corniger*, Oliveira (2011) obteve 100% de mortalidade dos cupins na concentração  $10^8$  conídios/mL em cinco dias, resultados que se assemelham a pesquisa ora apresentada.

Um outro estudo que procurou determinar a atividade patogênica de *M. anisopliae* sobre a espécie de *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae), desenvolvido por Tamai et al., (2002), revelou que todos os isolados da espécie *M. anisopliae* foram patogênicos a *T. urticae*, com valores de mortalidade aumentada progressivamente com o tempo após a inoculação. No entanto, não houve mortalidade de ácaros na avaliação realizada 24 horas após a inoculação. Ao segundo dia, a mortalidade média corrigida foi inferior a 5% nos tratamentos. Os valores tornaram-se maiores a partir do terceiro dia, sendo o ápice de mortalidade observado ao quarto e quinto dia após a inoculação.

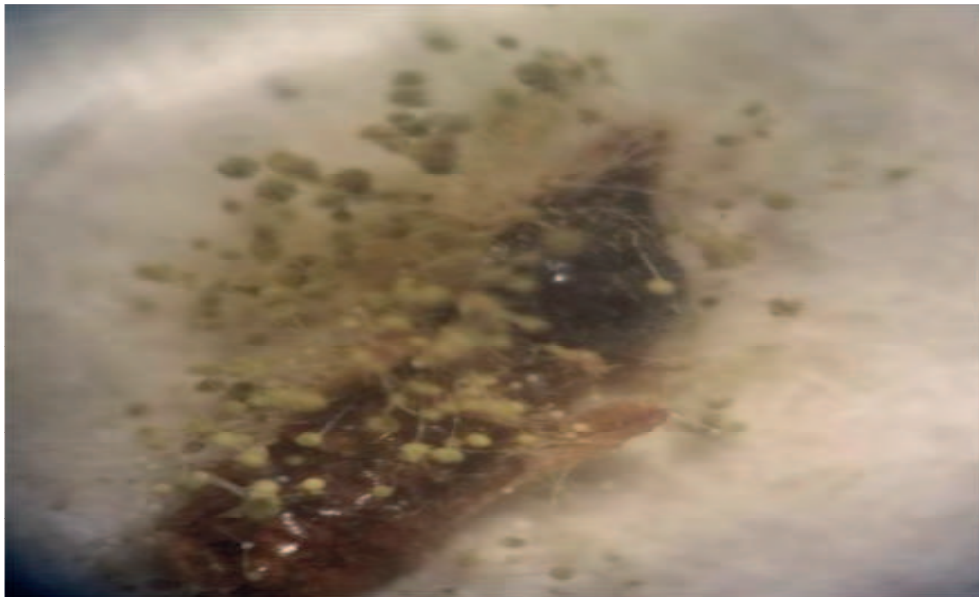
Nas Figuras 3 e 4 observa-se a extrusão e desenvolvimento do micélio do fungo *Metharizium anisopliae*.

**Figura 3** – Extrusão do micélio de *Metharizium anisopliae* sobre soldado da espécie *N. corniger*. Maio/2017.



Fonte: SILVA, L. F. (2017)

**Figura 4** – Total cobertura sobre soldado da espécie *N. corniger* pelo micélio de *Metharizium anisopliae*. Maio/2017.



Fonte: SILVA, L. F. (2017).

*M. anisopliae* é um fungo amplamente distribuído na natureza e pode ser encontrado facilmente nos solos, onde sobrevive por longos períodos (ALVES et al., 1998). Considerado patogênico para um grande número de espécies de artrópodes, foi o primeiro microrganismo a ser reconhecido pela sua importância para controle de pragas na agricultura (FRAZZON et al., 2000), com amplas aplicações em razão de seu rápido período de inoculação e desenvolvimento micelial.

Considerando o desenvolvimento micelial, observou-se que o micélio vegetativo tem o crescimento acentuado após 72 horas nos T3, T4 e T5. Para o micélio reprodutivo foi constatado que o tratamento 2, com concentração de  $50 \times 10^{10}$  conídios/mL inicia a emissão de conidióforos às 72 horas, nos demais tratamentos às 96 horas, após inoculação dos esporos.

Trabalho realizado por Albuquerque et al., (2005) que analisou a formação micelial de *M. anisopliae* sobre *N. coxipoensis*, mostrou que entre 48 e 72 horas o micélio vegetativo já havia colonizado os cupins com ampla cobertura micelial. Estes resultados corroboram com aqueles obtidos na pesquisa aqui desenvolvida. Revelando potencialidade para a espécie ser utilizada como um possível controle biológico de cupins urbanos.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o método de inoculação por contato direto dos insetos com a cultura fúngica foi eficiente, tendo ocasionado 100% de mortalidade nas doses testadas, o que comprovou a patogenicidade e a virulência de *M. anisopliae* para *N. corniger* em condições de laboratório. A produção de conídios de *M. anisopliae* sobre os cupins mortos confirmou o potencial desse fungo como biocontrolador, garantindo a manutenção do inóculo no ambiente por maior período de tempo.

O tratamento 2 apresentou uma mortalidade alta nas primeiras 24 horas e a emissão do micélio reprodutivo após 72 horas da inoculação.

Os tratamentos 3, 4 e 5 emitiram o micélio vegetativo após 72 horas de inoculação.



## AValiação DO CONTROLE BIOLÓGICO DE CUPINS URBANOS POR *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF) (SOROKIN)

Daiana da Costa Pereira<sup>1</sup>

Érica Caldas S. de Oliveira<sup>2</sup>

Valéria Veras Ribeiro<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Biological control is an important tool for maintaining the population balance of pests. Based on the use of organisms in pest control, this research aimed to use *Metarhizium anisopliae* in the control of urban termites of the species *Nasutitermes corniger*. The termites were collected in urban areas of the municipality of Campina Grande - PB, during the month of May, 2017. In the experiment, lyophilized inoculums of *M. anisopliae*, presented in the concentration of  $5 \times 10^{10}$  per gram, were suspended in distilled water using magnetic stirrer until obtaining of solutions with spores: Treatment 1 (Distilled water, without conidia); Treatment 2 – 10g (concentration -  $50 \times 10^{10}$  conidia/mL); Treatment 3 – 20g (concentration -  $100 \times 10^{10}$  conidia/mL); Treatment 4 – 30g (concentration -  $150 \times 10^{10}$  conidia/mL) and Treatment 5 – 40g (concentration -  $200 \times 10^{10}$  conidia/mL) of inocula, with four replicates and readings performed between 24, 48, 72 and 96 hours. The solutions were sprayed onto soldiers of the *N. corniger* species packed in Petri dishes, each plate with 10 soldiers. Data resulting from mortality were transformed by the square root of  $(X + 5)$  and analyzed statistically by analysis of variance and means by the Tukey test. With the obtained results, it was verified that there was no statistical significance for the variables treatments and hours, being significant by the test of Tukey to 1% the interaction between them. In the first 24 hours, there was a higher mortality of termites for T2, followed by an increase in mortality after 48 hours (7.51); in the 72 hours of monitoring, mortality in T3 treatments increased (6.93) and T4 (6.75). Considering the mycelial development, it was observed that the vegetative mycelium occurred at 72 hours in T3, T4 and T5. The method of inoculation by direct contact of the insects with the fungal culture was efficient, causing 100% mortality at the doses tested, which confirmed the pathogenicity and virulence of *M. anisopliae* to *N. corniger* under laboratory conditions.

**Keywords:** Bioinseticide. Entomopathogenic fungi. Termites.

---

<sup>1</sup> Aluna de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual da Paraíba – Campus I. E-mail: daiana.costa681@outlook.com

<sup>2</sup> Professoras do Departamento de Biologia da UEPB – Campus I

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. C.; PEREIRA, K. C. A.; CUNHA, R. M.; VEIGA, A. F. S. L.; ATHAYDE, A. C. R.; LIMA, E. A. L. A. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridium* sobre *Nasutitermes coxipoensis*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 585-591, 2005.

ALVES, R. T. et al. Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations. **Crop protection**, Budapest, v. 17, p. 675-79, 1998.

ALVES, R. T.; FARIA, M. **Pequeno manual sobre fungos entomopatogênicos**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2010. 47p.

ALVES, S. B.; BERTI-FILHO, E. **Controle dos cupins nas construções urbanas e rurais**. Boletim Técnico ESALQ/CENA. Piracicaba: PCL/USP, p. 12, 1995.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Manole, 1998, 386p.

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. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 69-110.

ASSISTAT. Assistência Estatística, versão 7.7 pt. Universidade Federal de Campina Grande - PB, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proíbe em todo o território nacional, a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, destinados à agropecuária dentre outros**. Portaria no 329 de 2/9/1985.

CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo, v. 40, n. 25, p. 387 - 448, 1999.

CONSTANTINO, R. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. **Journal of Applied Entomology**, v. 126, n. 7-8, p. 355-365, 2002.

CONSTANTINO, R. Padrões de diversidade e endemismo de térmitas no bioma cerrado. In: SCARIOT, A. O.; SILVA, J. C. S.; FELFILI, J. M. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2005. p.319-333.

COSTA-LEONARDO, A. M.; CASARIN, F. E.; CAMARGO-DIETRICH, C. R. R. Identificação e práticas de manejo de cupins em áreas urbanas. In: PINTO, A. S.; ROSSI, M. M.; SALMERON, E. **Manejo de pragas urbanas**. Piracicaba, 2007. Cap. 2. p. 41-54.

CUNHA, F. M.; TEIXEIRA, V. W.; TEIXEIRA, A. A. C.; ALBUQUERQUE, A. C.; ALVES, L. C.; LIMA, E. C. L. A. Caracterização dos hemócitos de operários de *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae) e avaliação hemocitária após parasitismo por *Metarhizium anisopliae*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 2, p. 293-297, 2009.

DA SILVA, S. J.; CARDOSO, C. M.; SANTOS, M. R.; PERINOTTO, W.; BITTENCOURT, V. Efeito da infecção de *M. anisopliae* sobre a atividade proteolítica presente em intestino de *Rhipicephalus microplus*. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 1, p. 77-85, 2018.

EDWARDS, R.; MILL, A. E. **Termites in buildings: Their biology and control**. Felcourt: Rentokil Ltda., 1986. 231p.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 22, p. 18-21, 2001.

FONTES, L. R. Cupins em áreas urbanas. In: BERTI FILHO, E.; FONTES, L. R. **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. Piracicaba: FEALQ, p. 57-76, 1995.

FONTES, L. R. **Cupins e cidades: implicações ecológicas e controle**. Dedalus. Acervo. Piracicaba: ESALQ /USP. 2002. p. 65-95.

FRAZZON, A. P. G.; VAZ, I. S.; MASUDA, A.; VAINSTEIN, M. H. In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 94, p. 117-125, 2000.

HIBBETT, D. S.; ZHANG, N. A higher level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n. 5, p. 504-547, 2007.

JACKSON, T. A.; ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Success in biological control of soil dwelling insects by pathogens and nematodes. In: GURR, G.; WRATTEN S. **Biological control: measures of success**. London: Academic Press, p. 271-296, 2000.

KRISHNA, K. Taxonomy, phylogeny, and distribuion of termites. In: KRISHNA, K.; WEESNER, M. (Ed.). **Biology of termites**. New York: Academic Press, v. 2, cap. 3, p.127-152, 1970.

LOUREIRO, E. S.; MOINO J. R. A. Pathogenicity of Hyphomycet Fungi to *Aphids aphid gossypii* Glover and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 660-665, 2006.

LUNA-ALVES LIMA, E. A. Aspectos taxonômicos e citológicos de Hyphomycetes (Deuteromycotina) entomopatogênicos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p. 17-20. 1989.

LUNA-ALVES LIMA, E. A.; TIGANO, M. S. Citologia de estruturas leveduriformes de *Beauveria bassiana* em meios de cultura líquidos e na hemolinfa de *Spodoptera frugiperda*. **Revista de Microbiologia**, v. 20, p. 85-94, 1989.

NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. External events related to the infection of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera: Termitidae) by the entomopathogenic fung *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 51-56, 2004.

OLIVEIRA, A. M. F.; LELIS, A. T.; LEPAGE, E. S.; CARBALLERA LOPEZ, G. A.; SAMPAIO OLIVEIRA, L. C.; CAÑEDO, M. D.; MILANO, S. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo, v. 1, p. 99-278. 1986.

PIRES, L. M.; MARQUES, E. J.; OLIVEIRA, J. V.; ALVES, S. B. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua compatibilidade com alguns inseticidas usados na cultura do tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 6, p. 977-984, 2010.

RIBEIRO, S. M. A. **Caracterização citológica e sobrevivência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, em folhas de cana-de-açúcar**. 1990. 95f. Dissertação (Mestrado em Criptógamos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1990.

RIBEIRO, S. M. A.; LUNA-ALVES LIMA, E. A.; ASSUNCAO, W. T. G.; LIMA, D. M. M. Behavior and characteristics of a wild strain of *Metarhizium anisopliae*. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 23, p. 97-100, 1992.

TAMAI, M. A. et al. Avaliação de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tetranychus urticae* Kock (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do instituto biológico**, v. 69, p. 77-84, 2002.

VALICENTE, F. H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p.48-55, 2009.

YOSHIDA L. **Atividade patogênica dos fungos *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Paecilomyces fumosoroseus* para *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1930 – Diptera: Calliphoridae).** 2007. 84 f. Dissertação. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.