

ROSINEIDE DA SILVA LOPES

**PATOGENICIDADE DE *PAECILOMYCES FARINOSUS* SOBRE
COPTOTERMES GESTROI E PARÂMETROS BIOLÓGICOS**

RECIFE /PE

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

**PATOGENICIDADE DE *PAECILOMYCES FARINOSUS* SOBRE
COPTOTERMES GESTROI E PARÂMETROS BIOLÓGICOS**

ROSINEIDE DA SILVA LOPES

RECIFE/PE

2007

ROSINEIDE DA SILVA LOPES

**PATOGENICIDADE DE *PAECILOMYCES FARINOSUS* SOBRE
COPTOTERMES GESTROI E PARÂMETROS BIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

ORIENTADORA: Prof^a Dra. Elza Áurea de Luna Alves Lima (UFPE)

COORIENTADORA: Prof^a Dra. Auristela Correia de Albuquerque (UFRPE)

RECIFE /PE

2007

Lopes, Rosineide da Silva

Patogenicidade de *Paecilomyces farinosus* sobre
Coptotermes gestroi e parâmetros biológicos / Rosineide da
Silva Lopes. – Recife: A Autora, 2007.

55 fls. p.: il.

Dissertação (Mestrado) – UFPE. CCB

1. *Paecilomyces farinosus* 2. *Coptotermes gestroi* 3.
Controle Biológico I. Título

632.937

CDU (2ª. Ed.)

UFPE

571.7

CDD (22ª. Ed.)

CCB – 2007 – 181

ROSINEIDE DA SILVA LOPES

**PATOGENICIDADE DE *PAECILOMYCES FARINOSUS* SOBRE
COPTOTERMES GESTROI E PARÂMETROS BIOLÓGICOS**

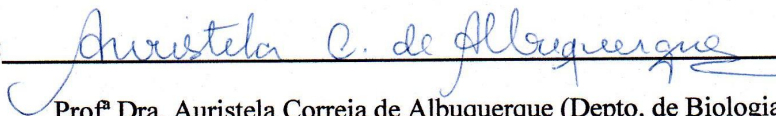
Banca Examinadora

Orientadora:



Profª Dra. Elza Áurea de Luna Alves Lima (Depto. de Micologia/UFPE)

Coorientadora:

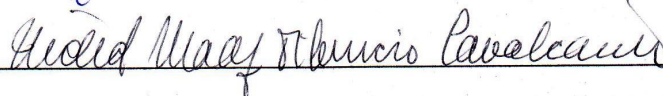


Profª Dra. Auristela Correia de Albuquerque (Depto. de Biologia/UFRPE)

Examinadores:

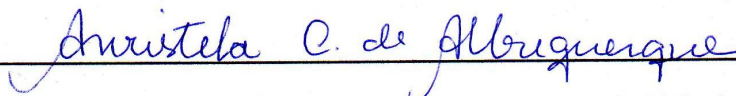


Profª Dra. Janete Magali de Araújo (Depto. de Antibióticos/UFPE)



Profª Dra. Uided Maaze Tibúrcio Cavalcante (Depto. de Micologia/UFPE)

Suplentes:



Profª Dra. Auristela Correia de Albuquerque (Depto. de Biologia/UFRPE)



Profª Dra. Elaine Malosso (Depto. de Micologia/UFPE)

“Ora, se algum de vós tem falta de sabedoria, peça-a a Deus, que a todos dá liberalmente e não censura, e ser-lhe-á dada. Peça-a, porém, com fé, não duvidando; pois aquele que duvida é semelhante à onda do mar, que é sublevada e agitada pelo vento”.

Tiago 1.5,6

Ao meu Esposo

José Robson Portela Lopes

Pelo carinho, amor e paciência.

OFEREÇO

Aos meus pais

Severino e Terezinha Silva

*Pelo grande amor, dedicação e apoio
constante,*

minha eterna e sincera gratidão.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo seu infinito amor, bondade e misericórdia.

Em especial, aos meus pais Severino e Terezinha pelo amor, força e carinho, e acima de tudo, pela educação cristã e pela oportunidade de ser uma pessoa digna e responsável. Agradeço a Deus por ter me concedido o privilégio de tê-los como pais.

Ao meu esposo José Robson pelo amor, paciência e compreensão, que tanto me ajudaram, não apenas durante a conclusão deste trabalho, mas ao longo do meu curso de Mestrado.

Aos meus irmãos Ronaldo e Maria Aparecida pela amizade concedida. Também aos meus sobrinhos Danyelle, Rafaela, Raiane e Daniel, por me fazerem sorrir nos momentos mais difíceis.

À minha querida orientadora, a Professora Dra. Elza Áurea de Luna Alves Lima pelo grande incentivo, valiosos ensinamentos e exemplo de profissionalismo, os quais contribuíram para minha formação acadêmica. Além disso, agradeço todo o carinho, amizade e compreensão concedidos durante os anos que passei sob sua orientação, os quais me ajudaram a realizar esta pesquisa.

À minha coorientadora, a Professora Dra. Auristela Correia de Albuquerque pelos conhecimentos valiosos sobre a Entomologia e, acima de tudo, pela paciência, amizade e apoio constante que me ajudaram a concluir mais uma etapa de minha vida.

Às amigas Ana Paula de Almeida Portela e Virgínia Michelle Svedese pelo companheirismo, pela amizade e pelos conhecimentos compartilhados. Exemplo de profissional e de perseverança no qual me espelhei no momento de maiores dificuldades. Agradeço a Deus a valiosa oportunidade de tê-las conhecido.

À amiga Ginarajadaça e família, pelo carinho, apoio, palavras incentivo e, principalmente pela amizade e orações.

À Tatiana Maria de Albuquerque, pelo incentivo, ajuda e em especial pela amizade desde o tempo de infância.

Aos amigos de laboratório, colaboradores constantes: Ana Paula de Almeida Portela, Virgínia Michelle Svedese, Ana Paula Duarte, Francisco Jr., Guaraná, Deise, Antônio e Emilly, pelos bons momentos e pela boa convivência.

A todos meus amigos de sala pela harmoniosa convivência durante o decorrer do curso.

A todos os professores do Curso do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, do Departamento de Micologia (UFPE) que contribuíram para minha formação acadêmica, em particular a Profª Dra. Elza Áurea de Luna Alves Lima, Profª Dra. Cristina Maria de Souza Motta, Profº Dr. João Lúcio de Azevedo, Profª Dra. Leonor Costa Maia, Profª Dra. Neiva Tinti de Oliveira e Profª Dra. Uided Maaze Tiburcio Cavalcante.

Aos amigos Inaldo Ferreira, Francisco Jr. e Ana Paula Duarte pela gentileza e apoio na realização das fotografias que constam neste trabalho.

Ao pesquisador Venésio Felipe dos Santos e ao Dr. Francisco Braga da Paz Júnior pela realização das análises estatísticas e pelas orientações.

À Prefeitura da Cidade Universitária pelo auxílio na coleta do cupinzeiro.

Ao CNPq pelo apoio financeiro, concedendo uma bolsa de estudo de Mestrado.

Ao Departamento de Micologia-UFPE na pessoa do Chefe do Departamento, a Profª Dra. Cristina de Souza Motta, pelas facilidades para a realização de todos os experimentos desta pesquisa.

A todos aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente durante a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	01
 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1 <i>Paecilomyces</i> : aspectos biológicos.....	03
2.2 <i>Paecilomyces farinosus</i> : características e importância no controle biológico.....	03
2.3. Cupins: aspectos taxonômicos e distribuição no mundo.....	09
2.4 <i>Coptotermes gestroi</i> : histórico, ocorrência, biologia e controle	10
2.5 Controle biológico de cupins por fungos entomopatogênicos.....	16
 3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Linhagens fúngicas.....	22
3.2 <i>Coptotermes gestroi</i>	22
3.3 Meio de cultura.....	24
3.4 Soluções utilizadas.	24
3.4.1 Solução Tween 80 (0,05% v/v).....	24
3.4.2 Hipoclorito de Sódio a 4%	24
3.4.3 Álcool a 70%.....	24
3.4.4 Etanol a 75%.....	25
3.5 Bioensaios	25
3.5.1 Produção de conídios	25
3.5.2 Quantificação do inóculo.....	25
3.5.3 Infecção <i>in vitro</i> de <i>Coptotermes gestroi</i>	25
3.5.4 Produção de conídios de <i>Paecilomyces farinosus</i> obtidos de cadáveres de <i>Coptotermes gestroi</i>	26
3.5.5 Reisolamento do fungo de <i>Coptotermes gestroi</i>	26
3.6 Parâmetros biológicos de <i>Paecilomyces farinosus</i>	27
3.6.1 Germinação de conídios	27

3.6.2 Esporulação	27
3.6.3 Crescimento radial	27
3.6.4 Análise de microestruturas.....	28
3.7. Análise Estatística	28
 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 29
4.1. Patogenicidade de <i>Paecilomyces farinosus</i> sobre <i>Coptotermes gestroi</i>	29
4.2. Avaliação da Concentração Letal e Tempo Letal de <i>Paecilomyces farinosus</i> sobre operários de <i>Coptotermes gestroi</i>	31
4.3. Produção de conídios de <i>Paecilomyces farinosus</i> obtidos de cadáveres de <i>Coptotermes gestroi</i>	34
4.4. Análise dos parâmetros biológicos de <i>Paecilomyces farinosus</i>	36
4.4.1. Germinação de conídios.....	36
4.4.2. Esporulação.....	37
4.4.3 Crescimento radial.....	38
4.4.4 Estruturas morfológicas	41
 5. CONCLUSÕES.....	 44
 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	 45

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Soldado (a) e operário (b) de <i>Coptotermes gestroi</i> , coletados de um ninho em árvore, situada no Campus da UFPE. (50X).....	14
Figura 2. Ninho secundário de <i>Coptotermes gestroi</i> removido do interior de uma parede (a); danos do cupim subterrâneo em caixas e cabos elétricos (b). Fonte: Boletim Técnico do Instituto Biológico.....	15
Figura 3. Ninho (a) e galerias feitas por <i>Coptotermes gestroi</i> (b), em árvores localizadas no Campus da UFPE.....	15
Figura 4. Ninhos de <i>Coptotermes gestroi</i> em duas árvores, no Campus da UFPE.....	23
Figura 5. Operários de <i>Coptotermes gestroi</i> sobre fragmento de madeira, selecionados para o bioensaio de infecção.....	23
Figura 6. Operário de <i>Coptotermes gestroi</i> colonizado (2º dia) por <i>Paecilomyces farinosus</i> URM4995. (50X).....	35
Figura 7. Operário de <i>Coptotermes gestroi</i> colonizado (7º dia) por <i>Paecilomyces farinosus</i> URM4993. (50X).....	35
Figura 8. Aspecto da colônia de <i>Paecilomyces farinosus</i> URM4993, em SAB após 12 dias a 25°C. Fungo padrão (a) e fungo reisolado (b) de <i>Coptotermes gestroi</i>	40
Figura 9. Aspecto da colônia de <i>Paecilomyces farinosus</i> UMR4995, em SAB após 12 dias a 25 °C. Fungo padrão (a) e fungo reisolado (b) de <i>Coptotermes gestroi</i>	40

Figura 10. Conidióforo simples (seta) e conídios de *Paecilomyces farinosus* URM4995 após 72 horas. (640X)..... 42

Figura 11. Conidióforos verticilados (seta) de *Paecilomyces farinosus* URM4993 reisolado após 72 horas. (640X)..... 42

Figura 12. Apressórios simples (a) e bifurcado (b) de *Paecilomyces farinosus* URM4993 reisolado após 96 horas.(640X)..... 43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Origem das linhagens de <i>Paecilomyces farinosus</i> utilizadas no trabalho.....	22
Tabela 2. Percentagem média de mortalidade acumulada de <i>Coptotermes gestroi</i> em diferentes dias após a infecção por <i>Paecilomyces farinosus</i>	30
Tabela 3. Concentração Letal de <i>Paecilomyces farinosus</i> sobre <i>Coptotermes gestroi</i>	32
Tabela 4. Tempo Letal de <i>Paecilomyces farinosus</i> sobre <i>Coptotermes gestroi</i>	33
Tabela 5. Produção de conídios de <i>Paecilomyces farinosus</i> sobre cadáveres de <i>Coptotermes gestroi</i> após 12 dias.....	34
Tabela 6. Germinação de conídios <i>Paecilomyces farinosus</i> antes e após a passagem por operários de <i>Coptotermes gestroi</i>	36
Tabela 7. Esporulação de <i>Paecilomyces farinosus</i> antes e após a passagem por operários de <i>Coptotermes gestroi</i>	38
Tabela 8. Crescimento radial de <i>Paecilomyces farinosus</i> antes e após a passagem por operários de <i>Coptotermes gestroi</i>	39

RESUMO

O cupim asiático, *Coptotermes gestroi*, é considerado praga nas áreas urbanas, causando danos expressivos em casas, edifícios e árvores. Esta pesquisa avaliou a patogenicidade de *Paecilomyces farinosus* URM4993 e *Paelomyces farinosus* URM4995 sobre operários de *C. gestroi*. Os insetos foram pulverizados nas concentrações de 10^4 a 10^8 conídios/mL, mantidos em BOD a 25°C e 80% de umidade relativa e determinada a Concentração Letal (CL₅₀) e Tempo Letal (TL₅₀). Foi avaliada a produção de conídios sobre os insetos mortos e analisados os aspectos biológicos referentes à germinação, esporulação, crescimento radial e microestruturas, antes e após a infecção em *C. gestroi*. O fungo foi patogênico ao cupim, causando mortalidade em todas as concentrações utilizadas, sendo que *P. farinosus* URM4993 foi mais virulenta, apresentando mortalidade de 100%, após o 6º dia de inoculação (CL₅₀ de $4,86 \times 10^5$ conídios/mL e TL₅₀ de 2,26 dias). A esporulação nos insetos mortos não diferiu entre as linhagens. O percentual de germinação foi maior nas linhagens reisoladas. *P. farinosus* URM4993 apresentou maior esporulação do que *P. farinosus* URM4995. O crescimento micelial de *P. farinosus* URM4995 foi maior do que seu reisolado, a partir do 9º dia de análise. Não foram observadas diferenças morfológicas das linhagens após a passagem pelo hospedeiro. Esses resultados demonstraram a patogenicidade e virulência das linhagens testadas, sendo que *P. farinosus* URM4993 foi mais eficiente, indicando seu potencial para o biocontrole de *C. gestroi*.

Palavras Chave: *Paecilomyces farinosus*, *Coptotermes gestroi*, controle biológico.

ABSTRACT

The asiatic termite, *Coptotermes gestroi* is considered pest in urban areas causing expressive damages in houses, buildings and Trees. This research evaluated the pathogenicity of *Paecilomyces farinosus* URM4993 and *Paecilomyces farinosus* URM4995 to workers of *C. gestroi*. The insects were pulverized with concentrations of 10^4 at 10^8 conidia/mL. They were kept in BOD at 25°C and 80% relative humidity, and then it was determined the Lethal Concentration (LC₅₀) and Lethal Time (LT₅₀). It was evaluated the conidia production in dead insects. It was analyzed the biological aspects refereed to germination, sporulation, radial growing and microstructures, before and after infection with *C. gestroi*. The fungus was pathogenic to termite and it caused mortality in all used concentrations, being *P. farinosus* URM4993 was more virulent causing mortality of 100%, after 6° day of inoculation (LC₅₀ of $4,86 \times 10^5$ conidia/mL and LT₅₀ of 2,26 days). The sporulation in dead insects did not differ from strains. The percentage of germination was bigger in reisolated strains. *P. farinosus* URM4993 showed bigger sporulation than *P. farinosus* URM4995. The mycelia growing of *P. farinosus* URM4995 was bigger than its reisolated, after 9° analyze day. Morphological differences were not observed in strains after being transmitted through the host. This results demonstrated the pathogenicity and virulence of tested strains, being *P. farinosus* URM4993 the most efficient, indicating their biocontrol potential to *C. gestroi*.

Key words: *Paecilomyces farinosus*, *Coptotermes gestroi*, biological control.

1. INTRODUÇÃO

O cupim asiático *Coptotermes gestroi* (Wasmann) foi introduzido no sudeste brasileiro em 1923, sendo considerado a mais expressiva praga de estruturas e objetos à base de celulose, encontrados em áreas urbanas. Apesar de formar o cupinzeiro central no subsolo, esta espécie produz ninhos secundários ou aéreos em substratos quentes e úmidos como: madeiras, frestas de construção, interior de paredes e pisos, caixas, cabos elétricos e telefônicos, causando sérios danos econômicos em casas e edifícios. Este cupim também ataca árvores, produtos armazenados, tecidos e outros materiais celulolíticos, como papelões e livros (ZORZENON & POTENZA, 1998; CONSTANTINO, 2002a; FONTES & MILANO, 2002).

O controle preventivo de cupins subterrâneos é realizado com a aplicação de inseticidas de ação residual, como o Fipronil e o Imidacloprid (GALLO et al., 2002), Cipermetrina, Permetrina, Deltametrina, Cyfluthrina, Clorpirifós, entre outros (ZORZENON & POTENZA, 1998). Contudo este método erradica apenas os ninhos secundários, possibilitando novas infestações pelos insetos sadios, provenientes do ninho central. Ainda, o uso indiscriminado desses produtos químicos ocasiona sérios problemas em relação à poluição ambiental, ao aparecimento de insetos resistentes e a eliminação dos inimigos naturais.

O controle biológico por fungos entomopatogênicos é uma alternativa eficaz para esse problema. Em geral, o processo de colonização desses insetos por fungos é mais lento, em relação aos outros organismos, causando assim, poucas mudanças fisiológicas e comportamentais. Apesar disso, esses patógenos apresentam alto potencial de disseminação através do contato social entre os membros da colônia (GRACE, 1997). A organização social dos cupins é um fator essencial na disseminação dos conídios dentro da colônia, o que facilita o controle desses insetos através do tratamento das áreas de alimentação (RATH, 2000). Alguns entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin e *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sokorin têm apresentado resultados promissores em bioensaios visando o controle de cupins das espécies: *C. formosanus* Shiraki (DELATE et al., 1995; SUN et al., 2002; WRIGHT, 2005), *C. acinaciformis* (Froggatt) (RATH & TIDBURY, 1996; MILNER et al., 1998), *Cornitermes cumulans* (Kollar) (FERNANDES & ALVES, 1992;

NEVES & ALVES, 2000) e *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgren) (ALBUQUERQUE et al., 2005).

Paecilomyces Bainier reúne diversas espécies entomopatogênicas, sendo as mais freqüentes: *P. farinosus* (Holm ex S. F. Gray) Brown & Smith, *P. tenuipes* (Peck) Samson, *P. lilacinus* (Thom) Samson e *P. fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith. *P. farinosus* é um fungo cosmopolita, encontrado nas zonas tropicais, sendo sapróbio de solos florestais e parasita de várias espécies de insetos, das Ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera e Hemiptera, (SAMSON, 1974; DOMSCH et al., 1980; ALVES, 1998). *P. farinosus* vem sendo estudado no controle de diversas pragas e sua patogenicidade *in vitro* tem sido comprovada contra insetos como: besouro do olmo, *Scolytus scolytus* (Frabricius) (DOBERSKI, 1981), mosca-serra, *Cephalcia abietis* Linnaeus (PRENEROVÁ, 1994), mosca-branca, *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) (WRAIGHT et al., 1998) e a formiga cortadeira, *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus) (LOUREIRO & MONTEIRO, 2004).

Devido aos diversos prejuízos econômicos causados pelo *C. gestroi* em áreas urbanas, faz-se necessário o uso de técnicas mais eficientes no controle deste inseto. O controle biológico, através da utilização de fungos entomopatogênicos, como *P. farinosus*, tem se mostrado uma alternativa viável e promissora para controle de pragas causadas por diversos insetos. Portanto, testar o potencial deste fungo como agente biocontrolador do cupim *C. gestroi*, apresenta-se como proposta importante e imprescindível na busca de soluções ecológica e economicamente viáveis.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a suscetibilidade *in vitro* do cupim subterrâneo *C. gestroi* a *P. farinosus*, bem como quantificar a esporulação do fungo sobre os insetos mortos e analisar os parâmetros biológicos de *P. farinosus* antes e após a passagem pelo inseto, visando empregá-lo como biocontrolador desta praga urbana.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Paecilomyces*: aspectos biológicos

Paecilomyces Bainer foi identificado pela vez em 1907 (SAMSON, 1974), sendo constituído por diversas espécies entomopatogênicas, tais como: *P. farinosus*, *P. tenuipes*, *P. lilacinus* e *P. fumosoroseus*. Durante o ciclo biológico, estas espécies apresentam conidióforos simples ou agrupados formando sinêmio. Os conídios podem ser elípticos a fusiformes, unicelulares, hialinos ou pigmentados. Formam apressórios, estruturas utilizadas para penetração no tegumento do inseto hospedeiro. De acordo com a espécie e o meio de cultivo, a colônia pode apresentar coloração esbranquiçada, amarela, rósea ou avermelhada. Esses fungos causam muscardine amarela em insetos e atacam também nematóides parasitas de plantas. Na Região Sudeste do Brasil, é comum a ocorrência desse gênero, causando epizootia em populações de lagartas do coqueiro, *Brassolis sophorae* Linnaeus (SAMSON et al., 1988; ALVES, 1998).

2.2 *Paecilomyces farinosus*: características e importância no controle biológico

Paecilomyces farinosus é um fungo encontrado em regiões tropicais, sendo sapróbio de solos florestais e parasita de várias espécies de insetos. De distribuição cosmopolita, tem sido assinalado em países como Brasil, Estados Unidos, Japão, Sul da África, dentre outros. Este fungo apresenta aspecto cottonoso de coloração esbranquiçada a creme, apresentando ótimo crescimento e esporulação a 25°C, *in vitro*. Os conidióforos (100-300 x 1.0-2,5 µm) são estruturas de parede lisa e hialina, formados por ramos verticilados com duas a quatro fiálides (5-15 x 1.2-2,5 µm) que possuem porção basal intumescida terminando em um distinto pescoço alongado. Os conídios (2,0-3.0 x 1.0-1.8 µm) são elipsóides a fusiformes, às vezes em forma de limão, sendo a parede lisa e hialina. Forma apressório e não produz clamidosporo. *P. farinosus* foi isolado de larvas de Lepidoptera, pupas de Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, pupário de Hemiptera e Arachnida, comprovando assim, sua diversidade genética ao infectar diferentes hospedeiros. Esta espécie coloniza o inseto hospedeiro através da formação de micélio de cor branca, do qual se originam numerosos conidióforos com conídios ou, surgem sinêmios em toda parte do corpo do inseto. Devido à

diversidade de hospedeiros, este fungo vem sendo testado no controle de vários insetos-praga, como *Leptinotarsa decemlineata* (Say) e *Pyrausta nubilalis* (Hubn) (SAMSON, 1974; DOMSCH et al., 1980; SAMSON et al., 1988; ALVES, 1998).

Doberski (1981) analisou a patogenicidade de *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. farinosus* contra o besouro *S. scolytus* e verificou que todos os isolados testados com suspensões de 10^3 e 10^4 conídios/mL foram patogênicos as larvas do inseto. *P. farinosus* foi moderadamente patogênico a larva, *B. bassiana* foi o mais patogênico e *M. anisopliae* foi o menos patogênico. Hayden et al. (1992) testaram a virulência de *P. farinosus* contra a praga do grão, *Sitobion avenae* (Fabricius), antes e pós o subcultivo do fungo, em passagem através do hospedeiro e em meio contendo a cutícula do inseto. Antes do subcultivo, *P. farinosus* apresentou TL_{50} de 11 dias. Após três subcultivos, em ambos os substratos, *P. farinosus* diminuiu a TL_{50} para cinco dias, resultando assim, na ativação da virulência perdida pelo fungo, quando cultivado *in vitro*.

A eficiência de *B. bassiana*, *B. brongniartii* (Saccardo) Petch, *M. anisopliae*, *P. farinosus*, *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas e *Tolypocladium cylindrosporum* Gams, no controle da *Musca domestica* Linnaeus, foi avaliada em condições de laboratório, por Barson et al. (1994). Segundo os autores, as fêmeas adultas foram suscetíveis a todos os fungos, quando inoculadas com suspensões de 10^3 a 10^5 conídios/mL. *P. farinosus* foi significativamente patogênico a *M. domestica*, na suspensão 10^5 conídios/mL, causando 100% de mortalidade aos nove dias de inoculação. Também Prenerová (1994) analisou a patogenicidade de *P. farinosus* e o efeito da passagem *in vivo*, na viabilidade e virulência das linhagens sobre as larvas da mosca *C. abietis*. As larvas foram inoculadas com suspensões de 5×10^7 conídios/mL e incubadas em câmara úmida a 22°C. As 16 linhagens apresentaram diferença significativa na viabilidade e virulência dos conídios contra *C. abietis*, expressa em valores de TL_{95} . As larvas foram mais suscetíveis a *P. farinosus* CCEF 2194 e *P. farinosus* CCFE 2202, após reisolamento de *C. abietis*.

Prenerová (1995) desenvolveu um novo método para a germinação dos blastosporos de *P. farinosus* por meio do processo de aeração em meio líquido contendo 2% de peptona a 15°C e, em seguida testaram a virulência dos blastosporos germinados e não germinados sobre os ovos de *C. abietis*. Estes foram suscetíveis a *P. farinosus* e o percentual de mortalidade variou de acordo com a concentração e o nível de germinação dos blastosporos. Constataram diferenças significantes nos valores de TL_{95} para os esporos germinados e não germinados, sendo que após a aplicação com os esporos germinados, a infecção iniciou um ou dois dias mais cedo que os não germinados. Portanto, os blastosporos germinados foram

capazes de destruir os ovos de *C. abietis* antes que as larvas emergissem, as quais são mais resistentes ao fungo, fornecendo assim informações essenciais para o manejo de aplicações no campo de *P. farinosus* no controle de *C. abietis*.

Estudos realizados por Wraight et al. (1998) avaliaram a patogenicidade de *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* e de *P. farinosus* contra ninfas de *B. argentifolii*. Verificaram que os isolados de *P. fumosoroseus* e *B. bassiana* de diversas origens foram altamente patogênicos e apresentaram valores de CL_{50} que variaram entre 50 e 150 conídios/mm². Todos isolados de *P. farinosus* foram patogênicos, com CL_{50} entre 350 e 4000 conídios/mm². Estes resultados comprovam a alta virulência de *Paecilomyces* spp. e de *B. bassiana* contra o inseto, importante requisito para seleção de isolados a serem utilizados em programas de controle biológico.

Sanchez-Peña (2000) estudou a ocorrência de inimigos naturais de pragas agrícolas, nas áreas desérticas das cidades de Saltillo e San Antonio de las Alazanas, no México. Os insetos foram coletados de culturas específicas estabelecidas em cada área e os patógenos isolados foram identificados. Entre estes se destacaram os fungos entomopatogênicos, devido a maior proporção nas amostras e a importância das espécies encontradas. *P. farinosus* foi isolado de espécimes do inseto *Crocidema* sp. (Coleoptera: Curculionidae), praga presente nos pomares de maçã, em San Antonio de las Alazanas. As condições favoráveis das áreas estudadas podem promover a permanência e a diversidade destes patógenos, favorecendo assim, futuras pesquisas sobre o controle biológico de insetos-praga da região, com o uso de linhagens fúngicas selvagens ou introduzidas por programas de manejo de pragas.

A virulência dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *V. lecanii* e *P. farinosus* foi avaliada contra adultos da praga de grãos armazenados, *Sitophilus orzae* Linnaeus, (DAL-BELLO et al., 2001). Os autores verificaram que todos os isolados testados causaram mortalidade, havendo, no entanto, grande variação em relação à virulência dos fungos ao inseto. Os isolados mais eficientes foram: *P. farinosus* ARSEF2937, *M. anisopliae* ARSEF2974 e *B. bassiana* ARSEF5500, que causaram mortalidade de 30, 40 e 50% respectivamente, após 14 dias de inoculação. Em seguida testaram a mistura de *M. anisopliae* ARSEF2974 e *B. bassiana* ARSEF5500 sozinho ou associado a 3 e 6pm do inseticida Fenitrothion a *S. orzae* contidos em arroz e, evidenciaram que 80% dos insetos morreram após 14 dias no tratamento com 3pm do inseticida. Os resultados indicaram que o controle biológico através da utilização de fungos entomopatogênicos associado ou não a inseticidas químicos pode ser um método viável para o controle de insetos que danificam grãos estocados e causam prejuízos econômicos para a agricultura.

A ocorrência de fungos entomopatôgenicos em solos agrícolas na Palestina foi estudada por Ali-Shtayeh et al. (2002). Os fungos foram coletados em 33,6% das amostras de solo estudado, com total de 70 isolados pertencentes a 20 espécies de 13 gêneros, entre estas, *Conidiobolus coranatus* (Costantin) Batco, *Absidia cylindrospora* Hagem, *Fusarium solani* (Martius) Saccardo, *F. oxysporum* Schlechtendahl, *P. farinosus*, entre outros. Os autores também avaliaram a patogenicidade dos isolados as larvas da lagarta *Galleria mellonella* Linnaeus. Todas as espécies foram virulentas às larvas de *G. mellonella*, sendo que a média de patogenicidade variou entre 16 e 100%.

Lopes-Llorca et al. (2002) avaliaram o potencial de extratos enzimáticos de *P. farinosus*, isolado do lepidóptero *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller) às larvas de *G. mellonella*. Os autores observaram que as proteases degradaram e também induziram a liberação de proteínas da cutícula do inseto, após uma hora de exposição aos extratos enzimáticos. Estes resultados indicaram que estas enzimas proteolíticas estão envolvidas no processo de penetração da cutícula do inseto hospedeiro por *P. farinosus*, sendo um importante fator para o sucesso deste fungo no controle biológico de insetos-praga.

Ropek & Para (2003) testaram o efeito de íons dos metais pesados (Pb, Cd, Cu, Zn e Ni) isolados ou associados aos complexos amino-aldeídico: dihidrazone (DHZ), ditiosemicarbozane (DTSC) e dioxime (DOX) sobre a patogenicidade de *P. farinosus* a *G. mellonella*. O fungo foi inoculado em BDA contendo iguais concentrações dos íons metálicos e dos complexos de substâncias. Após 12 dias foram feitas suspensões, que foram utilizadas para infectar o inseto. Quando utilizados separadamente, os íons Cd e Pb afetaram a patogenicidade, pois o fungo causou mortalidade de 60 e 80% respectivamente, após 10 dias de inoculação. Os complexos (DHZ, DTSC e DOX) reduziram significativamente o efeito tóxico dos íons Cd e Pb, aumentando o percentual de mortalidade de *P. farinosus* e, os demais íons mostraram mínima influência sobre o fungo, causando 80 a 100% de mortalidade ao inseto. Ainda os complexos amino-aldeídicos não afetaram a patogenicidade de *P. farinosus*, onde foi evidenciado 100% de mortalidade das lagartas nos períodos observados.

Foram feitas pesquisas em áreas agrícolas na Ásia com o objetivo de identificar os fungos entomopatogênicos a praga do trigo, *Eurygaster integriceps* Puton em diferentes fases do ciclo de vida. Dos insetos coletados, foram isolados 221 espécimes dos gêneros *Beauveria*, *Verticillium* e *Paecilomyces*. Entre estes, cerca 25% era *P. farinosus*. Em seguida, a patogenicidade de *B. bassiana*, *P. farinosus* e *V. lecanii* foi avaliada contra *E. integriceps*. O inseto foi suscetível aos fungos, sendo que *B. bassiana* 6022 e *P. farinosus* 6020 causaram mortalidade de 93% e 66,2% respectivamente, após 15 dias. Estes resultados demonstraram

potencial dos fungos entomopatogênicos para controle no campo de *E. integriceps* (PARKER et al., 2003).

A ação de *P. lilacinus* e *P. farinosus* sobre teleóginas do carrapato bovino, *Boophilus microplus* (Canestrini) foi avaliada *in vitro*. As fêmeas ingurgitadas foram tratadas com diferentes suspensões de conídios e mantidas à temperatura ambiente. Os fungos causaram alterações nos seguintes parâmetros biológicos: peso inicial e residual da fêmea, peso da massa de ovos, índice de produção de ovos, período de eclosão, período de pré-postura, período de postura, período de incubação, período de eclosão e eficiência reprodutiva. Estes resultados demonstraram o potencial de *P. farinosus* e *P. lilacinus* no controle de *B. microplus*, pois foram capazes de diminuir ou aumentar as etapas do ciclo reprodutivo desta praga, podendo afetar o aparecimento de novas gerações (SANTOS, 2003).

Loureiro & Monteiro (2004) avaliaram a patogenicidade dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. farinosus* contra operárias de *A. sexdens sexdens*, em condições de laboratório. As operárias foram banhadas em suspensões de 10^6 a 10^9 conídios/mL e mantidas em câmara úmida, a 27°C. *P. farinosus* foi o mais patogênico das espécies testadas, em todas as suspensões, apresentando mortalidade 96%, após o 3º dia, quando inoculado com a concentração 1×10^9 conídios/mL.

Os fungos entomopatogênicos são eficazes no controle de insetos-praga quando utilizados isoladamente ou associados a outros métodos de controle. Visando este objetivo Marques et al. (2004) avaliaram a ação do óleo de nim (NIM-I-G), (extraído de *Azadirachta indica* A. Juss) sobre o crescimento, esporulação e viabilidade de *M. anisopliae*, *B. bassiana* e *P. farinosus*. Os fungos foram inoculados em BDA com diferentes concentrações do óleo de nim (C1: 5% do óleo e, sucessivas concentrações equivalentes a $\frac{1}{2}$ da concentração anterior até C11: 0,00485%). O crescimento radial das colônias de *B. bassiana* e *P. farinosus* foi reduzido, exceto em C11, enquanto para *M. anisopliae* o óleo não teve efeito a partir da C8 (0,33%). A esporulação foi significativamente reduzida pelo óleo de nim, contudo a germinação dos fungos não foi afetada, demonstrando assim o potencial da utilização de esporos fúngicos associados em solução de óleo de nim, o que pode aumentar a eficiência do fungo no controle de insetos-praga, além de reduzir os custos e os impactos ambientais causados pelo uso de inseticidas químicos.

Espécies de *Paecilomyces*, patogênicas a insetos, têm sido excelentes produtores de metabólitos bioativos, de importância industrial, como Paecilosetin, produzido por *P. farinosus* CAUTE108, na Nova Zelândia. Este metabólito, quando testado contra *Bacillus subtilis* Cohn, *Cladosporium resinae* (Lindau) de Vries e *Trichophyton mentagrophytes*

Blanchart mostrou ação antagonista, pois inibiu consideravelmente o crescimento destes microrganismos, podendo ser posteriormente analisado e utilizado no biocontrole de outros microrganismos prejudiciais ao homem (LANG et al., 2005).

A patogenicidade dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *P. farinosus* foi testada contra a casta de soldado de *A. sexdens sexdens*. Os soldados foram inoculados com suspensões de 10^6 a 10^9 conídios/mL e mantidos a 27°C. Os três fungos foram eficientes patógenos, matando mais que 80% dos soldados nos períodos analisados. *B. bassiana* JAB06, *M. anisopliae* AL e *P. farinosus* G198 mostraram maior capacidade de esporular sobre os cadáveres do inseto, sendo esta característica importante no sucesso da disseminação dos fungos entre os insetos sociais, devido à interdependência entre as castas (LOUREIRO & MONTEIRO, 2005).

2.3 Cupins: aspectos taxonômicos e distribuição no mundo

Os cupins ou térmitas são insetos sociais da Classe Insecta, Ordem Isoptera, sendo descritas segundo Zorzenon et al. (2006) mais de 2.900 espécies no mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Estes insetos vivem em colônias populosas representadas por castas de indivíduos ápteros e alados, abrigados em ninhos chamados de termiteiros ou cupinzeiros. Os indivíduos alados possuem dois pares de asas membranosas, de forma, estrutura e nervação semelhantes, daí o nome da ordem, que vem do grego (*isos* = igual; *pteron* = asas). Alimentam-se de materiais celulolíticos e lignolíticos e se desenvolvem por hemimetabolia, ou seja, o inseto apresenta metamorfose incompleta (CONSTANTINO, 2002a; GALLO et al., 2002).

O Brasil tem uma das termitofaunas mais diversificada do mundo, com cerca de 300 espécies, distribuídas nas seguintes famílias: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae. Na Rhinotermitidae se encontram cupins subterrâneos, ou seja, formam ninhos cartonados no solo. Compreendem 174 espécies descritas, sendo que algumas delas causam danos econômicos em todo mundo (CONSTANTINO 1999; GALLO et al., 2002). As espécies-praga mais importantes pertencem aos gêneros *Coptotermes*, *Heterotermes* e *Reticulitermes* (LEWIS, 1997; FONTES & ARAÚJO, 1999; CONSTANTINO, 2002b). *Coptotermes* é de distribuição pantropical, com 45 espécies descritas, as quais causam os maiores prejuízos em edificações e construções urbanas, em várias regiões brasileiras e em outros países (CONSTANTINO, 1999). No Brasil, destacam-se duas espécies deste gênero de importância econômica, *Coptotermes testaceus* (Linnaeus), nativa da América do Sul, no Amazonas, conhecida também como cupim do cerne e da casca, importante praga de floresta, em especial, de áreas de reflorestamento; e a espécie introduzida *C. gestroi*, o mais destrutivo cupim subterrâneo em áreas urbanas (MILANO & FONTES 2002a).

2.4 *Coptotermes gestroi*: histórico, ocorrência, biologia e controle

Kirton & Brown (2003) estudaram a taxonomia das espécies-praga de *Coptotermes* originária da Ásia. Ao examinarem os espécimes de soldados de *C. gestroi* e os espécimes de alados de *C. havilandi* Holmgren, os autores constataram ser a mesma espécie, sendo *C. havilandi* designado uma sinonímia júnior de *C. gestroi*.

Coptotermes gestroi é uma espécie endêmica do sudeste da Ásia, considerada uma das piores pragas de madeira, que desde o século passado tem sido introduzido pelo homem em vários países, adaptando-se facilmente a novos ambientes (SCHEFFRAHN & SU, 2004). *C. gestroi* é encontrado principalmente nos trópicos, e sua distribuição atual inclui as Américas, Taiti, Ásia, Continente Africano e ilhas adjacentes (FERRAZ & CANCELLO, 2001).

Scheffrahn & Su (1990) realizaram um levantamento sobre a desconhecida fauna de cupins das Ilhas de Provedenciales e Grand Turk, no Arquipélago Turks, situado no oeste da Índia e registraram 12 espécies de cupins entre as famílias Kalotermitidae, Termitidae e Rhinotermitidae. Os autores identificaram através da casta de soldados, apenas duas espécies pertencentes à família Rhinotermitidae: *C. gestroi* e *Heterotermes tenuis* (Hagen). Também relataram que *C. gestroi* foi assinalado só uma vez nas ilhas, infestando estruturas de madeira acima do solo, sendo este o primeiro registro desta espécie no oeste da Índia.

Em 1996, o cupim asiático foi descrito pela primeira vez no continente Norte-Americano, estado da Flórida, infestando um edifício comercial e uma Igreja, próximo ao Porto de Miami. Este cupim danificou as madeiras entre o piso das construções, sendo as mesmas substituídas; também foram observados numerosos tubos de forrageio na parede da garagem do edifício e enxames de alados em frente às construções. Para a identificação da espécie foi utilizada a casta de alados. De acordo com os relatos dos moradores do edifício, a infestação foi notificada desde 1991, sendo tratada como uma espécie de *Reticulitermes*, por uma empresa de controle de pragas, e os enxames de alados foram observados a partir de 1993. Assim, devido à história de infestação e dos locais serem próximos ao Porto Miami, os autores sugeriram que este cupim foi introduzido por via marítima dez anos atrás (SU et al., 1997).

Três amostras de cupins foram coletadas em 1998, pelo Professor Dr. Enrique Laffont (Universidade de Corrientes, Argentina) em duas árvores ornamentais vivas e em uma morta, em Assunção, Paraguai. As amostras foram identificadas como *C. gestroi*. Este é o primeiro

registro da espécie fora do Brasil, na área continental da América do Sul (FONTES & MILANO, 2002).

Focos de infestação por *C. gestroi* foram localizados no solo e em estruturas de madeiras dos Sítios Históricos de San Cristóbal, de El Morro e de San Juan, o que constitui o primeiro registro da introdução dessa espécie em Porto Rico. Foram encontrados tubos de forrageio (com vários soldados e operários), danificando paredes, pisos e mobílias das salas dos sítios históricos e, no piso e nas estruturas de madeira próxima ao reservatório em El Morro. Estes relatos comprovaram a necessidade de um programa de monitoramento constante em museus e sítios históricos para se detectar precocemente as infestações por cupins subterrâneos (SU et al., 2002).

O primeiro registro de *C. gestroi* no México deu-se no Porto de Mazanillo. Soldados e operários desta espécie foram encontrados danificando madeiras de pino, provenientes do Chile, as quais foram estocadas por vários meses no armazém fiscal do Porto de Mazanillo. Foi utilizada a casta de soldados para a identificação da espécie, devido à falta de alados no local da infestação. A falta de infestação nos arredores do armazém e sua proximidade ao Porto sugerem que o cupim foi introduzido por via marítima (FERRAZ & MÉNDEZ-MONTIEL, 2004).

Scheffrahn & Su (2005) relataram a distribuição geográfica do gênero *Coptotermes* na Flórida. Apenas as espécies-praga introduzidas *C. formosanus* e *C. gestroi* ocorrem na Flórida, sendo esta distribuição comprovada por registros de 168 amostras de *C. formosanus* e 35 de *C. gestroi*, as quais estão catalogadas na Coleção de Cupins da Universidade da Flórida e, pelas coletas destas espécies em barcos e navios da região. Todas as populações de *C. gestroi* foram registradas no sudeste tropical da Flórida, sendo encontradas nas cidades de Broward, Dade, Monroe e St. Lucie. Segundo os autores, a tendência dessas espécies em infestar barcos e navios, pode ter contribuído para dispersão em lugares exóticos como a Flórida.

No Brasil, Araújo (1958) citou que *C. gestroi* foi introduzido no século passado, através do Porto do Rio de Janeiro em 1923 e de Santos em 1934. Provavelmente, esta introdução ocorreu por meio de madeiras contaminadas, trazidas por navios, ou a partir da revoadas de alados, provenientes dos navios infestados (FONTES & ARAÚJO, 1999).

Segundo Fontes & Milano (2002) a dispersão deste cupim dentro das cidades infestadas, como São Paulo e Rio de Janeiro pode ocorrer, principalmente por revoadas, onde casais de alados ao encontrarem locais adequados (árvores, solo, caixote de madeira, caixas de papelão, terra com resíduos vegetais, entre outros) formam novas colônias; enquanto a

dispersão para outras cidades provém do transporte de material infestado pelo homem. Assim, a partir da década de 80, o cupim se expandiu pelos arredores das cidades de Santos e do Rio de Janeiro e, em direção às cidades do oeste brasileiro. Hoje, *C. gestroi* infesta muitas cidades da Região Sudeste do País. No estado de São Paulo é encontrado em Santos, São Vicente, Guarujá, área Metropolitana da Grande São Paulo, Campinas, Piracicaba, Rio Claro, Limeira, Porto Ferreira, Taubaté e Jacareí. No Rio de Janeiro ocorre em Niterói, Cabo Frio, Seropédica e na área Metropolitana do Rio de Janeiro. Também é encontrado na cidade Belo Horizonte, em Minas Gerais.

Coptotermes gestroi é atualmente considerada a maior praga estrutural da cidade de São Paulo (LELIS, 1995; CONSTANTINO, 2002b). Na cidade de Rio Claro, interior de São Paulo, são relatadas desde 1970 infestações pelo cupim asiático em casas e áreas adjacentes. Em Presidente Prudente, uma espécie do gênero *Coptotermes*, provavelmente *C. gestroi* foi registrada por uma companhia de controle de pragas (COSTA-LEONARDO et al., 1999). Estudos sobre a ocorrência de cupins no bairro de São Dimas, cidade de Piracicaba, São Paulo foram feitos por Eleotério & Berti-Filho (2000), através de um levantamento e identificação das espécies de cupins presentes nas edificações, visando determinar os térmitas mais freqüentes e estabelecer a relação entre a ocorrência destes insetos e a idade das edificações. As espécies mais encontradas foram: o cupim de madeira seca *Cryptotermes brevis* (Walker) e o cupim subterrâneo *C. gestroi*. Os autores constataram que o risco de infestação por cupim em São Dimas e o número de focos por edificações tenderam a aumentar com a idade das construções. Já Trevisan et al. (2003) detectaram a ocorrência de cupins subterrâneos em pedaços de madeira de cinco árvores florestais, distribuídas no Campus da Universidade Federal de Rio de Janeiro. Os autores identificaram as espécies *N. jaragué* (Holmgren), *N. minor* (Holmgren) e *C. gestroi*, as quais provocaram sérios danos em 47% das amostras de madeira. Por outro lado, em Belo Horizonte foi assinalado registro de infestações por *Coptotermes*, onde o primeiro caso de solicitação de controle foi em 1996, em casas. As infestações em casas e grandes edifícios restringem-se a algumas áreas da cidade, em particular, nos bairros de Gutierrez e Savassi (MILANO & FONTES, 2002a). Contudo Mill (1991) constatou que *C. testaceus*, *C. gestroi* e *C. niger* Snyder são pragas comuns de madeira estrutural e de uso doméstico no estado do Amazonas. No entanto Ferraz & Méndez-Montiel (2004) relataram a primeira ocorrência de *C. gestroi* no estado do Pará, na seguinte localização: (01° 21' S, 48° 13'). Todavia na região Nordeste, este cupim foi encontrado pela primeira vez em Recife, estado de Pernambuco, danificando madeiras estruturais e cabos elétricos (FONTES & VEIGA, 1998). *C. gestroi* também foi encontrado em galpões no bairro

de Jequiá (Recife-PE), danificando pilhas de paletes, pranchas e travessas de madeira. Construíram túneis de forrageio com 2m de altura nas pilhas de paletes, além de nidificar (formar ninhos) debaixo do piso, causando desníveis no piso dos galpões (FONTES & MILANO, 2002). Albuquerque et al. (2003) avaliaram a ocorrência de *C. gestroi* na área Metropolitana do Recife. Neste levantamento foram analisados 54 imóveis entre os bairros dos Aflitos, Derby, Santo Amaro, Iputinga, Espinheiro, Graças, Ipsep e Recife Antigo, sendo detectados os danos causados pelo cupim em cerca de 80% dos imóveis vistoriados. Este fato demonstra a capacidade de adaptação deste inseto ao meio urbano, onde o cupim em busca de áreas de alimentação infesta vários substratos.

O ninho de *C. gestroi* pode ser subterrâneo ou aéreo (formados em edifícios) sem contato com o solo. Este é constituído com material fibroso chamado de carton, que consiste de uma mistura de solo, madeira mastigada, saliva e excrementos. O ninho abriga as castas de ápteros (soldados e operários) e de reprodutores (alado, rei e rainha). Os soldados, responsáveis pela defesa da colônia, têm cabeça capsulada de cor marrom amarelada, provida de longas mandíbulas e de uma fontanela (poro frontal que elimina exsudato usado na defesa) (Figura 1a). Os operários têm cor amarela pálida e mandíbulas apropriadas para mastigação e, desempenham todas as funções da colônia, exceto a procriação (Figura 1b). Os alados são marrons com a cabeça marrom escura e asas translúcidas e, no exameamento (revoada), as asas são perdidas e, os alados originam o rei (6mm de comprimento e 1,5 mm de largura) ou a rainha (cor amarelo acastanhado, com 18mm de comprimento e 4mm de largura), os quais iniciam a reprodução da colônia. Quando madura, esta colônia contém milhões de indivíduos, com grande capacidade de movimentação e vorazes em infestar novos substratos (COSTA-LEONARDO et al., 1999; ZORZENON et al., 2006).

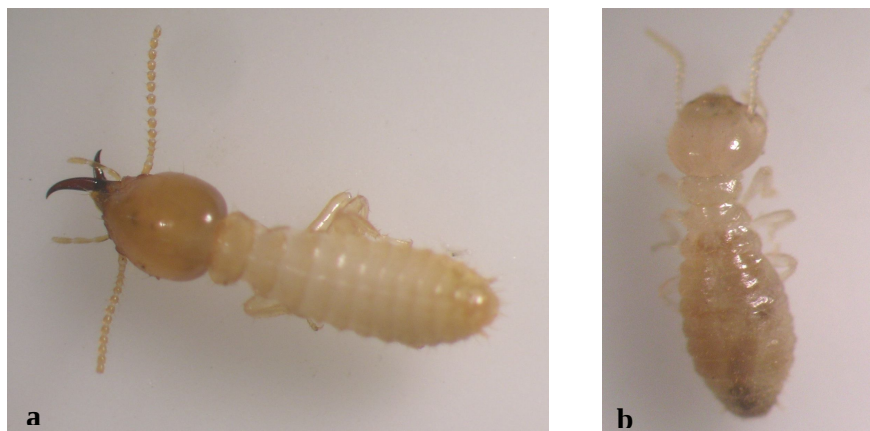


Figura 1. Soldado (a) e operário (b) de *Coptotermes gestroi*, coletados de um ninho em árvore, situada no Campus da UFPE. (50X).

Nas cidades onde ocorre, *C. gestroi* é o cupim-praga mais importante, pois em busca de madeira e seus derivados, esta espécie transita ou constrói ninhos secundários ocultos em pavimentos de edificações (porões, poços de ventilação e de elevadores, pisos, paredes, lajes duplas, caixa de eletricidade e de telefonia) (Figura 2 a e b), causando danos expressivos em construções urbanas, além de infestar árvores (Figura 3 a e b), próximas às construções (FONTES, 1995; MILANO & FONTES, 2002b). Este fato reafirma a necessidade de inspeções corretas em edificações acima do solo, onde os ninhos podem ser encontrados. O controle consiste apenas de tratamento químico do solo ao redor da construção e em geral, da aplicação do inseticida em componentes de madeira. Portanto, se o ninho permanecer na edificação, o cupim pode encontrar novos caminhos para infestar os materiais celulolíticos do local, o que explica a necessidade de re-tratamento das construções atacadas por *C. gestroi* no Brasil (LELIS, 1995). Ainda, o controle da infestação urbana por cupim subterrâneo é, atualmente, um dos maiores desafios em controle de pragas. As intervenções são dispendiosas e acarretam transtorno direto à população, além de risco de contaminação de pessoas e do ambiente, por inseticidas de longa ação residual (FONTES & ARAÚJO, 1999). No Brasil, o controle de cupins subterrâneos se tornou mais difícil com a proibição do uso de inseticidas clorados (Portaria 329 de 02/09/85 do Ministério da Agricultura) por causa do alto poder residual e dos danos ao meio ambiente. Também, a simples substituição dos clorados por outros grupos de inseticidas de menor poder residual como Fipronil e Imidacloprid (GALLO et al., 2002) e Cipermetrina, Permetrina, Deltametrina, Cyfluthrina (ZORZENON & POTENZA, 1998) não revolve o problema, além de ser economicamente inviável. Portanto a

buscar de novas alternativas para o controle desse cupim, ainda é a melhor solução e o controle microbiano surge como uma das alternativas mais promissoras e eficientes.

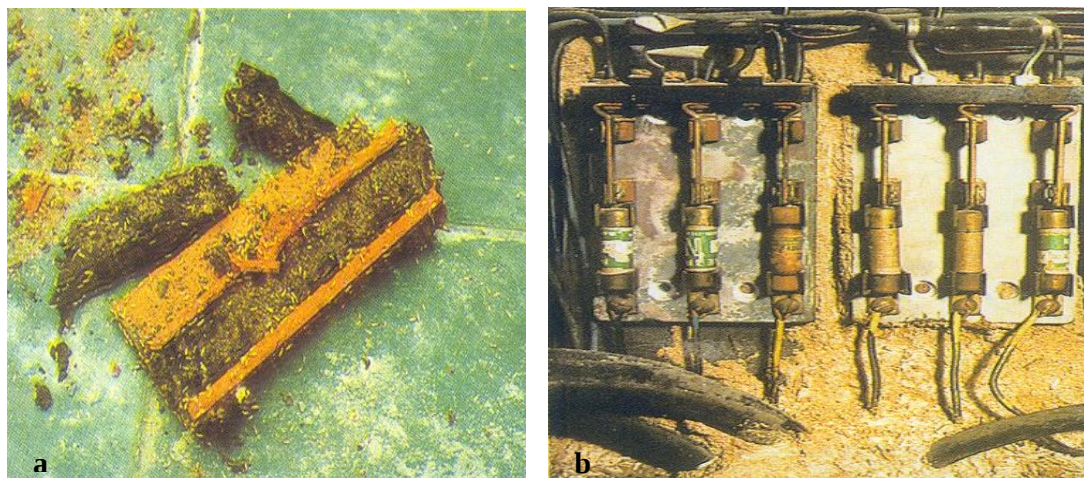


Figura 2. Ninho secundário de *Coptotermes gestroi* removido do interior de uma parede (a); danos do cupim subterrâneo em caixas e cabos elétricos (b). Fonte: Boletim Técnico do Instituto Biológico.

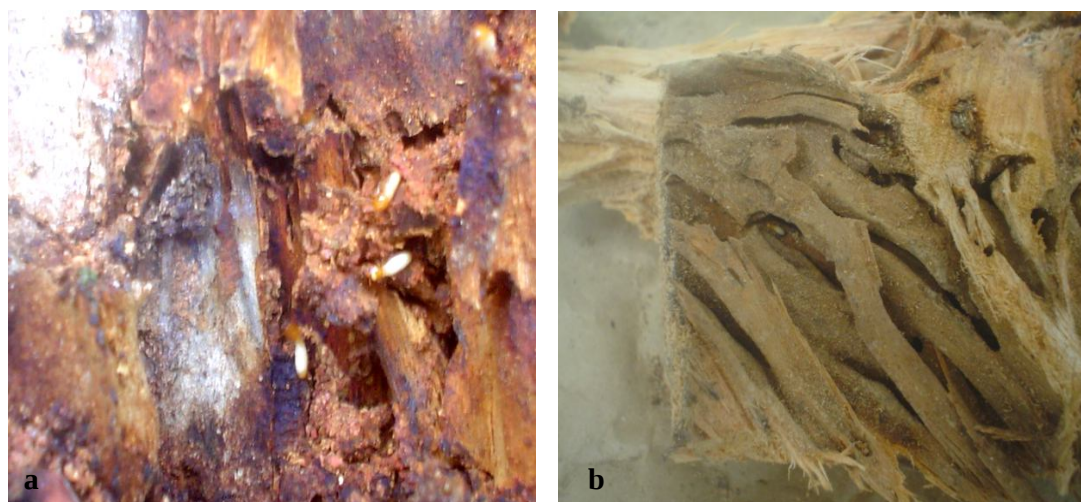


Figura 3. Ninho (a) e galerias feitas por *Coptotermes gestroi* (b), em árvores localizadas no Campus da UFPE.

2.5 Controle biológico de cupins por fungos entomopatogênicos

Os fungos são capazes de atacar insetos aquáticos, fitófagos, pragas de solo, de causar epizootias naturais, além de se destacarem como patógenos de largo espectro. Podem infectar todos os estágios do ciclo de vida do hospedeiro, penetrando por diversas vias, em especial, por meio do tegumento e têm alta capacidade de disseminação através dos esporos, os quais são levados por diferentes agentes de dispersão (ONOFRE et al., 2002).

Neste sentido, com base no potencial fúngico para controle de insetos-praga, Hanel (1981) testou a virulência de *M. anisopliae* contra os operários de *N. exitiosus* (Hill) utilizando a concentração $1,29 \times 10^7$ conídios/mL. Após 11 dias, foram mortos mais de 95% dos operários. Esses resultados mostraram que *M. anisopliae* é um agente promissor para o controle de *N. exitiosus*. Ainda, Hanel (1982) selecionou linhagens de *C. obscurus* (Hall & Dunn) Remaudiere, *Entomophthora virulenta* Hall & Dunn, *E. destruens* Weiser & Batko, *M. anisopliae* e *A. coerulea* Bainier, utilizando os seguintes critérios: infectividade sobre os operários, soldados e ninfas de *N. exitiosus*; crescimento e esporulação dos fungos em diversas temperaturas. Entre as espécies testadas, apenas *M. anisopliae* mostrou resultados satisfatórios para o controle desse cupim.

Outros estudos realizados por Lai et al. (1982) sobre a patogenicidade de linhagens de *B. bassiana*, *Beauveria* sp. e *M. anisopliae* contra operários de *C. formosanus*, através da determinação dos valores da DL_{50} e do TL_{50} , mostraram que *M. anisopliae* foi mais eficiente do que *B. bassiana* no controle de *C. formosanus*, sendo *M. anisopliae* MM773 a mais patogênica entre as linhagens testadas. Contudo trabalhos no campo feitos por Fernandes & Alves (1992), com isolados selecionados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* para o controle de *C. cumulans*, utilizando a formulação de 5g de conídios, aplicada em cada colônia, indicaram que após dez dias de exposição aos patógenos, 100% de mortalidade dos cupins e altos níveis de conidiogênese dentro dos cupinzeiros.

Também Alves et al. (1995) analisaram a eficiência de *B. bassiana* e *M. anisopliae* no controle de *C. cumulans* em pastagens, situadas em São Paulo. Os melhores resultados foram obtidos com o uso de 6g de formulação contendo 2g de conídios adicionados em arroz. Em 19 dos 20 ninhos tratados com *M. anisopliae*, 100% dos cupins foram mortos. Outras formulações foram eficientes para o controle de cupins, de modo que, a patogenicidade de *M. anisopliae* sobre *C. acinaciformis* e *N. exitiosus* foi avaliada por Rath & Tidbury (1996); com aplicações de $1,8 \times 10^7$ conídios/mL de *M. anisopliae* DATF001 e $1,2 \times 10^8$ conídios/mL de *M.*

anisopliae ATCC62176, sobre a superfície dorsal dos operários e, obtiveram 100% de mortalidade, após quatro dias de inoculação. Estes resultados mostraram a eficiência das formulações no controle desses térmitas.

A suscetibilidade dos cupins *C. acinaciformis* e *N. exitiosus*, foi testada para *M. anisopliae* FI610 sobre umidade relativa abaixo de 86%. Os estudos mostraram que não houve efeito consistente da umidade sobre a patogenicidade, mas a esporulação nos cadáveres dos insetos ocorreu apenas em umidade acima de 93%. Assim, o microclima em torno dos cupins vivos foi suficiente para promover a infecção em condições de campo, sendo a umidade um fator limitante para a eficiência do fungo no controle dos cupins (MILNER et al., 1997).

Pesquisas foram realizadas na Austrália, visando o controle dos cupins *C. frenchi* (Hill), *C. acinaciformis* e *N. exitiosus* por *M. anisopliae* (MILNER et al., 1998). Os autores testaram, *in vitro*, 93 isolados do patógeno e selecionaram *M. anisopliae* FI610, por apresentar características desejáveis para o controle dos térmitas, tais como: alta patogenicidade, crescimento a 36°C, estabilidade genética e ótima esporulação. Esse isolado também foi eficiente quando aplicado (3×10^{11} conídios/mL) no campo, contra colônias de *C. acinaciformis*.

O setor de Patologia e Controle Microbiano de Insetos da ESALQ desenvolveu o método de iscas atrativas (Temitrap), nas quais são inseridos fungos entomopatogênicos virulentos aos cupins, associados ou não a inseticidas, também eficazes no controle dos insetos. Experimentos de campo têm demonstrado que uma unidade de isca pode atrair até milhares de operários e soldados. Estes são estressados pelo inseticida, tornando-se mais vulneráveis ao patógeno. Após a morte do inseto, o fungo é facilmente dispersado, através dos esporos, a outros cupins existentes na área de alimentação (ALVES, 1998). Como a mesma finalidade, Almeida et al. (1998) avaliaram o controle de *H. tenuis* através de iscas Temitrap, impregnadas com baixas concentrações de inseticidas (Imidacloprid e WG), sozinho ou associado a *B. bassiana* 634. A pesquisa foi realizada na Fazenda São José, em Rio Claro, São Paulo. Os tratamentos com os inseticidas associados ao fungo foram os mais eficientes, pois apresentaram mortalidade de 100% após oito dias da inoculação, e esta combinação, não causou repelência ao inseto. Esta técnica pode tornar viável o uso de fungos entomopatogênicos no controle de térmitas, contribuindo para a redução dos danos ao homem e ao meio ambiente.

Rath (2000) enfatiza que a organização social dos cupins é um fator essencial na disseminação de fungos dentro da colônia, facilitando assim, o controle desses insetos por

meio do tratamento das áreas de alimentação. Mas, a ação defensiva destes insetos, como: a remoção e o isolamento dos espécimes infectados por fungos, enterramentos dos cupins mortos junto com componentes inibidores e secreções defensivas, pode limitar a disseminação desses patógenos dentro da colônia.

Rosengaus et al. (2000) estudaram as propriedades antifúngicas dos principais componentes terpenóides das secreções da glândula frontal de soldados nasutos, por meio da incubação de suspensões de conídios de *M. anisopliae* com as substâncias α -pinene e limonene, em diferentes concentrações. Os bioensaios *in vitro* mostraram que estas substâncias reduziram a germinação dos conídios através do contato direto ou indireto (vapor). Testes foram realizados com *N. costalis* (Holmgren), *N. nigriceps* (Halderman) e *C. formosanus* para determinar se essas secreções agiram contra infecções fúngicas. As espécies de *Nasutitermes* foram menos suscetíveis a infecção, provavelmente devido às propriedades antifúngicas do α -pinene e do limonene, utilizadas pelos cupins na defesa química, enquanto os soldados de *C. formosanus* contaram apenas com a defesa mecânica. As substâncias também foram testadas em grupos compostos pelas castas de soldados e operários e grupos formados por apenas uma casta. Os resultados indicaram que a composição dos grupos e a interação social dos cupins têm um papel importante na determinação da suscetibilidade à infecção fúngica.

Sun et al. (2002) quantificaram a esporulação de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre operários de *C. formosanus*. Os autores classificaram os fungos em dois grupos distintos: os isolados de *B. bassiana* foram incluídos no grupo com alta esporulação total (11 dias) e baixa velocidade de esporulação (dois e três dias), enquanto os isolados de *M. anisopliae* formaram outro grupo, por apresentar alta velocidade de esporulação e baixa esporulação total. Essas características podem dar vantagem a *M. anisopliae* sobre *B. bassiana* no controle de cupins, devido ao comportamento social de defesa desses insetos. Ainda, a produção de conídios foi significativamente maior *in vitro* do que *in vivo* e mostrou correlação positiva, permitindo testes preliminares *in vitro* de muitos isolados, para se obter uma maior esporulação *in vivo*.

Wright et al. (2002) avaliaram a disseminação e a eficiência, *in vitro*, de *M. anisopliae* e *B. bassiana* entre operários do cupim subterrâneo *C. formosanus*, provenientes de quatro ninhos do campo, por contato direto destes com as culturas fúngicas. Os cupins expostos aos fungos foram depois associados ao mesmo número de insetos não expostos. A mortalidade dos cupins foi determinada uma semana depois da exposição, sendo *B. bassiana* mais eficiente, apresentando maior percentual de mortalidade do que *M. anisopliae*.

Estudos feitos em laboratório e campo demonstraram a eficiência de *M. anisopliae* F1610 no controle dos cupins *C. lacteus* (Froggatt) e *N. exitiosus*. Fatores comportamentais são responsáveis por limitar a dispersão de epizootias dentro das colônias dos térmitas; mas testes de campo têm mostrado que, quando quantidades suficientes de conídios são bem distribuídas na área central do cupinzeiro (centro de reprodução), são eficientes na mortalidade das colônias de *C. lacteus* e de *N. exitiosus*. A repelência dos térmitas às iscas utilizadas é um fator limitante para o controle. Os autores usaram dois métodos para minimizar a repelência. No primeiro método foram utilizados isolados menos repelentes e moderadamente virulentos. O segundo consistiu na utilização de várias formulações para evitar a repelência. Formulações aquosas de *M. anisopliae* F1610 mostraram resultados promissores (MILNER, 2003).

O efeito da virulência, esporulação e temperatura na transmissão *in vitro* de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre *C. formosanus*, foi analisado por Sun et al. (2003). Em isolados de *M. anisopliae*, a esporulação teve maior efeito que a virulência na produção de epizootias, o que não ocorreu com *B. bassiana*. Entretanto *M. anisopliae* F3045, que apresentou alta virulência e esporulação, causou maior mortalidade aos cupins, quando comparado com as outras linhagens, sendo esta combinação eficiente na transmissão dos patógenos. Na temperatura de 35°C, a germinação e a transmissão fúngica foram significativamente reduzidas e, *M. anisopliae* foi o mais eficiente em causar epizootias a 27°C. Portanto, outras características, além da virulência, tais como esporulação e tolerância à temperatura podem determinar o sucesso dos fungos entomopatogênicos no controle de cupins e de outros insetos-praga.

Wang & Powell (2003) isolaram seis linhagens de *B. bassiana* de *Reticulitermes flavipes* Kollar e de *C. formosanus*, na China. Os autores avaliaram a patogenicidade dessas linhagens e compararam com *B. bassiana* ATCC20367, que foi isolada do inseto *L. decemlineata*. Todas as linhagens causaram mortalidade aos cupins entre o 4º e o 8º dia, após inoculação, não apresentando diferenças significativas entre as mesmas. Em seguida, a virulência das seis linhagens de *B. bassiana* e das duas de *M. anisopliae* sobre operários de *R. flavipes* foi comparada, tendo *M. anisopliae* causado maior patogenicidade ao cupim.

Wright et al. (2003) patentearam linhagens das espécies *P. javanicus* (Friederichs & Bally) Brown & Smith e *P. fumosoroseus* para o controle dos cupins subterrâneos. Estas produzem grande quantidade de inóculos (conídios e blastosporos) em meios sólidos, fáceis e baratos de serem preparados. Também, não são repelentes, sendo facilmente disseminadas entre os indivíduos da colônia, causando rápida mortalidade. *P. javanicus* ARSE7322 e *P.*

fumosoroseus ARSE73581 foram mais eficientes no controle dos cupins *R. flavipes* e *C. formosanus*, sendo também eficazes na proteção de árvores, madeira, estruturas de madeira e outros materiais celulolíticos, contra infestações e danos causados pelos cupins.

A descrição do desenvolvimento externo de *M. anisopliae* e *B. bassiana* em operários e soldados de *C. cumulans* foi analisado por Neves & Alves (2004), através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), observando o tempo de duração das fases de infecção fúngica. O desenvolvimento dos fungos foi similar, no entanto a colonização e a conidiogênese foram mais rápidas para *B. bassiana* do que para *M. anisopliae*, não apresentando diferenças na germinação e na penetração dos mesmos. A mortalidade superior a 80%, entre 48 e 72h após a inoculação indicaram a alta virulência de *B. bassiana*.

Wang & Powell (2004) testaram a eficiência de *M. anisopliae* SRRC2558 (isolado de *C. formosanus*) contra os cupins *C. formosanus* e *R. flavipes*, *in vitro* e compararam com outras três linhagens de *M. anisopliae*. Verificaram que *M. anisopliae* SRRC2558 foi altamente patogênica contra os cupins, matando 100% dos operários de *R. flavipes*, em recipientes com meio vermiculita/areia. Entretanto, tratamentos com concentrações superiores a $1,5 \times 10^7$ causaram repelência aos operários. Tratamentos com iscas de celulose contendo *M. anisopliae* SRRC2558, nas concentrações $1,5 \times 10^8$ e 3×10^8 conídios/mL, causaram 100% de mortalidade para os grupos de operários de *R. flavipes* e de *C. formosanus*, não sendo repelentes aos cupins. Assim, o uso de iscas de celulose associadas às linhagens virulentas pode ser um método promissor no controle de cupins subterrâneos.

A ação dos entomopatógenos *M. anisopliae* var. *anisopliae* e *M. anisopliae* var. *acridum* Driver, Milner & Trueman contra *N. coxipoensis* e a esporulação sobre os insetos mortos foram avaliadas em condições de laboratório. Os cupins (soldados e operários) foram infectados por contato direto com as culturas fúngicas, após 12 dias de crescimento, a partir das doses (conídios/mL) preestabelecidas. Após três dias de inoculação, *M. anisopliae* var. *anisopliae* apresentou percentual de mortalidade de 95,7% (dose A: $0,5 \times 10^6$) e 100% (dose B: $1,6 \times 10^7$), enquanto *M. anisopliae* var. *acridum* causou mortalidade de 66,4% (dose A: $1,4 \times 10^5$) e 88% (dose B: $1,8 \times 10^6$). A produção de conídios foi mais significativa para *M. anisopliae* var. *anisopliae*. Esses resultados indicaram o maior potencial de *M. anisopliae* var. *anisopliae* para o controle de *N. coxipoensis* (ALBUQUERQUE et al., 2005).

Meikle et al. (2005) coletaram três isolados de *B. bassiana* e um isolado de *P. fumosoroseus* de espécimes de *C. formosanus*, provenientes de Hong Kong, China. Em bioensaios preliminares, *P. fumosoroseus* Pfu02031 foi o mais eficiente entre os isolados, matando 100% dos insetos. Em seguida, este isolado, junto com o isolado comercial *M.*

anisopliae (Bioblast) foram testados contra *C. formosanus*, em condições de laboratório. Nos experimentos em que todos os cupins foram pulverizados, não houve diferença significativa entre os fungos. Entretanto, quando os cupins infectados foram agrupados com os não infectados, *P. fumosoroseus* Pfu02031 foi mais patogênico, apresentando menor média de sobrevivência dos insetos. Ainda, a esporulação deste isolado nos cadáveres dos cupins agrupados e não agrupados foi superior a *M. anisopliae*, sendo este o mais apropriado para os testes de biocontrole do cupim no campo.

Wright et al. (2005) avaliaram a eficiência de *M. anisopliae* C4-B (isolado de alados de *C. formosanus*) sobre operários e alados de *C. formosanus* e, compararam com o isolado comercial *M. anisopliae* ESC1. O isolado *M. anisopliae* C4-B foi mais patogênico, causando 100% de mortalidade sobre os alados e operários. Ao testar a transferência deste isolado de operários infectados para os não infectados, os autores observaram que 62,8% dos operários morreram, sendo que apenas 20% destes foram expostos ao fungo. Esse isolado também mostrou eficiência ao ser aplicado em campo contra os alados, causando 100% de mortalidade. Este foi o primeiro registro do uso de fungos entomopatogênicos para o controle, *in vitro* e no campo, de alados sendo este controle importante, pois esta casta é responsável pela fundação de novas colônias.

Yanagawa & Shimizu (2007) examinaram a suscetibilidade de *C. formosanus* a *M. anisopliae* em condições de laboratório. Quando tratados individualmente, os cupins foram altamente suscetíveis ao fungo, nas concentrações $4,2 \times 10^6$ e $5,1 \times 10^6$ conídios/mL, causando 100% após quatro dias de inoculação. Entretanto, quando os operários foram agrupados a mortalidade atingiu apenas 40 e 30% dos insetos, mostrando assim a resistência destes a *M. anisopliae*. Também os autores observaram que, 80% dos conídios foram removidos da cutícula dos cupins agrupados após três horas de inoculação, através do processo de limpeza (grooming), protegendo-os da infecção fúngica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os testes experimentais *in vitro* foram realizados nos Laboratórios de Controle Biológico e de Citologia e Genética de Fungos Filamentosos do Departamento de Micologia, do Centro de Ciências Biológicas (CCB), da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e no Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

3.1 Linhagens fúngicas

As linhagens de *P. farinosus* foram obtidas da Coleção de Fungos da Micoteca (URM), do Departamento de Micologia da UFPE (Tabela 1).

Tabela 1. Origem das linhagens de *Paecilomyces farinosus* utilizadas no trabalho.

Nº de acesso Micoteca	Localidade	Hospedeiro	Ano de registro
URM4993	Rio Grande do Sul	Coleoptera	2005
URM4995	Rio Grande do Sul	Coleoptera	2005

3.2 *Coptotermes gestroi*

Os espécimes do cupim foram coletados de dois cupinzeiros localizados em duas árvores (Figura 4), situadas no Campus da UFPE. Fragmentos das árvores foram cortados com auxílio de uma moto-serra, transferidos para potes plásticos e levados para o Laboratório de Controle Biológico/UFPE. O material foi processado, sendo os operários selecionados para o bioensaio de infecção (Figura 5).



Figura 4. Ninhos de *Coptotermes gestroi* em duas árvores, no Campus da UFPE.



Figura 5. Operários de *Coptotermes gestroi* sobre fragmento de madeira, selecionados para o bioensaio de infecção.

3.3 Meio de Cultura

- Sabouraud (SAB)

Peptona de carne 10g
Dextrose..... 40g
Ágar20g
Água destilada1000 mL

O pH foi ajustado para 5,6 com solução de NaOH ou de HCl 1N e o meio foi autoclavado a 120°C por 15 minutos.

- Sabouraud mais antibiótico

Ao SAB foi adicionado 1mL da solução de Cloranfenicol (Cloranfenicol - 500µg dissolvido em 10mL de álcool etílico) autoclavado a 120°C por 15 minutos.

3.4 Soluções utilizadas

3.4.1 Solução Tween 80 (0,05 % v/v)

Tween 80 0,1mL
Água destilada..... 200mL

A solução foi autoclavada a 120°C pr 15 minutos.

3.4.2 Hipoclorito de sódio a 4%

- Comercial

3.4.3 Álcool a 70%

Álcool etílico70mL
Água destilada autoclavada.....30mL

3.4.5 Etanol a 75%

Álcool etílico75mL

Água destilada autoclavada.....25mL

3.5 Bioensaios

Os bioensaios foram elaborados para avaliar a patogenicidade das linhagens *P. farinosus* sobre operários de *C. gestroi*, sendo mantidos em BOD a 25 ± 1 °C e umidade relativa de $80 \pm 10\%$.

3.5.1 Produção de conídios

As linhagens de *P. farinosus* foram cultivadas em SAB durante 12 dias. Em seguida os conídios foram contados em câmara de Neübauer e obtida uma suspensão de 10^8 conídios/mL. A suspensão foi inoculada em sacos de polipropileno contendo 100g arroz parboilizado, umedecido com 50 mL água destilada e previamente autoclavado, Após a inoculação foi realizada a homogeneização do arroz contido nos sacos e incubados em BOD a 25° C. Após 12 dias de crescimento foram preparadas suspensões nas concentrações necessárias para os bioensaios de acordo com Vilas Boas et al. (1996).

3.5.2 Quantificação do inóculo

Após 12 dias os conídios foram contados em câmara de Neübauer, conforme a metodologia utilizada por Alves & Moraes (1998). Um grama de arroz contendo o fungo foi homogeneizado em Erlenmeyer com 100 mL de solução Tween 80 (0,05% v/v). Após agitação em Vortex, a suspensão foi quantificada e ajustada para uma concentração de 10^8 conídios/mL. A partir desta, foram efetuadas diluições sucessivas até se obter as concentrações 10^7 , 10^6 , 10^5 e 10^4 conídios/mL.

3.5.3 Infecção *in vitro* de *Coptotermes gestroi*

O bioensaio foi realizado em triplicata, com seis tratamentos constituídos de um grupo controle contendo água destilada com Tween 80 (0,05%) e de cinco tratamentos com

concentrações de 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/mL de cada linhagem fúngica. Para cada concentração testada, foram utilizadas cinco repetições e a unidade experimental constituída por 10 cupins (operários). Os espécimes foram imobilizados por 1 minuto à temperatura de -2°C , manipulados com pincéis e, pulverizados (pulverizador manual De Vilbiss nº 15) com 0,5 mL de cada suspensão. Após a inoculação, os cupins foram transferidos para placas de Petri forradas com papel filtro umedecido e com um pedaço de madeira, que serviu de abrigo e alimento. As placas foram mantidas em BOD (25°C e 80%UR). Foram realizadas observações diárias para remover e contabilizar o número de insetos mortos para determinação do percentual de mortalidade e dos valores de CL_{50} e do TL_{50} (concentração e tempo letal para matar 50% dos indivíduos tratados). Os cupins foram mantidos em câmara úmida, para serem utilizados nos experimentos:

3.5.4 Produção de conídios de *Paecilomyces farinosus* obtidos de cadáveres de *Coptotermes gestroi*

A esporulação de *P. farinosus* sobre *C. gestroi* foi determinada utilizando os insetos mortos dos bioensaios. Quatro operários expostos à concentração 10^8 conídios/mL, 12 dias após a morte foram imersos em tubos de ensaio contendo 4 mL de solução Tween 80 (0,05%). Os tubos foram agitados por três minutos em Vortex, em seguida foi efetuada a quantificação dos conídios em câmara de Neübauer. Foram realizados três bioensaios compostos por cinco repetições cada.

3.5.5 Reisolamento do fungo de *Coptotermes gestroi*

Uma parcela de cupim colonizado pelo fungo foi imersa em álcool a 70% por três minutos, em solução hipoclorito de sódio a 4% por dois minutos e em água destilada autoclavada por três minutos, conforme Alves et al. (1998). Em seguida, os insetos foram secados em papel filtro autoclavado, transferidos para câmara úmida e incubados em BOD (25°C e 80%UR) até a esporulação. Após 12 dias, as estruturas do patógeno foram semeadas em placa de Petri, contendo SAB acrescido de antibiótico (cloranfenicol); após o crescimento micelial, inóculo de cada linhagem foi transferido para tubos de ensaio por 12 dias, para posterior análise dos aspectos biológicos.

3.6 Parâmetros biológicos de *Paecilomyces farinosus*

3.6.1 Germinação de conídios

Fragmento da cultura fúngica (reisolada e não reisolada) com 12 dias de crescimento foi transferido para tubo de ensaio contendo 10 mL de Tween 80 (0,05%), sendo o número de conídios quantificados em câmara de Neübauer até a obtenção de uma suspensão de 10^8 conídios/mL. Desta suspensão, 0,1mL foi espalhada com alça de Drigalsky em placas de Petri, em quintuplicada, contendo SAB e incubadas em (25°C e 80%UR). O percentual de germinação foi determinado, contando-se 500 conídios (entre os germinados e não germinados) por placa, às 16 horas após a semeadura, utilizando a seguinte fórmula:

$$G = \frac{n \times 100}{500}$$

Onde **G** e **n** equivale ao percentual de germinação e ao número de conídios germinados, respectivamente, conforme o protocolo de Alves & Pereira (1998).

3.6.2 Esporulação

Fragmento da cultura fúngica (reisolada e não reisolada) com 12 dias de crescimento foi transferido para tubo de ensaio contendo 10 mL de Tween 80 (0,05%), sendo o número de conídios quantificados em câmara de Neübauer para a obtenção de uma suspensão de 10^8 conídios/mL. Desta suspensão, 0,1mL foi espalhada com alça de Drigalsky em placas de Petri, em quintuplicada, contendo SAB e incubadas em BOD (25°C e 80%UR). Após 3, 6, 9 e 12 dias de crescimento, foram adicionados às placas 5mL de uma solução de etanol a 75%, para matar e secar os conídios. As placas foram lavadas dez vezes com 10 mL de solução Tween 80 (0,05%). O lavado foi coletado em frasco de Erlenmeyer de 250 mL, agitado por cinco minutos e quantificado em câmara de Neübauer.

3.6.3 Crescimento radial

Disco de 5 mm da cultura fúngica (reisolada e não reisolada) foi transferido para o centro de uma placa de Petri com SAB. As placas foram incubadas em BOD (25°C e 80%UR) e, em intervalos de 0-3, 3-6, 6-9 e 9-12 dias foi feita a mensuração do diâmetro da colônia,

com auxílio de uma régua milimetrada, conforme Domsch & Gams (1993). Foram efetuadas cinco repetições.

3.6.4 Análise de microestruturas

Fragmento do crescimento fúngico (reisolado e não reisolado) foi transferido para quatro pontos eqüidistantes de uma placa de Petri com SAB. Os inóculos foram cobertos por lamínulas, previamente flambadas. As placas foram incubadas em BOD (25°C e 80%UR) e, às 24, 48, 72 e 96 horas, as lamínulas foram retiradas e coradas com azul de Amann e observadas ao microscópio óptico para análise das estruturas fúngicas, segundo Domsch & Gams (1993).

3.7 Análise estatística

A análise de Probit (Programa POLO PC) foi utilizada para obtenção dos valores da CL₅₀ e do TL₅₀. Para a análise dos demais experimentos, foi usado o teste F (ANOVA). No caso de diferença significativa na aplicação da ANOVA, foi utilizado o teste de Duncan (Programa SAEG na versão 5.0) a 5% de probabilidade, para comparação pareadas das médias (EUCLYDES, 1983).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Patogenicidade de *Paecilomyces farinosus* sobre *Coptotermes gestroi*

Os operários de *C. gestroi* foram suscetíveis às linhagens de *P. farinosus*, as quais apresentaram alta patogenicidade nos diferentes tratamentos, diferindo estatisticamente do grupo controle, onde não foi observada mortalidade causada pelo fungo (Tabela 2). *P. farinosus* URM4993 foi significativamente mais patogênica a *C. gestroi* nos tempos analisados, atingindo no 6º dia de inoculação, mortalidade de 89,33 e 100%, nos tratamentos com as concentrações 10^7 e 10^8 conídios/mL, respectivamente, diferindo entre si, das outras concentrações e da linhagem *P. farinosus* URM4995, que apresentou percentual de 66,67 e 78% nas concentrações mencionadas. Também, o percentual de mortalidade do grupo controle foi discreto (8,67%) e, em ambas linhagens foi constatada diferença significativa entre o controle e os tratamentos à partir da concentração 10^5 conídios/mL. No 9º dia de exposição, *P. farinosus* URM4993 causou 100% de mortalidade na concentração 10^7 conídios/mL, diferindo estatisticamente de *P. farinosus* URM4995, que matou 87,33% dos insetos tratados com a mesma concentração e alcançou 100% de mortalidade na concentração 10^8 conídios/mL. Após o 12º dia de inoculação, 100% dos insetos foram mortos a partir da concentração 10^6 conídios/mL com *P. farinosus* URM4993, enquanto *P. farinosus* URM4995, o mesmo foi evidenciado com a concentração 10^7 conídios/mL. Estes resultados concordam com os obtidos por Loureiro & Monteiro (2005) quando estudaram a ação patogênica de *P. farinosus* contra a formiga *A. sexdens sexdens*, em concentrações que variaram de 10^6 , 10^7 , 10^8 e 10^9 conídios/mL, obtendo mortalidade acumulada de 100%, na concentração 1×10^9 conídios/mL, após quatro dias de inoculação. Ainda, Wright et al. (2002) ao utilizarem duas linhagens de *B. bassiana* (26037 e 90519) sobre *C. formosanus*, em testes de laboratório, verificaram que 100% dos operários morreram após sete dias de exposição ao patógeno, utilizando o método de infecção através do contato direto com a cultura fúngica, demonstrando assim a suscetibilidade do gênero *Coptotermes* a vários fungos entomopatogênicos. Por outro lado Wright et al. (2005) constataram a mortalidade de 100% dos operários de *C. formosanus* em 14 dias, por *M. anisopliae* C4-B em bioensaios utilizando a concentração 2×10^6 conídios/mL, sendo o tempo de mortalidade do inseto superior ao encontrado neste trabalho, mostrando assim, a eficaz capacidade das linhagens de *P. farinosus* em infectar e controlar o cupim subterrâneo.

Tabela 2. Percentagem média de mortalidade acumulada de *Coptotermes gestroi* em diferentes dias após a infecção por *Paecilomyces farinosus*.

Tratamento	3 dias		6 dias		9 dias		12 dias	
	URM4993	URM4995	URM4993	URM4995	URM4993	URM4995	URM4993	URM4995
Controle	3,33 C,a	3,33 D,a	8,67 E,a	8,67 D,a	11,33 E,a	11,33 F,a	15,33 D,a	15,33 E,a
10 ⁴	6, 67 C,a	3,67 D,a	21,33 E,a	15,33 D,a	37,33 D,a	32,67 E,a	54,67 C,a	48,00 D,b
10 ⁵	14,67 C,a	11,33 CD,a	40,00 D,a	33,33 C,a	58,00 C,a	50,67 B,a	73,33 B,a	59,33 C,b
10 ⁶	33,33 B,a	21,33 BC,a	55,33 C,a	53,33 B,a	89,33 B,a	78,00 C,b	100,00 A,a	93,33 B,b
10 ⁷	48,67 A,a	30,67 AB,b	89,33 B,a	66,67 AB,b	100,00 A,a	87,33 B,b	100,00 A,a	100,00 A,a
10 ⁸	62,00 A,a	43,33 A,b	100,00 A,a	78,00 A,b	100,00 A,a	100,00 A,a	100,00 A,a	100,00 A,a
CV(%)	20,30		14,12		6,58		3,00	

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan (P= 0,05).

Os resultados expostos na Tabela 2 mostram a ação patogênica de *P. farinosus* sobre *C. gestroi*, havendo maiores índices de mortalidade desse inseto com o aumento da concentração utilizada, superiores a 50% após 12º dia de observação. Por se tratar de um entomopatógeno, esses valores são elevados e promissores para o controle de insetos, pois segundo Lecuona et al. (2001), os fungos entomopatogênicos são considerados eficazes quando apresentam valores de mortalidade acima de 40% para as pragas estudadas. Ainda comparando a mortalidade acumulada dos operários causadas pelas linhagens, observa-se que *P. farinosus* URM4993 foi mais virulenta, provocando a morte dos insetos em menor tempo, sugerindo maior eficiência no controle *in vitro* do cupim subterrâneo.

4.2 Avaliação da Concentração Letal e Tempo Letal de *Paecilomyces farinosus* sobre operários de *Coptotermes gestroi*

Através da análise de Probit determinou-se a CL_{50} e o TL_{50} das linhagens de *P. farinosus*, considerando os resultados da mortalidade sobre os cupins nas diferentes concentrações utilizadas. O logaritmo do máximo valor da função de verossimilhança calculou os dados das estimativas dos parâmetros e consequentemente as equações de regressão para cada tratamento. Ainda, os valores do X^2 calculados comprovaram a adequação de todos os dados ao modo matemático da análise.

Paecilomyces farinosus URM4993 apresentou CL_{50} de $4,86 \times 10^5$ conídios/mL, sendo este valor inferior ao apresentado por *P. farinosus* URM4995, que demonstrou CL_{50} de $2,19 \times 10^6$ conídios/mL, comprovando assim, a maior patogenicidade de *P. farinosus* URM4993 sobre os operários de *C. gestroi* (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados por Hanel (1981) quando testou a patogenicidade de *M. anisopliae* a *N. exitiosus* (Hill) utilizando concentrações de $1,29 \times 10^7$ e $1,29 \times 10^3$ conídios/mL e, verificou CL_{50} com valores de $5,13 \times 10^5$ e $3,56 \times 10^4$ conídios/mL após oito e 11 dias, respectivamente. No entanto Milner et al. (1998) avaliaram a patogenicidade de isolados de *M. anisopliae* contra *N. exitiosus* e *C. acinaciformis*, e verificaram que *M. anisopliae* FI-607 apresentou CL_{50} com valores de $11,43 \times 10^3$ e $0,63 \times 10^3$ conídios/mL para operários de *N. exitiosus* e *C. acinaciformis*, respectivamente. Milner et al. (1997) também analisaram a eficiência de *M. anisopliae* FI-610 contra operários de *N. exitiosus* e de *C. acinaciformis* e, obtiveram CL_{50} de $7,9 \times 10^6$ e de $5,8 \times 10^5$ conídios/mL, para as espécies de cupins.

Tabela 3. Concentração Letal de *Paecilomyces farinosus* sobre *Coptotermes gestroi*.

Linhagem	CL ₅₀ (IC 0,05)* conídios/mL	Equação de regressão	χ^2 **
URM4993	4,86x10 ⁵ (1,48x10 ⁵ - 2,08x10 ⁶)	Y= 0,254+0,8345*logX	4,48
URM4995	2,19x10 ⁶ (7,07x10 ⁵ - 6,31x10 ⁶)	Y= 1,931+0,484*logX	0,98

*Intervalo de confiança significativo a 5%.

** Calculado pelo Probit.

Os valores da TL₅₀ confirmaram a ação patogênica das linhagens de *P. farinosus* sobre *C. gestroi* quando apresentaram valores decrescentes, com o aumento da concentração dos conídios, nas soluções utilizadas. Desse modo, quanto mais elevada for a concentração conidial empregada, maior será a variação de mortalidade entre os tratamentos, justificando a importância da determinação da TL₅₀ e do intervalos de confiança, com as variações mínimas e máximas para a análise de patogenicidade das linhagens testadas (Tabela 4).

Paecilomyces farinosus URM4993 foi mais virulenta que *P. farinosus* URM4995, fato evidenciado pela menor TL₅₀ observado em todas as concentrações testadas. Os valores de TL₅₀ se correlacionaram positivamente com a CL₅₀ e com os percentuais de mortalidade, sendo a concentração 10⁸ conídios/mL mais eficiente para as duas linhagens, com TL₅₀ de 2,26 e 3,04 dias para *P. farinosus* URM4993 e *P. farinosus* URM4995, respectivamente, mostrando assim, a maior eficiência de *P. farinosus* URM4993 no controle *in vitro* de *C. gestroi* e, esta pode ser utilizada em futuros programas de controle biológico no campo, desta praga urbana. Loureiro & Monteiro (2004) obtiveram resultados similares quando avaliaram a patogenicidade de *P. farinosus* G189 contra operárias de *A. sexdens sexdens* e determinaram TL₅₀ de 2,64 dias, ao utilizarem a concentração de 10⁸ conídios/mL. No entanto Wright et al. (2002) que avaliaram a eficiência de *M. anisopliae* EC1 sobre operários de *C. formosanus* em bioensaios por meio de contato direto com insetos e observaram que a linhagem causou 100% de mortalidade após 15 dias de inoculação, com TL₅₀ de 6 dias.

A determinação da CL₅₀ em experimentos com entomopatógenos é um importante parâmetro biológico quando aplicado adequadamente (ALVES et al., 1998), visto que o pontecial do fungo consiste na estimativa da CL₅₀, sendo este parâmetro mais eficiente para

testes de seletividade do patógeno ao inseto alvo. Segundo Silva et al. (2003) o TL_{50} é utilizado como um parâmetro auxiliar na determinação da virulência, na qual é mais importante a redução populacional da praga do que a rapidez desse processo de infecção.

Tabela 4. Tempo Letal de *Paecilomyces farinosus* sobre *Coptotermes gestroi*.

Linhagem	Concentração (conídios/mL)	TL_{50} (IC 0,05) *	Equação de regressão	χ^2 **
URM4993	10^8	2,26 (1,94 -2,57)	$Y = 3,3415 + 4,493 \cdot \log X$	14,5
	10^7	2,69 (2,32-3,04)	$Y = 3,3415 + 3,856 \cdot \log X$	12,9
	10^6	4,18 (3,32-5,01)	$Y = 2,9692 + 3,2683 \cdot \log X$	34,9
	10^5	7,51 (6,8 -8,4)	$Y = 2,7812 + 2,533 \cdot \log X$	4,60
	10^4	11,65 (10,29-13,87)	$Y = 2,0005 + 2,808 \cdot \log X$	0,84
URM4995	10^8	3,04 (2,52-3,52)	$Y = 3,3083 + 3,5047 \cdot \log X$	19,54
	10^7	3,725 (2,93-4,48)	$Y = 3,2562 + 3,0518 \cdot \log X$	31,25
	10^6	5,11 (4,43-5,81)	$Y = 2,9741 + 2,8592 \cdot \log X$	15,46
	10^5	9,36 (8,33-10,85)	$Y = 2,6721 + 2,3958 \cdot \log X$	1,41
	10^4	12,53 (11,04-15,07)	$Y = 1,6187 + 3,0794 \cdot \log X$	14,55

*Intervalo de confiança significativo a 5%.

** Calculado pelo Probit.

4.3 Produção de conídios de *Paecilomyces farinosus* obtidos de cadáveres de *Coptotermes gestroi*

A tabela 5 apresenta a esporulação de *P. farinosus* sobre cadáveres de operários de *C. gestroi* e mostra que não houve diferença significativa entre as linhagens utilizadas, sendo evidenciada uma alta esporulação sobre os insetos tratados. A produção de conídios sobre o cupim subterrâneo apresentou médias de $1,48 \times 10^7$ e $1,08 \times 10^7$ conídios/mL, para *P. farinosus* URM4993 e *P. farinosus* URM4995, respectivamente, sendo ambas eficientes para a produção de conídios sobre *C. gestroi*. Estes resultados são próximos aos obtidos por Albuquerque et al. (2005) quando estudaram a esporulação de *M. anisopliae* var. *anisopliae* sobre operários e soldados de *N. coxipoensis*, cuja média de esporulação foi de 385×10^4 e 550×10^4 conídios/mL e diferem dos de Albuquerque (2005) quando observou que *B. bassiana* foi capaz de produzir $35,62 \times 10^4$ e $65,66 \times 10^4$ conídios/mL sobre os cadáveres do cupim *N. coxipoensis*. Sun et al. (2002), em experimentos realizados sobre produção de conídios de *B. bassiana* e *M. anisopliae* sobre cadáveres de *C. formosanus* verificaram um aumento significativo da esporulação após 11º dia da morte do inseto. A produção de conídios é fator importante na disseminação e permanência de fungos entomopatogênicos em população de inseto, em especial de cupins subterrâneos, devido ao contato social, que permite a transferência do inóculo de cupins infectados para os não infectados, além de aumentar o potencial do inóculo no ambiente do hospedeiro, sendo assim, essencial para que esses patógenos sejam bem-sucedidos no biocontrole de insetos-praga no campo

Tabela 5. Produção de conídios de *Paecilomyces farinosus* sobre cadáveres de *Coptotermes gestroi* após 12 dias.

Linhagem	Esporulação (10^7 conídios/mL)
URM4993	1,48A
URM4995	1,08A
CV(%) 46,35	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan (P=0,05).

O crescimento micelial das linhagens de *P. farinosus* sobre o cadáver de *C. gestroi* foi semelhante ao descrito por Sun et al. (2002) e Albuquerque et al. (2005). Inicialmente o micélio emergiu em torno das peças bucais e antenas e em seguida nas membranas intersegmentais e ao redor das patas. O fungo iniciou o crescimento micelial no 2º dia, após a morte dos operários, apresentando micélio de aspecto ralo e hialino (Figura 6). Já no 7º dia colonizou todo inseto, apresentando micélio de aspecto cotonoso e cor branca (Figura 7). Esse comportamento foi observado nas duas linhagens.



Figura 6. Operário de *Coptotermes gestroi* colonizado (2º dia) por *Paecilomyces farinosus* URM4995. (50X).



Figura 7. Operário de *Coptotermes gestroi* colonizado (7º dia) por *Paecilomyces farinosus* URM4993. (50X).

4.4 Análise dos parâmetros biológicos de *Paecilomyces farinosus*

4.4.1 Germinação de conídios

O percentual de germinação observado não diferiu entre as linhagens, mas houve diferença significativa entre o fungo padrão e o reisolado de cada linhagem, sendo que a germinação dos conídios ocorreu após 16 horas da inoculação. Verificou-se os percentuais de 94,04 e 89,92 % para o fungo padrão e de 98,24 e 97,76% para o reisolado de *P. farinosus* URM4993 e *P. farinosus* URM4995, respectivamente (Tabela 6). Apesar dos estudos terem sido feitos com insetos diferentes, os dados obtidos se assemelham aos encontrados por Santos et al. (2002) quando analisaram a germinação de *P. lilacinus* reisolado de *B. microplus*.

Tabela 6. Germinação de conídios de *Paecilomyces farinosus* antes e após a passagem por operários de *Coptotermes gestroi*.

Tempo (horas)		Linhagem/Germinação (%)	
		URM4993	URM4995
16	P*	94,08 (B,a)	89,92 (B,a)
	R**	98,24 (A,a)	97,76 (A,a)
CV (%)	2,82		

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan (P=0,05).

* Fungo padrão (não reisolado).

**Fungo reisolado.

4.4.2 Esporulação

A produção de conídios de *P. farinosus* URM4993 diferiu estatisticamente antes e após a passagem pelo inseto a partir do 6º dia, sendo a esporulação maior para o reisolado, o que não ocorreu com *P. farinosus* URM4995 o qual não apresentou diferença significativa na produção de conídios nos períodos analisados. Verificou-se diferença estatística entre as linhagens, onde *P. farinosus* URM4993 demonstrou maior esporulação do que *P. farinosus* URM4995 (Tabela 7). Santos (2003) estudou a esporulação de *P. farinosus* reisolado de *B. microplus* e obteve respostas semelhantes às de *P. farinosus* URM4993. Também, Almeida et al. (2005), apesar de ter trabalhado com um coleóptero, obteve resultados similares na produção de conídios de *B. bassiana* reisolado de *Anthonomus grandis* (Boheman). Ainda Nascimento (2003) analisou a esporulação de *M. anisopliae* var. *anisopliae* antes e após a passagem pelas teleóginas do carrapato canino, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) e verificou que não houve diferença significativa entre o fungo padrão e o reisolado, concordando assim com resultados obtidos com *P. farinosus* URM4995, embora tenha trabalhado com fungo e hospedeiro diferentes.

A alta esporulação demonstrada pelas linhagens de *P. farinosus* concorda com os dados obtidos por Samson (1974) que observou uma esporulação ótima de *P. farinosus* em meio Ágar-Malte a 27°C e, com os de Parker et al. (2003) que encontraram boas médias de produção de conídios *in vitro*, variando entre $11,7 \times 10^7$ e $51,5 \times 10^7$ conídios/cm² para os espécimes de *P. farinosus* isolados de *E. integriceps*.

Tabela 7. Esporulação de *Paecilomyces farinosus* antes e após a passagem por operários de *Coptotermes gestroi*.

Tempo (dias)		Linhagem/Esporulação (10^7 conídios/mL)	
		URM4993	URM4995
3	P*	1,56 (B,a)	0,36 (A,b)
	R**	1,92 (A,a)	1,26 (A,b)
6	P	2,80 (B,a)	0,88 (A,b)
	R	10,92 (A,a)	2,56 (A,b)
9	P	15,04 (B,a)	2,84 (A,b)
	R	17,24 (A,a)	4,84 (A,b)
12	P	17,24 (B,a)	6,88 (A,b)
	R	21,64 (A,a)	7,64 (A,b)
CV(%)		24,21	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan (P=0,05).

* Fungo padrão (não reisolado).

**Fungo reisolado.

4.4.3 Crescimento radial

Na análise do crescimento radial não foi observada diferença significativa entre as linhagens, exceto no 12º dia, para o fungo padrão das linhagens, onde as colônias de *P. farinosus* URM4993 e *P. farinosus* URM4995 mediram 4,57cm e 4,22cm, respectivamente. Não foi constatada diferença no diâmetro de *P. farinosus* URM4993 antes e após a passagem pelo hospedeiro. Em relação a *P. farinosus* URM4995, o fungo padrão diferiu do reisolado a partir de 9º dia, medindo 3,20 cm e 3,67 cm, respectivamente (Tabela 8). Os dados obtidos por Santos (2003) assemelham-se aos descritos para *P. farinosus* URM4993, após estudos sobre o crescimento radial de *P. farinosus* reisolado de teleóginas de *B. microplus*.

Em Sabouraud com 12 dias de crescimento à temperatura de 25°C as linhagens apresentaram colônias de aspecto cotonoso de cor branca e reverso creme (Figura 8 e 9), sendo que os reisolados de *P. farinosus* URM4993 e *P. farinosus* URM4995 apresentaram diâmetro de 4,67 e 4,72 cm, respectivamente. Estes dados confirmaram os obtidos por Samson (1974) que observou um ótimo crescimento da colônia de *P. farinosus* em Ágar-

Malte, atingindo diâmetro de 4-6 cm após 14 dias, com colônia de coloração esbranquiçada a creme. Assim, fatores como a temperatura e a composição do meio de cultivo pode influenciar no crescimento fúngico. Neste sentido, Parker et al. (2003) examinaram o crescimento radial de *P. farinosus*, isolado de *E. integriceps* em diferentes temperaturas, sob cultivo em SAB acrescido com extrato de levedura e, verificaram um ótimo crescimento deste isolado a 25°C.

Tabela 8. Crescimento radial de *Paecilomyces farinosus* antes e após a passagem por operários de *Coptotermes gestroi*.

Tempo (dias)		Linhagem/Diâmetro de colônia (cm)	
		URM4993	URM4995
3	P*	1,47 (A,a)	1,53 (A,a)
	R**	1,60 (A,a)	1,46 (A,a)
6	P	2,53 (A,a)	2,58 (A,a)
	R	2,57 (A,a)	2,53 (A,a)
9	P	3,51 (A,a)	3,32 (B,a)
	R	3,61 (A,a)	3,67 (A,a)
12	P	4,57 (A,a)	4,22 (B,b)
	R	4,67 (A,a)	4,72 (A,a)
CV (%)		5,05	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan (P=0,05).

* Fungo padrão (não reisolado).

**Fungo reisolado

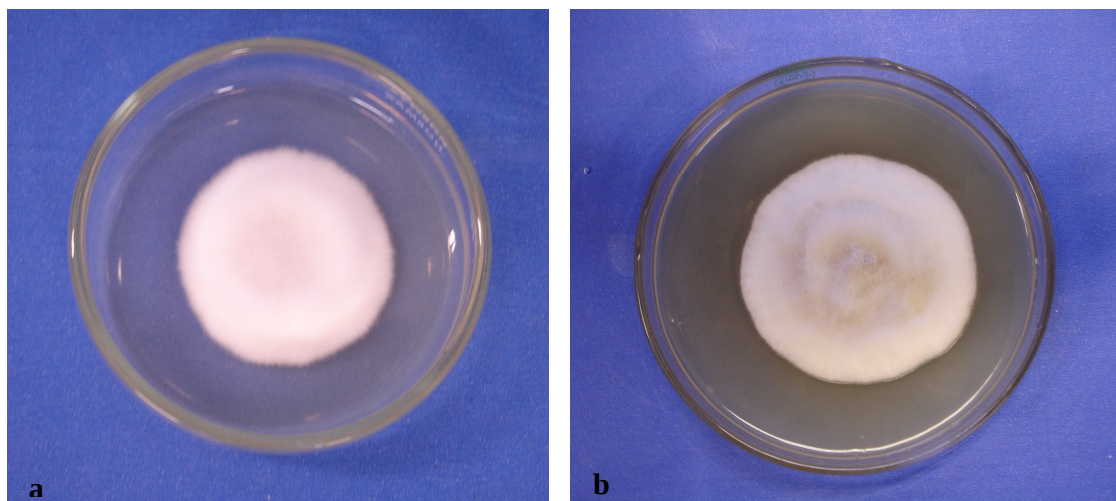


Figura 8. Aspecto da colônia de *Paecilomyces farinosus* URM4993, em SAB após 12 dias a 25°C. Fungo padrão (a) e fungo reisolado (b) de *Coptotermes gestroi*.

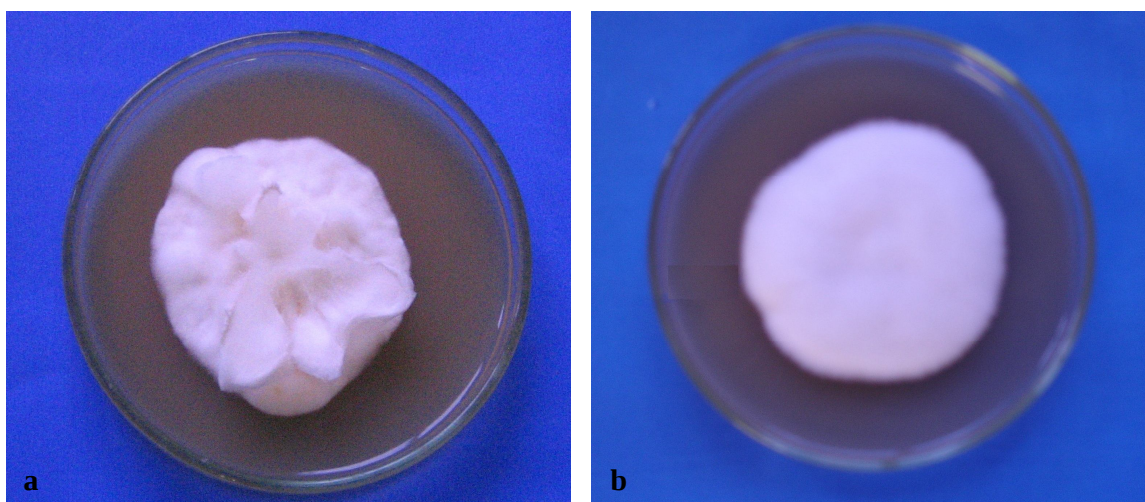


Figura 9. Aspecto da colônia de *Paecilomyces farinosus* UMR4995, em SAB após 12 dias a 25 °C. Fungo padrão (a) e fungo reisolado (b) de *Coptotermes gestroi*.

4.4.4 Estruturas morfológicas

As estruturas vegetativas e reprodutivas presentes nas linhagens de *P. farinosus* antes e após a passagem pelos operários de *C. gestroi* foram analisadas a cada período de tempo pela técnica de cultura em lamínula. Nas primeiras 24 horas foi evidenciado apenas a formação de micélio em ambas as linhagens e seus reisolados. As 48 horas, em *P. farinosus* URM4993 foi constatada a formação de conidióforos, conídios e apressórios, sendo estes confirmados no reisolado porém, estas estruturas, principalmente os apressórios foram mais abundantes a partir das 72 horas. Entretanto *P. farinosus* URM4995 formou as mesmas estruturas a partir das 72 horas, sendo observado em maior proporção, no reisolado a partir das 96 horas. Diante destas análises não foram evidenciadas diferenças morfológicas entre as estruturas vegetativas e reprodutivas do fungo padrão e do reisolado das linhagens estudadas, embora estas estruturas tenham se apresentado em maior proporção nos reisolados, principalmente de *P. farinosus* URM4993, concordando com Nascimento (2003) ao analisar os aspectos morfológicos de *B. bassiana* reisolado de *R. sanguineus*. Estes dados indicam o revigoramento das linhagens após passagem pelos operários de *C. gestroi*, técnica utilizada para ativar a patogenicidade das linhagens fúngicas estocadas em substratos artificiais, por um longo período de tempo (Alves, 1998).

As linhagens apresentaram conidióforos simples (Figura 10) e em ramos verticilados (Figura 11) com duas a quatro fiálides. Estes comportam fiálides de porção basal intumescida que termina em um distinto pescoço alongado, as quais produzem e sustentam os conídios elipsóides. Os apressórios mostraram-se de forma simples e bifurcada (Figura 12), sendo estes importantes no processo de penetração e infecção do inseto hospedeiro. Estas características concordam com as descritas por Samson (1974) e por Alves (1998). Também estão de acordo com Szentiványi et al. (2006) quando isolaram e identificaram um fungo contaminante associado com mildio, *Blumeria graminis* Mehltau, em folhas de cevada, como *P. farinosus*, devido à produção e a forma dos conidióforos verticilados e conídios elipsóides.



Figura 10. Conidióforo simples (seta) e conídios de *Paecilomyces farinosus* URM4995 após 72 horas. (640X).

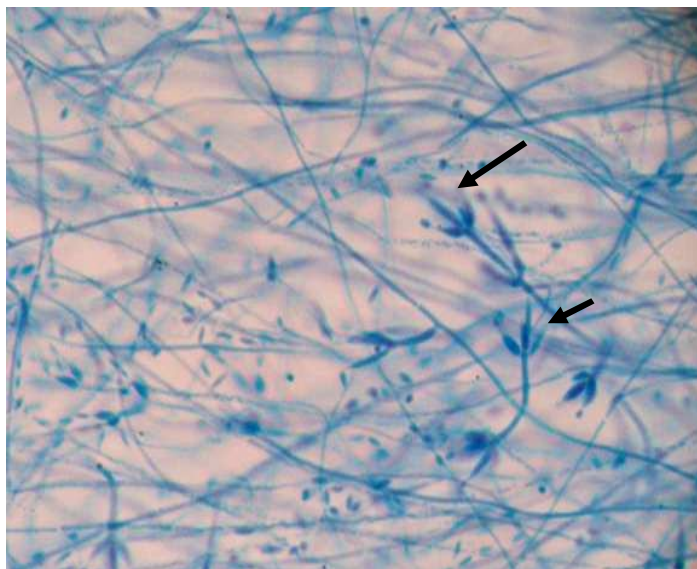


Figura 11. Conidióforos verticilados (seta) de *Paecilomyces farinosus* URM4993 reisolado após 72 horas. (640X).

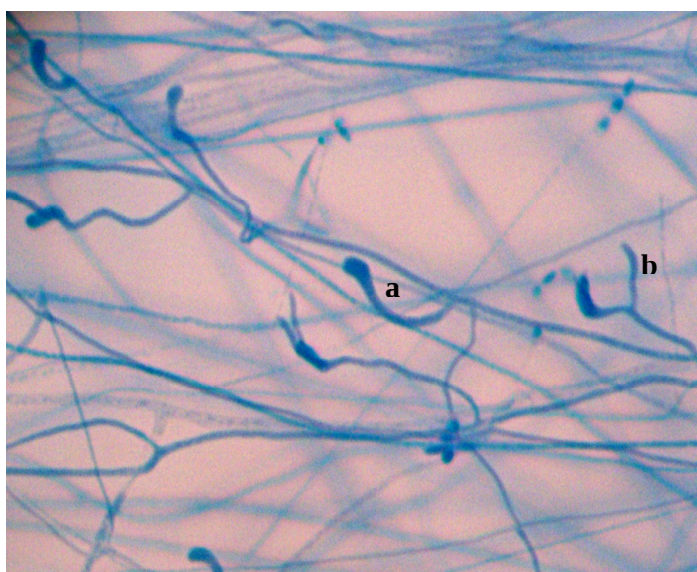


Figura 12. Apressórios simples (a) e bifurcado (b) de *Paecilomyces farinosus* URM4993 reisolado após 96 horas. (640X).

5. CONCLUSÕES

- As linhagens de *P. farinosus* testadas são patogênicas a *C. gestroi*, contudo *P. farinosus* URM4993 foi mais virulenta;
- As linhagens testadas apresentam expressivos valores de CL₅₀ e TL₅₀, os quais comprovam a ação patogênica do fungo;
- *Paecilomyces farinosus* apresenta alto potencial de esporulação sobre os insetos mortos, sendo este fator importante na disseminação e permanência do entomopatógeno dentro da colônia do cupim subterrâneo;
- O fungo apresenta-se viável antes e após a passagem por *C. gestroi*, com ótimas médias de germinação de conídios, esporulação e crescimento radial;
- *Paecilomyces farinosus* não apresenta alterações morfológicas após a passagem pelo inseto, mas suas estruturas vegetativas e reprodutivas são produzidas em maior proporção, indicando revigoração.
- *Paecilomyces farinosus* mostra-se eficiente no controle *in vitro* de *C. gestroi* e pode ser uma alternativa viável no biocontrole desta praga urbana.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, A.C. **Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *flavoviride* e *Beauveria bassiana* a *Nasutitermes coxipoensis* (Isoptera: Termitidae) em cana-de-açúcar e compatibilidade com inseticidas químicos.** 2005. 110f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

ALBUQUERQUE, A.C.; SANTOS, A.M.M.; SILVA, C.A.A.; CUNHA, F.M.; PAZ, R.C.; PEREIRA, K.C.A. Ocorrência de cupim subterrâneo *Coptotermes havilandi* (Isoptera: Rhinotermitidae) na região metropolitana do Recife. In: Congresso Nordestino de Ecologia, X, 2003, Recife. CD-Rom.

ALBUQUERQUE, A.C.; PEREIRA, K.C.A.; CUNHA, F.M.; VEIGA, A.F.S.L.; ATHAYDE, A.C.R.; LUNA-ALVES LIMA, E.A. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sobre *Nasutitermes coxipoensis* (Holmgreen) (Isoptera: Termitidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 585-591, 2005.

ALI-SHTAYEH, M.S.; MARA, A.B.B.M.; JAMOUS, R.M. Distribution, occurrence and characterization of entomopathogenic fungi in agricultural soil in the Palestinian area. **Mycopathologia**, v. 156, p. 235-244, 2002.

ALMEIDA, J.C.; ALBUQUERQUE, A.C.; LUNA-ALVES LIMA, E.A. Viabilidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. reisolado de ovos, larvas e adultos de *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) artificialmente infectado. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, p. 473-480, 2005.

ALMEIDA, J.E.M.; ALVES, S.B.; MOINO, A.; LOPES, R. Controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) com iscas Termitrap impregnadas com inseticidas e associadas ao fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p.639-644,1998.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap.11, p. 289-371.

ALVES, S.B.; MORAIS, S.A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 23, p. 765-777.

ALVES, S.B., PEREIRA, R.M. Produção de fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 27, p. 845-869.

ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M.; MOINO, A.; ALVES, L. F.A. Técnicas de laboratórios . In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 20, p. 637-710.

ALVES, S.B; ALMEIDA, J.E.; MOINO, A.; STIMAC, J.L; PEREIRA, R.M. Uso de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* para o controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) em pastagens. **Ecossistema**, v. 20, p. 50-57, 1995.

ARAÚJO, R.L. Contribuição à biogeografia dos térmitas de São Paulo, Brasil (Insecta: Isoptera). **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 25, p. 187-217, 1958.

BARSON, G.; RENN, N.; BYWATER, A.F. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the house fly (*Musca domestica* L.), a pest of intensive animal units. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 64, p. 107-113, 1994.

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

CONSTANTINO, R. **An illustrated key to Neotropical Termite genera (Insecta: Isoptera) based primarily on soldiers.** 2002a <<http://www.unb.br/ib/zoo/docente/constant/catal/catnew.html>> Acesso em 06 de set. de 2006.

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

COSTA-LEONARDO, A.M.; BARSOTTI, R.C.; CAMARGO-DIETRICH, C.R.R. Review and update on the biology of *Coptotermes havilandi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 33, p. 339-356, 1999.

DAL-BELLO, G.; PADIN, S.; LÓPES-LASTRA, C.; FABRIZIO, M. Laboratory evaluation of chemical-biological control of the rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored grains. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p.77-84, 2001.

DELATE, K.M.; GRACE, J.K.; TOME, C.M. Potential use of pathogenic fungi in baits to control the formosan termite (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 119, p. 429-433, 1995.

DOBERSKI, W.J. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the Elm Bar Beetle *Scolytus scolytus*: pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus* to larvae and adults of *Scolytus scolytus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 33, p. 188-194, 1981.

DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, TRAUTE-HEIDE. *Paecilomyces*. In: DOMSCH, K.H (Ed.). **Compendium of Soil Fungi**. London: Academic Press, 1980, p. 525-536.

DOMSCH, H.H.; GAMES, W. **Compendium of Soil Fungi**. San Francisco: IHW-Verlag, 1993, 856p.

ELEOTÉRIO, E.S.R.; BERTI FILHO, E. Levantamento e identificação de cupins (Insecta: Isoptera) em área urbana de Piracicaba. **Ciência Florestal**, v. 10, p. 125-139, 2000.

EUCLYDES, R.F. **Manual de Utilização do Programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas)**. Viçosa: Minas Gerais, 1983, 59p.

FERNANDES, P.M.; ALVES, S.B. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para controle de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera:Termitidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 21, p. 319-328, 1992.

FERRAZ, M.V.; CANCELLO, E.M. Swarming behavior of the economically most important termite, *Coptotermes havilandi* (Isoptera: Rhinotermitidae), in Southeastern Brazil. **Sociobiology**, v. 38, p. 683-694, 2001.

FERRAZ, M.V.; MÉNDEZ-MONTIEL, J.T. First record of a subterranean termite, *Coptotermes havilandi* Holmgren (Isoptera: Rhinotermitidae) on the west coast of North America (Mexico). **Acta Zoologica Mexicana**, v. 20, p. 39-43, 2004.

FONTES, L.R.. Cupins em áreas urbanas. In: BERTI FILHO, E. (Ed.). **Alguns aspectos atuais e controle de cupins**. São Paulo: FEALQ, 1995, cap.6, p. 57-74.

FONTES, L.R.; ARAÚJO, R.L. Os cupins. In: MARICONI, F.A.M. (Ed.). **Insetos e outros Invasores de Residências**. Piracicaba: FEALQ, 1999. p.35-90.

FONTES, L.R.; MILANO, S. Termites as an urban problem in South America. **Sociobiology**, v. 40, p. 103-151, 2002.

FONTES, L.R.; VEIGA, A.F.S.L. Registro do cupim subterrâneo *Coptotermes havilandi* (Isoptera: Rhinotermitidae), na área metropolitana do Recife, PE. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 16, 1998, Rio de Janeiro. **Proceedings...** Rio de Janeiro: SEB, 1998. p. 1005.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A.R.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. São Paulo: FEALQ, 2002. 920 p.

GRACE, J.K. Biological control strategies for suppression of termites. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 14, p. 281-289, 1997.

HANEL, H.A. A bioassay for measuring the virulence of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok (Fungi Imperfect) against the *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). **Zeitschrift Angewandte Entomologie**, v. 92, p. 9-18, 1981.

HANEL, H.A. Selection of a fungus species, suitable for the biological of the termite *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Termitidae). **Zeitschrift Angewandte Entomologie**, v. 94, p.237-245, 1982.

HAYDEN, T.P.; BIDOCHKA, M.; KHACHATOURIANS, G.G. Entomopathogenicity of several fungi toward the english grain aphid (Homoptera: Aphididae) and enhancement of virulence with host passage of *Paecilomyces farinosus*. **Journal of Economic Entomology**, v. 85, p. 58-64, 1992.

KIRTON, L.G.; BROWN, V.K. The taxonomic status of pest of *Coptotermes* in Southeast Asia: resolving the paradox in the pest status of the termites, *Coptotermes gestroi*, *C. havilandi* and *C. travians* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 42, p. 43-63, 2003.

LAI, P.Y.; TAMASHIRO, M.; FUJII, J.K. Pathogenicity of six strains of entomopathogenous fungi to *Coptotermes formosanus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 39, p. 1-5, 1982.

LANG, G.; BLUNT, J.W.; CUMMINGS, N.J.; COLE, A.L.J.; MUNRO, M.H.G. Paecilosetin, a new bioactive fungal metabolite from a New Zealand isolate de *Paecilomyces farinosus*. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 810-811, 2005.

LECUONA, R.E.; EDELSTEIN, J.D.; BERRETTA, M.F.; ROSA R.F. L. A.; ARCAS, J.A. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) strains as potencial agents for control of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, p. 172-179, 2001.

LELIS, A.T. A nest of *Coptotermes havilandi* (Isoptera: Rhinotermitidae) off ground level, found in the 20th story of a building in the city of Sao Paulo, Brazil. **Sociobiology**, v. 26, p. 241-245, 1995.

LEWIS, V.R. Alternative control strategies for termites. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 14, p. 291-307, 1997.

LOPES-LLORCA, L.V.; CARBONELL, T.; GOMEZ-VIDAL, S. Degradation of insect cuticle by *Paecilomyces farinosus* proteases. **Mycological Progress**, v. 1, p. 249-256, 2002.

LOUREIRO, E.S.; MONTEIRO, A.C. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 71, p. 35-40, 2004.

LOUREIRO, E.S.; MONTEIRO, A.C. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus: 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, v. 29, p.553-561, 2005.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1675-1689, 2004.

MEIKLE, W.G.; MERCADIER, G.; ROSENGAUS, R.B.; KIRK, A.A.; DEROUANÉ, F.; QUIMBY, P.C. Evaluation of an entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith (Deuteromycota: Hyphomycetes) obtained from formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Applied Entomology**, v.126, p. 315-322, 2005.

MILANO, S.; FONTES, L.R. Cupins como pragas urbanas na América do Sul. In: MILANO, S. (Ed.). **Cupim e Cidades: implicações ecológicas e controle**. São Paulo: MILANO, S. & FONTES L.R, 2002a. cap. 2, p.33-64.

MILANO, S.; FONTES, L.R. Termite pests and their control in urban Brazil. **Sociobiology**, v.40, p. 163-177, 2002b.

MILL, A.E. Termites as structural pests in Amazônia, Brazil. **Sociobiology**, v. 19, p.339-348, 1991.

MILNER, R.J. Application of biological control agents in mound building termites (Isoptera: Termitidae) – experiences with *Metarhizium anisopliae* in Australia. **Sociobiology**, v. 41, p. 419-428, 2003.

MILNER, R.J.; STAPLES, J.A.; LUTTON, G.G. The effect of humidity on germination and infection of termites by Hyphomycete, *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 69, p. 64-69, 1997.

MILNER, R.J.; STAPLES, J.A.; LUTTON, G.G. The selection of an isolate of the Hyphomycetes fungus *Metarhizium anisopliae*, for control of termites in Australia **Biological Control**, v.11, p. 240-247, 1998.

NASCIMENTO, F.S.B. *Ação de Metarhizium anisopliae var. anisopliae, Metarhizium anisopliae var. acridum, Beauveria bassiana e parâmetros biológicos após a passagem em Rhipicephalus sanguineus*. 2003. 57f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

NEVES, P.J.; ALVES, S.B. Selection of *Beauveria bassiana* (Bals.) and *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. strains for control of *Cornitermes cumulans* (Kollar). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, p. 373-378, 2000.

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

ONOFRE, S.B.; VARGAS, L.R.B.; ROSSATO, M.; BARROS, N.M.; BOLDO, J.T.; NUNES, A.R.F.; AZEVEDO, J.L. Controle biológico de pragas na agropecuária por meio de fungos entomopatogênicos. In: SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). **Biotechnology: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. cap.10, p. 295-317.

PARKER, B.L.; SKINNER, M.; COSTA, S.D.; GOULI, S.; REID, W.; BOUHSSINI, M.E. Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): collection and characterization for development. **Biological Control**, v. 27, p. 260-272, 2003.

PRENEROVÁ, E. Pathogenicity of *Paecilomyces farinosus* toward *Cephalcia abietis* eonymphs (Insecta: Hymenoptera): Enhancement of bioactivity by *in vivo* passaging. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 64, p. 62-64, 1994.

PRENEROVÁ, E. Accelerated germination by aeration: a novel method of preparation of germinated blastosporos of *Paecilomyces farinosus* for practical application. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 65, p. 225-229, 1995.

RATH, A.C. The use of entomopathogenic fungi for control of termites. **Biological Science and Technology**, v. 10, p. 563-581, 2000.

RATH, A.C.; TIDBURY, C.A. Susceptibility of *Coptotermes acinaciformis* (Isoptera: Rhinotermitidae) and *Nasutitermes exitiosus* (Isoptera: Temitidae) to two commercial isolates of *Metarhizium anisopliae*. **Sociobiology**, v. 28, p. 67-72. 1996.

ROPEK, D.; PARA, A. The effect of heavy metal ions and their complexions upon growth, sporulation and pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces farinosus*. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 12, p. 227-230, 2003.

ROSENGAUS, R.B.; LEFEBVRE, M.L.; TRANIELLO, J.F.A. Inhibitory of fungal spore germination by *Nasutitermes*: Evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 21-39, 2000.

SAMSON, R.A. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. **Studies in Mycology**, v. 6, p.119, 1974.

SAMSON, R.A.; EVANS, H. C.; PAUL-LATGE, J. Taxonomy of entomopathogenic fungi. In: SAMSON, R.A. **Atlas of Entomopathogenic Fungi**. Belin: Springer-Verlag, 1988. p. 5-16.

SANCHEZ-PEÑA, S.R. Entomopathogens from two Chihuahuan desert localities in Mexico. **Biocontrol**, v. 45, p. 63-78, 2000.

SANTOS, G.F. **Ação de *Paecilomyces lilacinus* e *Paecilomyces farinosus* sobre teleóginas de *Boophilus microplus***. 2003. 51f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

SANTOS, G.F.; NASCIMENTO, F.S.B; ATHAYDE, A.C.A, LUNA-ALVES LIMA, E.A. Viabilidade de *Paecilomyces lilacinus* após infecção experimental de *Boophilus microplus*. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, VII., 2002, Rio de Janeiro. CD-Rom

SCHEFFRAHN, R.H; SU, Y.N. Native, introduced, and structure-infesting termites of the Turks and Caicos Islands, B.W.I (Isoptera: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Termitidae). **Florida Entomologist**, v.73, p.622-627, 1990.

SCHEFFRAHN, R.H; SU, Y.N. **Asian subterranean, *Coptotermes gestroi* (= *havilandi*) (Wasmann) (Insecta: Isoptera: Rhinotermitidae)**. 2004. <<http://www.creatures.ifas.ufl.edu/urban/termite/havilandi.htm>> Acesso em 07 de set. de 2005.

SCHEFFRAHN, R.H; SU, Y.N. Distribution of the termite genus *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) in Florida. **Florida Entomologist**, v.88, p. 2001-203, 2005.

SILVA, V.C.A.; BARROS, R.; MARQUES, E.J. Suscetibilidade de *Plutella xylostela* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Mestsch.) Sorokin. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 653-658, 2003.

SU, N.Y.; SCHEFFRAHN, R.H.; WEISSLING, T. A new introduction of a subterranean termite, *Coptotermes havilandi* Holmgren (Isoptera: Rhinotermitidae) in Miami, Florida. **Florida Entomologist**, v.80, p. 408-411, 1997.

SU, N.Y.; BAN, P.M.; SCHEFFRAHN, R.H. Control of subterranean termite populations at San Cristóbal and El Morro, San Juan National Historic Site. **Journal of Cultural Heritage**, v.3, p. 217-225, 2002.

SUN, J.; FUXA, J.R.; HENDERSON, G. Sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Coptotermes formosanus* and *in vitro*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 81, p. 78-85, 2002.

SUN, J.; FUXA, J.R.; HENDERSON, G. Effects of virulence, sporulation, and temperature on *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* laboratory transmission in *Coptotermes formosanus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 84, p. 38-46, 2003.

SZENTIVÁNYI, O; VARGA, K.; WYAND, R.; SLATTER, H.; KISS, L. *Paecilomyces farinosus* destroys powdery mildew colonies in detached leaf cultures but not whole plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 115, p. 352-356, 2006.

TREVISAN, H.; NADAI, J.; LUNZ, A.M.; CARVALHO, A.G. Ocorrência de térmitas subterrâneos (Isoptera: Rhinotermitidae e Termitidae) e durabilidade natural da madeira de cinco essências florestais. **Ciência Florestal**, v. 13, p. 153-158, 2003.

VILAS BOAS, A.M.; ANDRADE, R.M.; OLIVEIRA, J.V. Diversidade de cultura para a produção de fungos entomopatogênicos. **Arquivo de Biologia e Tecnologia**, v. 39, p. 123-128, 1996.

WANG, C.; POWELL, J.E. Isolation and evaluation of *Beauveria bassiana* for control of *Coptotermes formosanus* and *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v.41, p. 248-255, 2003.

WANG, C.; POWELL, J.E. Cellulose bait improves the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* as a microbial control of termites (Isoptera: Rhinotermitidae). **Biological Control**, v. 30, p. 523-529, 2004.

WRAIGHT, P.S.; CARRUTHERS, R.I.; WRAIGHT, G. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 71, p. 217-226, 1998.

WRIGHT, M.S.; OSBRINK, W.L.A.; LAX, A.R. Transfer of entomopathogenic fungi among formosan subterranean termites and subsequent mortality. **Journal Applied Entomology**, v. 126, p. 20-23, 2002.

WRIGHT, M.S.; CONNICK, W.J.; JACKSON, M.A. Use of *Paecilomyces* spp. as pathogenic agents against subterranean termites. U.S. Patent 20030095951, 2003.

WRIGHT, M.S.; RAINA, A.K.; LAX, A.R. A strain of the fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling subterranean termites. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, p. 1451-1458, 2005.

YANAGAWA, A.; SHIMIZU, S. Resistance of the termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki to *Metarhizium anisopliae* due to grooming. **Biocontrol**, v. 52, p. 75-85, 2007.

ZORZENON, F.J.; POTENZA, M.A. Cupins: pragas em áreas urbanas. **Boletim Técnico Instituto Biológico**, n.10, p. 5-40, 1998.

ZORZENON, F.J.; JUSTI JÚNIOR, J.; POTENZA, M.R.; CAMPOS, T.B.; CANCELLO, E. M. Cupins. Pragas em áreas urbanas. **Boletim Técnico do Instituto Biológico**, n. 18, p. 4-66, 2006.