



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL
SOBRE CUPINS URBANOS

RONALDO PEDRO DA SILVA

Campina Grande
2012

RONALDO PEDRO DA SILVA

**PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL
SOBRE CUPINS URBANOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado a Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Estadual da Paraíba como requisito parcial
para a obtenção do título de Licenciado
em Ciências Biológicas.

ORIENTADORA

Profa. Dra. Érica Caldas Silva de Oliveira

Campina Grande - PB

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

S586p Silva, Ronaldo Pedro da.
Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL sobre cupins urbanos. [manuscrito] / Ronaldo Pedro da Silva. – 2012.
32 f. : il.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.
“Orientação: Prof. Dra. Érica azCaldas Silva de Oliveira, Departamento de Biologia.”

1. Controle biológico. 2. *Beauveria bassiana*. 3. Fungo entomopatogênico. 4. Praga urbana I. Título.

CDD 21. ed. 595.736

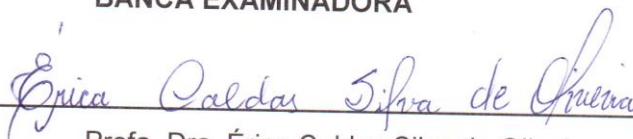
RONALDO PEDRO DA SILVA

**PATOGENICIDADE DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL
SOBRE CUPINS URBANOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado a Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Estadual da Paraíba como requisito parcial
para a obtenção do título de Licenciado em
Ciências Biológicas.

APROVADA EM 19/12/2012

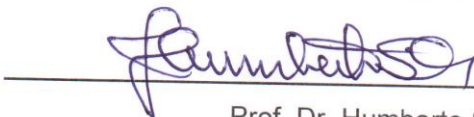
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Érica Caldas Silva de Oliveira
Orientadora (UEPB/CCBS/DB)



Profa. Dra. Valéria Veras Ribeiro
Examinador (a) (UEPB/CCBS/DE)



Prof. Dr. Humberto Silva
Examinador (UEPB/CCBS/DE)

Campina Grande-PB, 19 de Dezembro de 2012.

DEDICO

A meus filhos: Carlos Moreno,
Pedro Afonso e ao Daniel
Pedro, que são o meu maior
incentivo no estudo e na vida.

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, fica expresso aqui a minha gratidão, especialmente:

A Terezinha Duarte, que é a minha maior incentivadora e parceira nessa caminhada.

Ao Adriano, estatístico da Embrapa Caprinos, pela ajuda na elaboração do quadro nesse trabalho apresentado e análise dos dados obtidos.

A ITAFORTE Bio Produtos, pela doação do fungo utilizado nesse trabalho de estudo.

A Dra. Érica Caldas, professora do curso de Ciências Biológicas da UEPB, por me fazer gostar de micologia, pela orientação, estímulo e amizade.

A Dra. Valéria Veras Ribeiro, professora do curso de Ciências Biológicas, pela valiosa colaboração durante o desenvolvimento do trabalho e em ter cedido placas de Petri para os experimentos em laboratório.

Aos professores do curso de graduação de Licenciatura em Ciências Biológicas, pelo apoio durante o curso.

A todos os laboratoristas dos laboratórios de Zoologia e Microbiologia que colaboraram para o êxito do presente trabalho.

Ao Sr. Paulo Sérgio, proprietário da residência de onde foi coletado o ninho de térmitas utilizados nesse trabalho.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

O estudo avaliou a patogenicidade do fungo *Beauveria bassiana* sobre cupins urbanos, pois esses insetos causam prejuízos econômicos, danificando construções e objetos domésticos. O controle biológico não é poluente, não provoca desequilíbrios biológicos, é duradouro aproveitando o potencial biótico do ecossistema. O uso de fungos entomopatogênicos é uma boa alternativa devido aos custos e a preservação do meio ambiente, pois esses patógenos não causam perigos à saúde de mamíferos, ao contrário do controle químico que muitas vezes prejudica a saúde humana e ocasiona efeitos maléficos em inimigos naturais desse tipo de praga urbana. O ninho dos térmitas foi coletado em residência localizada no centro da cidade de Campina Grande, foram utilizados 40 indivíduos entre soldados e operários, arranjados em 4 placas de Petri com papel filtro contaminados com o inóculo de *B. bassiana*, tendo 10 térmitas em cada placa. No experimento de laboratório foi confirmada a dosagem cupinicida de inóculo de *B. bassiana* por contato direto, recomendada pela Itaforte (fornecedora do fungo *B. bassiana*), o tempo médio floração do micélio foi de 4 dias, onde todos os insetos contaminados morreram depois do 5º dia da contaminação. A avaliação se deu após 24 horas da contaminação dos termitas pelo inóculo de *B. bassiana* com observações diárias por cinco dias consecutivos. A utilização do *B. bassiana* mostrou-se que é uma excelente alternativa no controle biológico de cupins urbanos, após 5 dias de inoculação em condições de laboratório todos os indivíduos contaminados com o fungo estavam mortos e com germinação de micélio. O presente estudo vem confirmar que o método de inoculação por contato direto de fungo *B. bassiana* foi eficiente no potencial de patogenicidade sobre cupins.

Palavras chave: Controle biológico. *Beauveria bassiana*. Fungo entomopatogênico. Praga urbana.

ABSTRACT

The study evaluated the pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* on urban termites, as these insects cause economic losses, damaging buildings and household objects. Biological control is not a pollutant does not cause biological imbalances, is enduring enjoy the biotic potential of ecosystems. The use of entomopathogenic fungi is a good alternative because of the preservation of the environment and cost, as these pathogens do not cause health hazards of mammals, unlike chemical controls that often impairs human health effects and causes harmful about such natural enemies of urban blight. The nest of termites collected in residence situated in the center of the city of Campina Grande, 40 individuals were used between soldiers and workers, arranged in four Petri dishes with filter paper contaminated with *B. bassiana* inoculum, with 10 termites in dishes. No in each laboratory experiment confirmed the dose inoculum of *B. bassiana* is termiticide by direct contact, recommended Itaforte (supplier of *B. bassiana*), the average time of flowering mycelium was 4 days, where all contaminated insects died after the 5th day of the contamination. Evaluation was performed after 24 hours of contamination by termites inoculum of *B. bassiana* with daily observations for five consecutive days. The use of *B. bassiana* showed that it is an excellent alternative for the biological control of urban termites, after 5 days of inoculation under laboratory conditions to all people infected with the fungus were killed and germination of mycelium. This study confirms that the method of inoculation by direct contact of fungus *B. bassiana* was effective against pathogenic potential of termites.

Key words: Biological control. *Beauveria bassiana*. Entomopathogenic fungus. Urban blight.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	10
2- OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1 Centros Urbanos	13
3.2 Pragas Urbanas.....	14
3.2.1 <i>Cupins</i>	14
3.2.1.1 <i>Cupins Nasutitermes</i>	15
3.3 Controle Biológico.....	16
4- MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Local do experimento	21
4.2 Cupinzeiros utilizados	21
4.3 Inóculo de <i>Beauveria bassiana</i>	21
4.4 Equipamentos e utensílios	22
4.5 Dose infectiva.....	22
4.6 Acompanhamento e Avaliação	23
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6- CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1- INTRODUÇÃO

Pragas urbanas são resultantes do desenvolvimento desordenado de espécies de insetos ou outros animais que infestam campos e cidades provocando danos econômicos ou à saúde e podem: picar, morder, danificar alimentos e objetos e ainda transmitir doenças. Segundo Zorzenon (2002), muitos insetos e vários animais como, ratos, morcegos, pombos, aracnídeos entre outros, vivem em ambientes comuns com o homem, associados às cidades invadindo e colonizando locais habitados, danificando construções, transmitindo doenças a animais domésticos e aos próprios seres humanos.

Estes animais sinantrópicos podem muitas vezes ser considerados pragas urbanas, devido a sua alta adaptabilidade, capacidade reprodutiva e a quantidade de abrigos e alimentos encontrados em áreas urbanizadas, causando grande incômodo e desconforto em todos os níveis sociais e econômicos. O trinômio: água, abrigo, alimento gerado pelo desequilíbrio ambiental inerente à própria cultura humana, possibilita que diversas pragas usufruam da hospitalidade inconsciente das cidades, dificultando o dia-a-dia de seus habitantes além de causar prejuízos à saúde e a economia da população.

As espécies de cupins que são definidas como pragas urbanas podem ser classificadas em três tipos a partir do hábito de nidificação. São eles: cupins de madeira seca, cupins subterrâneos e cupins arborícolas. Essa classificação (ZORZENON, 2002) é muito útil no entendimento dos hábitos dos cupins, bem como no controle dos mesmos.

O manejo de pragas urbanas tem sido realizado principalmente através de agentes químicos, porém esses agentes muitas vezes prejudicam a saúde humana e ocasionam efeitos maléficos em inimigos naturais dessas pragas e ao ambiente no geral. Uma alternativa que se apresenta ao uso intensivo dos sintéticos químicos é o controle biológico (DALZOTO; UHRY, 2009).

Insetos podem provocar perdas econômicas consideráveis, acarretando prejuízos, sendo que, tradicionalmente, o controle de pragas é realizado com agrotóxicos. No entanto, devido aos custos e danos

ambientais, medidas alternativas vêm sendo desenvolvidas, destacando-se o controle biológico de insetos a partir de formulações contendo entomopatógenos (bioinseticidas). O controle biológico não é poluente, não provoca desequilíbrios biológicos, é duradouro e aproveita o potencial biótico do ecossistema, não é tóxico para o homem e animais e pode ser aplicado com as máquinas convencionais, com pequenas adaptações ou simples equipamentos de pulverização (ZAPPELINE, 2009).

A proposta ora apresentada se deve a constatação de domínio público de que os cupins urbanos causam graves prejuízos econômicos à população das cidades. Nesse contexto, o estudo busca contribuir para o conhecimento das questões e possibilidades em torno do problema, sendo esta a razão desse trabalho.

2- OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a atividade cupinicida de inóculo de *Beauveira bassiana* (BALS.) VUILL, com vistas ao controle biológico de cupins em ambientes urbanos.

2.2 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 eficiência de patogenicidade do fungo *B. bassiana* em populações de cupins urbanos.

3- FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Centros Urbanos

Berti Filho; Fontes (1995) incluem os cupins urbanos no grupo chamado de insetos sociais, pois estes estão entre as diversas espécies existentes consideradas pragas de fator prejudicial ao homem.

Segundo o IBGE, a população brasileira vivendo em área urbana em 2010 era de 84,36%, isso indica que os cuidados com a modificação do ambiente devido à sofisticação tecnológica levou o homem a criar os chamados centros urbanos. Nestes mesmos locais, a modificação ambiental determina um novo tipo de relação do homem com o ambiente.

Kormondy; Brown (2002) enfatizam algumas considerações sobre a relação entre o ambiente e o núcleo cultural humano, e afirmam que essa relação bilateral permitiu o conhecimento da modificação do ambiente externo pela cultura humana. Conforme a complexidade da tecnologia aumenta, os humanos podem modificar ainda mais o ambiente e, assim, possuir maior amplitude de padrões de comportamento. Diante da ocupação e modificação de certos ambientes, em especial em centros urbanos, o homem se vê na necessidade de ocupação exclusiva. Qualquer outro fator de ocupação simultânea é considerado como intruso ou praga para a sociedade.

Os cupins urbanos são responsáveis por sérios transtornos em grandes cidades brasileiras, causando prejuízos extensos à mobília, madeiramento estrutural e bibliotecas. Mesmo assim, Fontes; Berti Filho (1996) estimam que na atualidade não exista doenças ou alergias prejudiciais ao homem, que sejam causados pelo cupim. Dessa forma, os danos causados pelos cupins são de ordem econômica, mas que atormentam o bem estar da sociedade, em especial aquelas localizadas em centros urbanos.

Há grande evidência de cupins no meio urbano do nordeste brasileiro. Sendo assim, atualmente os cupins são considerados como praga, fato justificável frente aos prejuízos que os mesmos podem causar para a sociedade.

Em face disso, estudos que indiquem a relação da sociedade humana com o controle destes tipos de pragas podem fornecer respostas para avanços tecnológicos de produção de elementos eficazes para o controle do cupim em centros urbanos.

3.2 Pragas Urbanas

Segundo Zorzenon (2002), muitos insetos e vários animais como, ratos, morcegos, pombos, aracnídeos entre outros, coabitam com o homem, associados às cidades invadindo e colonizando locais habitados, danificando construções, transmitindo doenças a animais e aos próprios humanos. Estes animais sinantrópicos podem muitas vezes ser considerados pragas urbanas. A origem das pragas é mais antiga do que a civilização humana, mas a presença danosa decorreu do desequilíbrio ecológico provocado pelo próprio homem. O trinômio: água, abrigo, alimento gerado pelo desequilíbrio ambiental, possibilita que diversas pragas usufruam da hospitalidade das cidades trazendo prejuízos a seus habitantes.

3.2.1 Cupins

Os cupins ou térmitas pertencem à classe Insecta a ordem Isoptera e são considerados insetos sociais, são formadores de colônias, onde seus indivíduos são divididos em castas (GRASSÉ, 1982; OLIVEIRA et al., 1986). A ordem Isoptera tem mais de 2000 espécies descritas, e sua maior área de dispersão se localiza entre os paralelos 52°N e 54°S (FONTES, 1995b).

De acordo com Eleotério (2000), os cupins são classificados em superiores e inferiores. A família Termitidae pertence aos superiores, as demais famílias pertencem ao grupo dos cupins inferiores. Os cupins inferiores são descritos com características de cupins primitivos: pequeno número de indivíduos em colônias maduras, ninhos pouco elaborados utilizam

a madeira como alimento principal, degradam a celulose através de protozoários simbiotes e possuem castas pouco definidas. Os cupins superiores se caracterizam pela: ocorrência de colônias muito populosas e ninhos bem elaborados, além de utilizarem outras fontes de alimento que não seja madeira, degradarem a celulose através de bactérias e possuem castas bem definidas.

Os térmitas tem uma alimentação variada entre as espécies e nem todos são xilófagos. Algumas espécies tem a matéria orgânica em decomposição como alimento, madeiras deterioradas por fungos e outras são forrageiras ou cultivam fungos (ELEOTÉRIO, 2000). Segundo Grassé (1982), os cupins são fototrópicos negativos e portanto, vivem confinados no interior dos ninhos e, de maneira geral, não possuem olhos sendo que os quimiorreceptores, localizados nas extremidades das antenas em conjunto com pelos sensoriais distribuídos pelo seu corpo, são os responsáveis pela percepção dos estímulos olfato e tato. Os cupins também possuem sensilas nos palpos maxilares e labiais, e a importância da olfação é evidenciada pela detecção de alimento ou de outras substâncias pelas quais são repelidos quando nocivas.

Uma colônia só pode ser considerada madura quando for capaz de produzir todas as castas características da espécie, inclusive os alados. O tempo necessário por uma colônia para atingir a maturidade varia de acordo com a espécie e com fatores ambientais, podendo ser de 3 a 6 anos. O potencial de longevidade das colônias de cupins é difícil de ser estimado, mas parece ser ilimitado, dada à capacidade da colônia em gerar reprodutores secundários sempre que necessário (WILSON, 1974).

3.2.1.1 Cupins *Nasutitermes*

Os cupins estão divididos em famílias, e quatro ocorrem no Brasil. Os Isoptera da família Termitidae é a maior família, com cerca de 70% das

espécies descritas. Seus hábitos alimentares são bem variados, incluindo madeira, húmus, folhas e até líquens (CONSTANTINO, 2000).

Apesar dos térmitas pertencerem a um dos grupos animais mais bem-sucedidos do planeta, poucas espécies têm tido sucesso na transição do ambiente natural para o ambiente urbano e o sucesso de algumas espécies tem sido relacionado à sua habilidade em se adaptar às mais variadas condições existentes em meio urbano (ROBINSON, 1996).

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, com um longo tubo frontal com um poro na ponta, através do qual ejetam uma substância tóxica ou repelente (CONSTANTINO, 2000). São os *Nasutitermes sp* os cupins de estudo nesse trabalho.

3.3 Controle Biológico

Insetos podem provocar perdas consideráveis na produção, acarretando prejuízo ao produtor, utilizando-se tradicionalmente, o controle de pragas por meio de agrotóxico. No entanto, devido aos custos e danos ambientais, medidas alternativas vêm sendo desenvolvidas, destacando-se o controle biológico de insetos a partir de formulações contendo entomopatógenos (biopesticidas). Recentemente, considerável progresso tem ocorrido com o desenvolvimento de agentes de controle biológico à base de fungos, havendo mais de 30 patentes de produtos biopesticidas já registrados ou em desenvolvimento em todo o mundo (KASSA, 2003).

Embora muitos microrganismos sejam utilizados no controle de pragas da agricultura, estima-se que os fungos sejam mais frequentemente envolvidos nas doenças de insetos. Dentre os mais usados, salientam-se os gêneros *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Nomuraea*, *Hirsutella*, *Entomophthora* e *Asckersonia* (MELO; AZEVEDO, 1998).

O controle biológico não é poluente, não provoca desequilíbrios biológicos, é duradouro e aproveita o potencial biótico do ecossistema, não é tóxico para o homem e animais e pode ser aplicado com as máquinas convencionais, com pequenas adaptações ou simples equipamentos de pulverização.

De acordo com Alves (1998) o desenvolvimento do fungo sobre os insetos afetados ocorre da seguinte maneira: os conídios germinam e penetram no tegumento do inseto num período de dois a três dias. O período de colonização ocorre de 2 a 4 dias e a esporulação em 2 a 3 dias, dependendo das condições do ambiente. O ciclo total da doença é de 8 a 10 dias.

Alves et al. (1998) cita que o controle das cigarrinhas-das-pastagens e da cana-de-açúcar é um bom exemplo da utilização prática de patógenos no controle de pragas. Na região de Alagoas, no período de 1977 a 1991, foram pulverizados aproximadamente 670.000 ha de cana infestados pela cigarrinha da cana-de-açúcar com inóculo de *Metarhizium anisopliae*, havendo uma redução de aproximadamente 72% nos índices de manifestação desta praga. Inicialmente, a área tratada com inseticida químico era de 150.000 ha/ano, diminuindo para 3000 ha.

No Estado de Pernambuco chegou a ser aplicado 38.000 kg de conídios de *M. anisopliae*. Segundo esses autores, o inóculo de *M. anisopliae* proveniente das primeiras aplicações serve para contaminar as primeiras ninfas ou adultos. De acordo com Alves et al. (1998) o isolado PL-43, foi selecionado a partir de bioensaios com diferentes isolados de *M. anisopliae* da região. A época de aplicação do fungo coincide com o período chuvoso, julho e agosto, no Nordeste do Brasil.

A utilização de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de pragas de insetos tem sido estudada há mais de 100 anos e, atualmente, há um aumento no interesse do desenvolvimento comercial desses patógenos, o qual certamente tem sido estimulado pela persistência do problema de resistência a pesticida e devido ao crescimento dos custos econômicos e ambientais, mas também por um número recente de avanços em técnicas que

parecem aumentar a eficácia e a confiança das preparações com inseticidas microbianos (WRAIGHT; BRADLEY, 1996).

Os agentes de controle biológico vêm ganhando destaque no controle de insetos-praga. O crescimento do interesse nestes agentes ocorreu em parte devido à atenção dada aos perigos causados pelo uso indiscriminado de pesticidas químicos e pela agregação de valor ao produto final processado. Assim, o maior incentivo para o crescimento dos biopesticidas vem através da atenção dada por produtores para a importância do manejo integrado de pragas como mais uma segurança para o ambiente, além da economia e proteção da produção (MENN, 1996; PIEDADE NETO, 2003).

Dentro deste contexto, o controle microbiano com fungos entomopatogênicos é uma das alternativas mais importantes, com alto potencial de utilização, sem deterioração dos recursos naturais. O número de fungos com potencial para emprego como controladores biológicos já ultrapassa 750 espécies e 85 gêneros (PUTZKE; PUTZKE, 2002). Além disso, os fungos são patógenos de amplo espectro, capazes de atacar diversas espécies de insetos e de causar epizootias naturais. São versáteis, podendo infectar diferentes estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES, 1998b).

Assim, dependendo das condições ambientais, como temperatura, umidade, luz, radiação ultravioleta, além das condições nutricionais e da suscetibilidade do hospedeiro, este é infectado, geralmente, através do tegumento com a adesão, germinação e penetração dos conídios por meio de forças físicas, pelo rompimento do tegumento, e químicas, pela elaboração de enzimas que provocam a histólise dos tecidos da cutícula.

O fungo ramifica-se colonizando o hospedeiro desde os corpos gordurosos, até o sistema nervoso, o que provoca a morte do inseto devido a produção de micotoxinas e ao esgotamento de nutrientes (ALVES, 1998b).

Portanto, dentre os agentes microbianos de controle, os fungos são de extrema importância, sendo que os Hyphomycetes possuem muitas características desejáveis para um patógeno (GASSEN, 2006).

O gênero *Beauveria*, segundo MacLeod (1954), é o mais comumente encontrado em insetos mortos no ambiente natural, além disso, ocorre enzooticamente ou causando epizootias em espécies de pragas, infectando cerca de 200 espécies de insetos de diferentes ordens. A espécie *B. bassiana* é um patógeno amplamente estudado como agente de controle biológico para muitas espécies de insetos praga, sendo um dos fungos de ocorrência generalizada em todos os países.

Este fungo tornou-se conhecido internacionalmente pelo produto Boverin, formulado e utilizado em grande escala pela ex-União Soviética em 1970, para o controle do besouro do Colorado, *Leptinotarsa decemlineata* (SAMSINAKOVA, 1966; IGNOFFO, 1975).

No Brasil, um dos principais projetos envolvendo este fungo visa o controle dos cupins das pastagens e surgiu como uma alternativa eficiente, ecológica e econômica para a solução do problema desta praga. Segundo Alves (1998c), depois de um a dois meses, a eficiência do controle pode chegar a 100% para ninhos pequenos com a aplicação de 3 a 6 g de conídios puros.

O fungo entomopatogênico *B. bassiana* é mundialmente conhecido e utilizado como agente biocontrolador de inúmeras pragas agrícolas. Essa espécie apresenta potencial de controle para diversas ordens de insetos (BRIDGE et al. 1990, ALVES 1992, PEREIRA et al. 1993).

O *B. bassiana*, tem mostrado um grande potencial como agente de controle biológico no manejo integrado de pragas na cana-de-açúcar (ALVES et al., 1985; LEUCONA, ALVES, 1988), em decorrência do uso indiscriminado e dos sérios danos que os inseticidas químicos têm causado aos ecossistemas. Além disso, a utilização de agentes entomopatogênicos tem demonstrado vantagens com relação aos pesticidas químicos, quando observados critérios como: eficácia, baixo custo, redução de resíduos químicos nos alimentos e no meio ambiente, preservação dos inimigos naturais e aumento da biodiversidade nos ecossistemas, bem como na segurança do homem e de outros organismos (ALVES 1998a, LACEY et al. 2001).

De acordo com Alves (1998b) e Coutinho (1988), *Diatraea saccharalis* é suscetível aos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, sendo que esses fungos ocorrem naturalmente em cerca de 10% das lagartas nas condições do Nordeste. Estes fungos são patogênicos para todos os estágios de desenvolvimento da broca, sendo altamente eficiente para ovos de um a dois dias de idade. Em experimentos realizados em condições de campo, foi constatada a infecção de 58% de lagartas por *M. anisopliae* e 44% por *B. bassiana*, com dosagem de 10^{13} conídios/ha.

Alves et al. (1985) avaliaram a eficiência do fungo *B. bassiana* no controle da broca da cana-de-açúcar, *D. saccharalis*. Preliminarmente, determinou-se a CL_{50} para pré-pupa, encontrando-se uma dose de $1,3 \times 10^5$ conídios/ml. Em condições de campo, colmos de cana-de-açúcar foram infestados com lagartas de terceiro instar de *D. saccharalis*, previamente tratadas com suspensões do fungo.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

O estudo foi realizado no Laboratório Zoologia do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, no período de 26 de abril de 2012 a 19 de maio de 2012.

O local do experimento foi isolado e higienizado com álcool a 96°, nas janelas foi aplicado papel pardo para diminuir a incidência de luz no laboratório, na preparação das bancadas de trabalho foi utilizado inseticida tipo MALATHION, para que nenhum outro inseto ameaçasse a integridade dos cupins e também não os contaminasse.

4.2 Cupinzeiros utilizados

Foram utilizados cupinzeiros vivos *Nasutitermes sp*, coletados de uma residência situada na Rua João Alves de Oliveira, 120, no bairro do Centro, Campina Grande – PB. Os cupinzeiros foram mantidos em uma cuba de vidro, coberto com parafilme de modo a evitar fuga dos indivíduos. A cobertura de parafilme recebeu pequenos furos permitindo a circulação do ar. No entorno da cuba foi colocado uma solução inseticida tipo Malathion, com o objetivo de evitar o aporte de formigas nas colônias.

4.3 Inóculo de *Beauveria bassiana*

No experimento foi utilizado fungo entomopatogênico de *Beauveria bassiana* cedido pela empresa Itaforte. O inóculo foi mantido sob refrigeração em “freezer” a -12°C, na forma de conídios puros acondicionados em saco plástico de 1kg.

4.4 Equipamentos e utensílios

Utilizou-se de vidro relógio, pulverizador tipo borrifador de 500 ml, placas de Petri de vidro de 90 mm de diâmetro e 14,2 mm de altura, papel filtro que em conjunto com as placas de Petri foram embrulhadas em papel e esterilizadas em autoclave a uma temperatura de 120°C por 40 minutos. As vidrarias utilizadas foram: beques de 1L, bastões de vidro e provetas de 1L. Para a manipulação do inóculo, usou-se espátula de metal, luva látex de procedimentos e máscara de proteção contra poeira facial.

O inóculo foi acondicionado em caixa de isopor mantido a temperatura de 0° por bloco de gelo de 150 ml, durante o período utilização em laboratório, depois desse período retornou ao freezer.

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.

4.5 Dose infectiva

A dose infectiva foi prepara conforme orientação de bula fornecida junta com o inóculo em uma quantidade pequena só para análise de laboratório. Preparou-se uma calda em béquer de 1L com 400 ml de água destilada e 50g de conídios, que sob agitação foi colocado para que ficasse suspenso, em seguida foi interrompida a agitação e submeteu-se a suspensão a um repouso de 5 minutos para precipitação do inerte, depois a solução ficou com duas fases uma em suspensão que era os conídios e outra que decantou que era o inerte. A parte em suspensão foi retirada para outro béquer de 1L onde o processo foi repetido para retira de mais inerte, ao final a suspensão foi colocada em pulverizador tipo borrifador de 500 ml.

A aplicação das doses foi realizada sobre papel filtro colocado no fundo das placas de Petri em número de quatro, onde foi borrifado sobre o papel filtro o inóculo na dosagem (10×10^8) recomendada pelo fabricante, em seguida,

foram distribuídos quarenta cupins arranjados de dez em dez em cada placa entre soldados e operários. As quais foram tampadas e mantidas em temperatura ambiente.

4.6 Acompanhamento e Avaliação

As observações foram realizadas 12 horas a partir da contaminação, nominado de T0 e depois a cada 24 horas que foi denominado de T1, 48hs=T2, 72hs=T3, 96hs=T4 e 120hs=T5.

As observações foram feitas diariamente por um período de cinco dias, sendo observados mobilidade e aparecimento de micélio.

O acompanhamento a partir da contaminação era ver a mobilidade e o crescimento do micélio de *B. bassiana* nos indivíduos contaminados.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

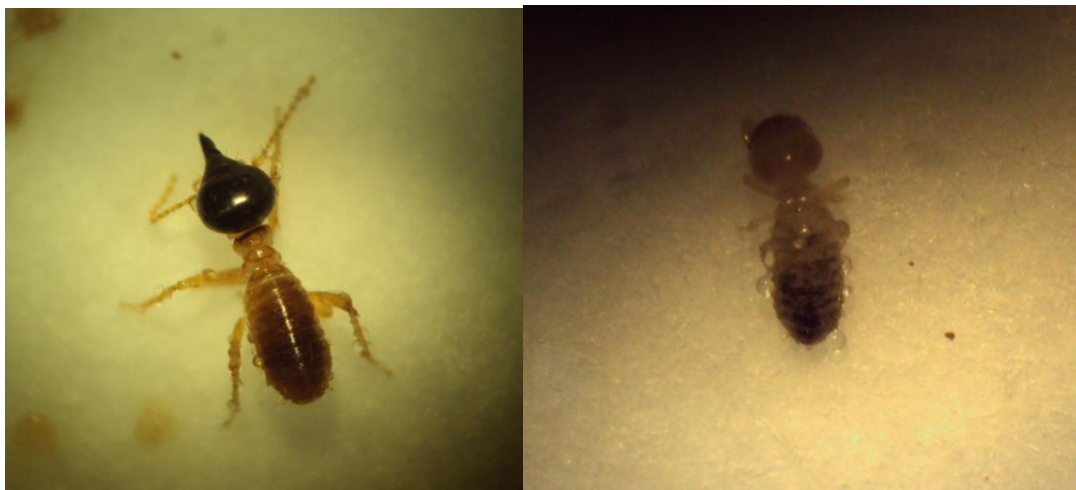
A avaliação iniciou-se 24 horas após a aplicação direta do isolado de *B. bassiana* na concentração de 10×10^8 de inóculo em cada placa do experimento.

No quadro 1, estão dispostos os resultados obtidos do tempo T1 ao T5, onde estão expostos a formação ou não de micélio em cada período observado, bem como a mobilidade dos térmitas e a formação de micélio do fungo, com intervalo de avaliação a cada 24 horas.

A ação patogênica dos fungos foi evidenciada a partir do 2º dia após a inoculação, provocando mortalidade de pelos 17,5% da população de cupins e letargia em 22,5 %, os indivíduos com mobilidade normal 62,5% da população contaminada, como também o aparecimento de micélio no percentual 20%, conforme Figuras 1 e 2, (Quadro 1).

Figura 1 – Soldado contaminado

Figura 2 – Operário contaminado



Fonte: Fotos produzidas pelo autor.

No Tempo T3, para cada placa analisada, observa-se aumento da mortalidade que foi para 47,5% total, a letargia também aumentou para 25% e os indivíduos com mobilidade normal caiu para 27,5%, o aparecimento de micélio em 47,5% dos indivíduos.

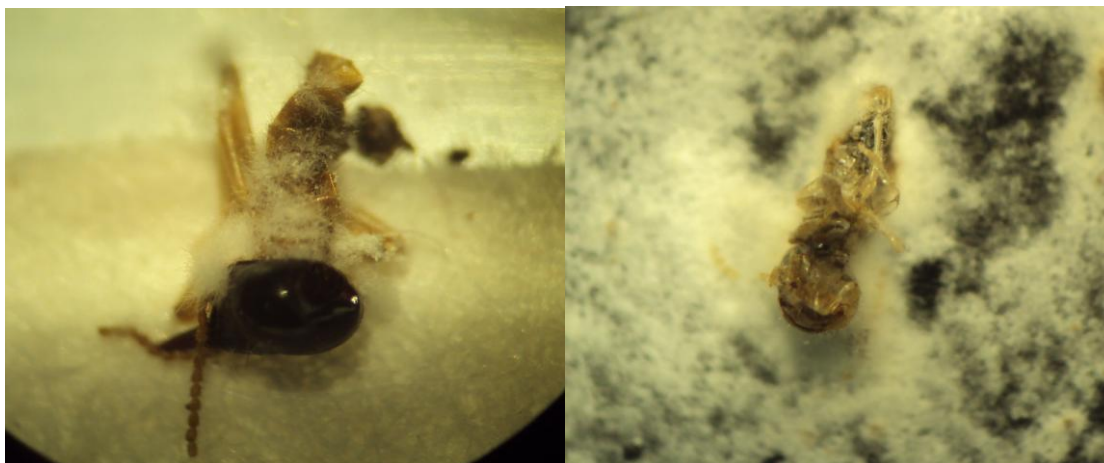
Quadro 1. Mobilidade e formação de micélio em cupins *Nasutitermes* sp inoculados com isolados de *B. Bassiana* na concentração de 10×10^8 de conídios/mL.

Placa	Conc. Inoc.	Cupins	Casta	T1		T2		T3		T4		T5	
				Mob.	Micélio	Mob.	Micélio	Mob.	Micélio	Mob.	Micélio	Mob.	Micélio
1	10×10^8	1	1	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		2	2	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		3	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		4	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		5	1	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S	M	S
		6	2	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		7	1	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		8	1	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		9	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S
		10	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	N	M	S
2	10×10^8	1	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S
		2	2	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		3	1	Nor	N	L	S	M	S	M	S	M	S
		4	1	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		5	1	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		6	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		7	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		8	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		9	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	N	M	S
		10	2	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S	M	S
3	10×10^8	1	1	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		2	2	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		3	1	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		4	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		5	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		6	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	N	M	S
		7	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	N	M	S
		8	2	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S
		9	2	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S
		10	2	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S	M	S
4	10×10^8	1	1	Nor	N	M	S	M	S	M	S	M	S
		2	2	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		3	1	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		4	2	Nor	N	L	N	M	S	M	S	M	S
		5	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		6	2	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S
		7	2	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	S	M	S
		8	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	N	M	S
		9	1	Nor	N	Nor	N	Nor	N	M	N	M	S
		10	1	Nor	N	Nor	N	L	N	M	S	M	S

Legenda: Mobilidade = Mob. Nor=Normal, L=Letárgico, M=Morto; Micélio (aparecimento) S=Sim, N=Não. Castas: 1=Soldado e 2=Operário. Contaminação=Conc. Inoculo=Inoc. Inculo 500 milhões por grama.

Após 72 horas (T4) de inoculação da cultura fúngica de *B. bassiana*, foi observado a ocorrência de 100% de morte dos indivíduos, bem como o aparecimento de pelo menos 85% de micélio na população de cupins, para todas as placas estudadas.

Figura 3 e 4 – Soldado e operário respectivamente mumificados por micélio do fungo *B. bassiana* em T5.



Fonte: Fotos produzidas pelo autor.

No tempo T5, observou-se que o número de contaminados chegou a 100% e que houve germinação do micélio em 100% dos indivíduos, mostrando-se que a utilização do *B. bassiana* é uma excelente alternativa no controle biológico dessa praga.

Albuquerque et al. (2005), demonstrou que o método de inoculação por contato direto dos insetos foi eficiente, tendo ocasionado 100% de mortalidade nas doses testadas num período de 5 dias, comprovando a patogenicidade e a virulência de *M. anisopliae* var. *anisopliae* para *N. coxipoensis*.

A esporulação e o aparecimento de micélio sobre 100% dos cadáveres dos insetos mostra que o fungo *B. bassiana* tem um grande potencial de patogenicidade sobre os cupins podendo se configurar como uma ótima alternativa para o biocontrole desses insetos. Zappelino (2009) constatou que todos os isolados do fungo *B. bassiana* foram patogênicos à broca da cana-de-açúcar, onde observou variações nos índices de mortalidade confirmadas em lagartas de *Diatraea saccharalis*. Segundo Zappelino (2009) foi observado uma variação de 22 a 92% de mortalidade confirmada conforme os isolados

de *B. bassiana*, sendo que o IBCB 215 foi o mais virulento, ocasionou 95,8% de mortalidade confirmada em lagartas de *D. saccharalis*, em campo.

De acordo com os estudos de Zappelino (2009) as mortalidades ocorreram mais intensamente após o 4º. dia de aplicação e estenderam-se até o 12º dia. Zappelino (2009) ainda comenta que todos os isolados testados não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram mortalidades confirmadas médias acima de 90%, o que vem a comprovar o potencial entomopatogênico destes fungos quando aplicados em lagartas da broca da cana-de-açúcar *D. Saccharalis*.

Dalzoto (2009) alerta acerca dos riscos dos pesticidas químicos aos seres humanos e ao ambiente, e com a necessidade de reduzir o uso destes, tem-se procurado obter produtos eficientes no controle de pragas, principalmente por meio de microrganismos, a produção de inseticidas e outros produtos a base do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, os quais podem ser utilizados em programas de controle biológico de pragas em diferentes culturas.

6- CONCLUSÃO

A utilização do *B. bassiana* mostrou-se que é uma excelente alternativa no controle biológico de cupins urbanos, vez que, após 5 dias de inoculação em condições de laboratório todos os indivíduos contaminados com o fungo estavam mortos e com germinação de micélio.

O presente estudo vem confirmar que o método de inoculação por contato direto de fungo *B. bassiana* foi eficiente no potencial de patogenicidade sobre cupins urbanos.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, Auristela C. et al. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sobre *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). **Neotropical Entomology** 34 (4): 585-591, July-August 2005.

ALVES, S.B.; P ÁDUA, L.E.M.; A ZEVEDO, E.M.V.M.; ALMEIDA, L.C. Controle da broca da cana-de-açúcar pelo uso de *Beauveria bassiana*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v.20, n.4, p.403-406, 1985.

ALVES, S.B. Perspectivas para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, v. 27, p. 77-86, 1992.

ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998a. 1163 p.

ALVES, S.B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 289-382, 1998b.

ALVES, S.B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens, In: S.B. Alves (ed.), **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, FEALQ. 1998c, p. 21-37.

ALVES, S.B.; R.M. PEREIRA. Produção de fungos entomopatogênicos, In: S.B. Alves (ed.), **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, FEALQ, 1998d, p. 845-869.

ALVES, S.B.; LEUCONA, R.E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 5, p.97-163.

ALVES, S. B. et al. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 1, p. 21 – 34.

BERTI FILHO; ALVES, S. B., E. **Controle dos cupins nas construções urbanas e rurais**. Piracicaba: ESALQ/CENA, 1995. (Boletim técnico n.4 da Universidade de São Paulo, Campus “Luiz de Queiroz”).

BRIDGE, P.D.; ABRAHAM, J.D.; CORNISH, M.C.; PRIOR, C.; MOORE, D. The chemotaxonomy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolated from coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Mycology**, v. 111, p. 85-90, 1990.

CONSTANTINO, R. 2002. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. **Pap. Avul. Zool.** 40: 387-448.

COUTINHO, J. L. B.; CAVALCANTI, V. A. L. B. Utilização do fungo *Beauveria bassiana* no controle biológico do bicudo do algodoeiro em Pernambuco. **Revista Agropecuária Brasileira**, v. 23, n. 5, p. 455-461, 1988.

DALZOTO, P.R.; UHRY, K.F. Controle Biológico de pragas no Brasil por meio de *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. **Biológico, São Paulo**, v. 71, n1, p.37-41, jan./jun., 2009.

ELEOTÉRIO, E. S. R. **Levantamento e identificação de cupins (insecta: isoptera) em área urbana de Piracicaba, SP.** 2000, 101 f. Dissertação de Mestrado em Ciências – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2000.

FONTES, L. R. & BERTI FILHO, E. (Eds.). **Cupins: O desafio do conhecimento.** Piracicaba: FEALQ, 1996.p. 109-124.

FONTES, L. R. (Ed.). **Alguns Aspectos Atuais da Biologia e Controle de Cupins.** Piracicaba: FEALQ, 1995a. p.57-76.

FONTES, L. R. Sistemática geral de cupins. In: BERTI FILHO, E. (Ed.); FONTES, L. R. (Ed.). **Alguns Aspectos Atuais da Biologia e Controle de Cupins.** Piracicaba: FEALQ, 1995b. p.11-18.

GASSEN, M.H. **Patogenicidade de fungos entomopatogênicos para o psilídeo da goiabeira *Triozoida* sp. (Hemiptera: Psyllidae) e compatibilidade de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre estes agentes de controle biológico.** 2006. 97f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2006.

GRASSÉ, P-P. **Termitologia.** Paris: Masson, 1982. v. 1. 676p.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Censo 2010.** Disponível em:

http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1766. Acesso em 20 de julho de 2012.

IGNOFFO, C. M. Entomopathogens as insecticides. **Environmental Letters**, London, v. 8, p. 24-40, 1975.

LACEY, L.A.; FRUTOS, R.; KAYA, K.H.; VAIL, P. Insects pathogens as biological control agents: do they have a future?. **Biological Control**, v. 21, p. 230-248, 2001.

KASSA, A. **Development and testing of mycoinsecticides based on submerged spores and aerial conidia of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of locusts, grasshoppers and storage pests.** 2003. 27f. Thesis (Doctoral of Agricultural Sciences) - Faculty of Agricultural Sciences, George-August, University Göttingen. Göttingen, 2003.

KORMONDY, E. J.; BROWN, D. E.. **Ecologia humana.** Coordenação editorial da edição brasileira Walter Alves Neves. Atheneu Editora, São Paulo, 2002.

LEUCONA, R. E. (Ed.). **Microrganismos patógeno empleado em el control microbiano de insectos plaga.** Mexico, 1996. 335p.

MACLEOD, D. M. Investigations on the genera *Beauveria* Vuill. and *Tritirachium* Limber. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 32, p. 818-893, 1954.

MACLEOD, D.M. Notes on the genus *Empusa* Cohn. **Canadian Journal of Botany**, v. 34, p. 16-26, 1956.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J.L. **Controle biológico.** Jaguariúna: EMBRAPA, 1998. v.1, 264p.

MENN, J. J. Biopesticides: has their time come? **Journal of Environmental Science Health**, New York, v. 31, p. 383-389, 1996.

OLIVEIRA, A. M. F.; LELIS, A. T. de; LEPAGE, E. S. *et al.* Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras.** São Paulo: IPT, 1986. v.I, p.99-278.

PEREIRA, R.M.; ROBERTS, D.W. Dry mycelium preparation of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 56, p. 39-46, 1990.

PUTZKE, J. ; PUTZKE, M. T. L. . **Os Reinos dos Fungos Volume II - 1a. edição.** Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2003. v. 2. 222 p.

ROBINSON, W. H. **Urban entomology:** Insect and mite pests in the human environment. 1 ed. London: Chapman & Hall, 1996.

SAMSINAKOVA, A. Growth and sporulation of submersed cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 8, p. 395-400, 1966.

WILSON, E.O. 1974. **The insects societies**. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge.

WRIGHT, J. E.; CHANDLER, L. D. Laboratory Evaluation of the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* against the Boll Weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 58, p. 448-449, 1991.

WRIGHT, S.P.; CARRUTHERS, R.I., BRADLEY, C.A.; JARONSKI, S.T.; LACEY, L.A.; WOOD, P. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. And *Beauveria bassiana* against the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.71, p. 217-226 (1998).

ZAPPELINE, L.O. **SELEÇÃO DE ISOLADOS DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae* VISANDO O CONTROLE DA BROCA DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)** 2009.

ZORZENON, Francisco José. Noções Sobre as Principais Pragas Urbanas. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Sanidade Vegetal do Instituto **Biológico, São Paulo**, v.64, n.2, p.231-234, jul./dez., 2002.