

COMPORTAMENTO E ASPECTOS CITOLÓGICOS DE *BEAUVERIA BASSIANA* APÓS PASSAGEM EM OVO, LARVA E ADULTO DE *CHRYSOMYA ALBICEPS*

F.M.C. Feijó¹, P.M. Lima^{1*}, N.D. Alves¹, E.A. de Luna-Alves Lima²

¹Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Departamento de Ciências Animais, Laboratório de Microbiologia Veterinária, CP 137, CEP 59625-900, Mossoró, RN, Brasil. E-mail: marlon@ufersa.edu.br

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o comportamento do fungo *Beauveria bassiana* Balsamo Vuillemin reisolado de diferentes fases de desenvolvimento de *Chrysomya albiceps*. O fungo *B. bassiana* foi originalmente isolado de *Castnia licus* Drury (Lepidoptera: Castniidae), e está depositado na Coleção de Cultura (Micoteca-URM) do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, sob o número de acesso 3.447. O experimento foi realizado em condições artificiais sob umidade e temperatura $60 \pm 10\%$ e $27 \pm 1^\circ\text{C}$, respectivamente. O percentual de germinação foi elevado, com o maior índice observado no reisolado de larva; o crescimento radial no intervalo de tempo estipulado foi satisfatório, o número de conídios no 12º dia do reisolado de adulto foi maior do que o reisolado de ovo. O número de colônias de todos os reisolados foi superior ao controle. Não foram observadas diferenças nos aspectos citológicos do ciclo de vida de *B. bassiana* pós-passagem em ovos, larvas e adultos.

PALAVRAS-CHAVE: *Beauveria bassiana*, *Chrysomya albiceps*, citologia, germinação.

ABSTRACT

BEHAVIOR AND CYTOLOGICAL ASPECTS OF *BEAUVERIA BASSIANA* AFTER PASSAGE IN THE EGG, LARVAE AND ADULT PHASE OF *CHRYSOMYA ALBICEPS*. The objective this research was to evaluate the behavior of *Beauveria bassiana* Balsamo Vuillemin fungus reisolated from different phases of development of *Chrysomya albiceps*. The fungus *B. bassiana* was isolated originally from *Castnia licus* Drury (Lepidoptera: Castniidae), and kept at the Culture Collection (Micoteca-URM) of the Department of Mycology of the Universidade Federal de Pernambuco, under the access number 3,447. The experiment was carried out under artificial conditions at $60 \pm 10\%$ relative humidity and $27 \pm 1^\circ\text{C}$. The percentile of germination was elevated, with the largest index observed in the reisolat from the larval phase; the radial growth in the interval of stipulated time was satisfactory, the conidia number on the 12th day for the reisolat from the adult phase was larger than that for the reisolat from the egg phase. The number of colonies of all the reisolates was higher than that of the control. Differences were not observed in the cytological aspects of the life cycle of *B. bassiana* after passage in eggs, larvae and adults.

KEY WORDS: *Beauveria bassiana*, *Chrysomya albiceps*, cytology, germination.

INTRODUÇÃO

Chrysomya albiceps Wiedemann (Diptera: Calliphoridae) é muito importante do ponto de vista sócio-econômico, nos países tropicais, por causarem miíases. Já foi relatada em ovinos, caprinos (ZUMPT, 1965; GAGNÉ, 1981; ERZINÇLIOGLU; WHITCOMBE, 1983), caninos (RICHARD; GERRISH, 1983), bovinos (LEITE *et al.*, 1983) e humanos (ABED-BENAMARA *et al.* 1996). O homem, na tentativa de controlar os insetos, como a mosca, tem usado inseticida, principalmente contra

os adultos (LIU; YUE, 2000), entretanto, há sérios problemas de intoxicação nas pessoas que aplicam esses produtos, desequilíbrios biológicos e emergência de resistência às pragas-alvo. O controle biológico surgiu como uma alternativa e, neste particular, os fungos se destacam como os principais agentes no controle de insetos, inclusive de moscas (*Musca domestica* Linnaeus, *Anastrepha ludens* Loew, *Haematobia irritans* Linnaeus, *C. albiceps* Wiedemann) (BARSON *et al.*, 1994; LECUONA, 1999; LEZAMA-GUTTIERREZ *et al.*, 2000; SERAFINI *et al.*, 2001; FEIJÓ *et al.*, 2002; LECUONA *et al.*, 2005).

²Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Micologia, Recife, PE, Brasil.

*Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

Beauveria bassiana Balsamo Vuillemin, um dos principais fungos entomopatogênicos, foi isolado pela primeira vez de *Bombyx mori* Linnaeus (bicho-da-seda), causando a doença muscardine branca. *B. bassiana* é de ocorrência cosmopolita, coletada freqüentemente de insetos e amostras de solo, onde pode subsistir por longo tempo. Em condições de laboratório pode colonizar a maioria dos insetos, sendo que no campo ocorre de forma enzoótica e epizoótica em Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera e de forma enzoótica sobre Diptera, Hymenoptera e Orthoptera (ALVES, 1998; MELO, 2002).

Estudos do comportamento, tais como germinação, esporulação, número de colônias e crescimento radial (KUMAR *et al.*, 1999; FERREIRA, 2000; GUIMARÃES, 2002; SANTOS, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2005) são realizados para auxiliar na caracterização de fungos entomopatogênicos, pois, segundo LIU *et al.* (2003), esses parâmetros são importantes para definir a virulência de um isolado fúngico. Além disso, estudos citológicos com *B. bassiana* também são realizados, envolvendo a variação na forma, dimensão e número de núcleos (SOUSA, 2002) como forma de caracterização de isolados fúngicos e diferença entre linhagens haplóides e diplóides (LUNA-ALVES LIMA, 1985).

A germinação é um fator importante, pois uma taxa elevada de conídios germinados é diretamente proporcional à virulência do isolado, mas pode ser influenciada pela forma de armazenamento, presença de nutrientes e modo de exposição do fungo ao hospedeiro (ALVES *et al.*, 1995; ALVES, 1998; FERNANDEZ *et al.*, 2001).

A rápida esporulação pode ser um importante critério para seleção de isolados fúngicos, pois auxilia na propagação de epizootias, além de ser uma vantagem em relação às defesas humorais de insetos (MITCHELL, 2003). Contudo, os fatores abióticos (como a temperatura e a umidade) podem alterar a esporulação (LUZ *et al.*, 1998; ALVES, 1998; MAGALHÃES, 2000). O crescimento radial também é empregado para avaliar linhagens quanto à virulência, pois, de acordo com HAEJEK; ST LEGER (1994), a taxa de crescimento radial está diretamente associada à velocidade de infecção no hospedeiro. Mas também difere entre isolados de uma mesma espécie (FARGUES *et al.*, 1997) e nem sempre a virulência pode estar associada diretamente à fisiologia (MACIEL *et al.*, 2005).

A citologia de fungos é necessária para se conhecer e compreender os fenômenos de variabilidade genética, contudo, o aprimoramento de técnicas de coloração no nível óptico como também eletrônico renovaram conceitos, dando maior significado ao estudo e conhecimento celular de estruturas vegetativas e reprodutivas. LUNA-ALVES LIMA (1989) observou em *B. brongniartii* Saccardo a presença de células conidiogênicas uni e binucleadas e conídios

elipsóides, diferindo dos conídios de *B. bassiana* que se apresentam globosos. Já células leveduriformes multinucleadas de *B. bassiana* foram observadas na hemolinfa de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (LUNA-ALVES LIMA; TIGANO, 1989) e os segmentos hifais apresentaram-se uninucleados e raramente binucleados, quando (LUNA-ALVES LIMA, 1989) em *B. bassiana*. PAIVA *et al.* (1996), em estudos de microscopia de luz e eletrônica, confirmaram em *B. bassiana* a condição uninucleada dos conídios, hifas e células conidiogênicas de terminação simpodial.

O estudo dos parâmetros fisiológicos de linhagens, como taxa de germinação, crescimento radial, número de colônias, esporulação, torna-se necessário para se caracterizar e selecionar linhagens que apresentem vantagens como alta produção massal de micélio e estabilidade de inóculo, pois assim a infecção no hospedeiro ocorre de forma mais rápida, justificando a eficácia no campo, potencializando a ação do controle biológico de insetos-praga. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento de *B. bassiana*, no que se refere à germinação, esporulação, número de colônias, diâmetro de colônias e o aspecto citológico pós-passage em *C. albiceps*.

MATERIAL E MÉTODOS

Crescimento radial: um disco de 5 mm de diâmetro da colônia de *B. bassiana* foi colocado no centro de uma placa de Petri com BDA (Batata-Dextrose-Ágar) (Oxoid). O crescimento foi observado no período: 0-3, 3-6, 6-9, 9-12 e 12-15 dias. A mensuração foi feita em centímetro, com o auxílio de uma régua milimetrada, e em seguida foi calculada a média aritmética para cada dia avaliado.

Determinação do número de colônias e percentual de germinação: a partir de cultura de 12 dias de crescimento em BDA, foi retirado um disco de 5 mm de diâmetro e transferido para tubos de ensaio contendo 10 mL de "Tween" 80 (0,05% v/v). A suspensão foi agitada para desagregação dos conídios. O número de conídios foi determinado em câmara de Neubauer. A suspensão foi diluída, de maneira a atingir 100 conídios.mL⁻¹. Desta suspensão, foi espalhado 0,1 mL com o auxílio da alça de "Drigalsky", por toda superfície das placas de Petri. O experimento foi realizado em triplicata para cada dia de observação. O número de colônias foi determinado nos dias pré-estabelecidos: 3, 6, 9, 12 e 15 dias, após a inoculação.

O percentual de germinação foi estabelecido após 16 horas pós-inoculação. Foram contados 500 conídios por placa após a semeadura, considerando-se, como conídio germinado aquele cujo tubo germinativo se apresentou maior que um terço do tamanho do conídio observado (LUNA-ALVES LIMA, 1985).

Determinação do percentual de esporulação: da cultura fúngica crescida em BDA, foram retirados discos de 5mm de diâmetro e inoculados no centro da placa. Aos 12 dias foram adicionadas às placas 5mL de solução de etanol a 75%, para inativar e secar os conídios. Posteriormente, as placas foram lavadas em "Tween" 80 (0,05% v/v). O lavado foi coletado em frasco "Erlenmeyer" e agitado para promover a desagregação dos conídios. Em seguida, o número de conídios foi determinado em câmara de Neubauer.

Análise microscópica das estruturas fúngicas: uma alíquota da cultura fúngica foi colocada assepticamente em quatro pontos equidistantes da placa de Petri (LUNA-ALVES LIMA, 1985). Em seguida, foram cobertas com lamínula, previamente flambada. As placas foram deixadas à temperatura ambiente e as culturas em lamínula foram analisadas após 24, 48, 72, 96, 120h. As estruturas fúngicas crescidas sob a lamínula eram coradas pelo Lactofenol de Amann com azul de algodão e observadas ao microscópio óptico com aumento de 4, 10, 40 e 100, 640 e 1000x.

Condição nuclear de *Beauveria bassiana* antes e após passagem em ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps*: a condição nuclear de *B. bassiana* foi verificada com o emprego da técnica de coloração Giemsa-HCI (LUNA-ALVES LIMA; AZEVEDO, 1983).

Análise estatística: Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas através do teste Tukey, em nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Beauveria bassiana reisolada de ovos, larvas e adultos de *Chrysomya albiceps* pós-infecção experimental

A média do percentual de germinação do fungo foi menor no reisolado de adulto (79,53%) e maior no

Tabela 1 - Percentual médio de germinação de *Beauveria bassiana* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps* após 12 dias de inoculação.

Fase	% Germinação
Controle	79,13 ^a
Ovo	81,91 ^a
Larva	88,45 ^a
Adulto	79,53 ^a
CV (%)	4,92

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

reisolado de larva (88,45%), sem diferença estatística entre os fungos reisolados de ovo, larva e adulto em relação ao controle (Tabela 1). Os resultados foram superiores aos de FERNANDEZ *et al.* (2001) quando estudaram a germinação de conídios em larvas de *Leptinorsa decemlineata* Say após 24 horas e inferiores aos resultados de MILNER *et al.* (1997), quando estudaram a taxa de germinação de *B. bassiana* com 100% de umidade relativa. Segundo SOSA-GOMÉZ; ALVES (2000), a germinação é estimulada em umidade acima de 80%, embora MARCANDIER; KHATCHATORIANS (1987) tenham afirmado que o percentual de germinação não é tão importante, pois os isolados com germinação abaixo de 50% não perdem a virulência, em virtude das toxinas elaboradas antes da morte dos conídios.

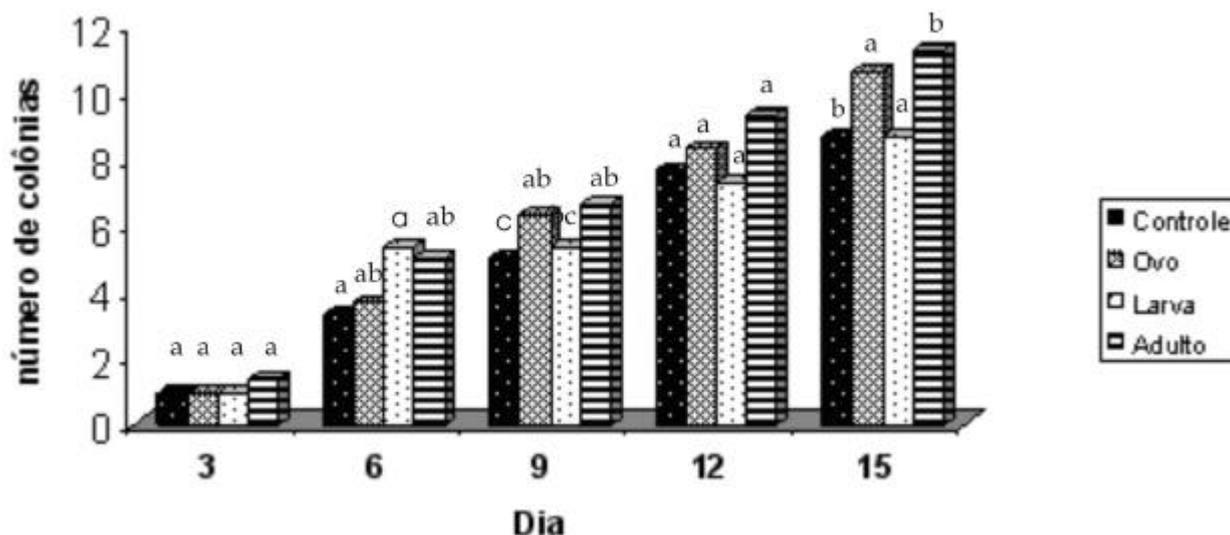
A Figura 1 mostra o número médio de colônias dos fungos reisolados de ovos, larvas e adultos, com diferença estatística dos reisolados de ovos e adultos, no 9º e 15º dia; e do reisolado de larva no 6º dia, em relação ao controle. Esses resultados foram semelhantes aos de MACIEL (2002) quando avaliou o comportamento de *B. bassiana* reisolada de larvas da mosca *Cochliomyia macellaria* Fabricius e diferentes dos dados obtidos por INGLIS *et al.* (1999) quando observaram o comportamento de *B. bassiana*. Todavia, a variação do número de colônias recuperadas é comum, pelas diferenças encontradas entre linhagens (FARGUES *et al.* 1997).

Conforme consta na Figura 2, o diâmetro médio da colônia de *B. bassiana* reisolada de ovo, larva e adulto variou no tempo estabelecido e, com base na análise estatística, houve diferença em relação ao controle. Esses dados confirmam a grande adaptabilidade de *B. bassiana*, visto que os resultados foram semelhantes aos de SOUSA (2002) que estudou o comportamento deste fungo "in vitro" sem passagem em mosca. Também em estudo sobre o efeito de *B. bassiana* sobre a mosca *Bemisia argentifolli* Bellows & Perring, BROWNBIGDE *et al.* (2001) verificaram que a virulência não foi afetada, quando estudaram o comportamento de *B. bassiana* após várias passagens nesse inseto.

Tabela 2 - Esporulação média de *Beauveria bassiana* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps* no 12º dia pós inoculação.

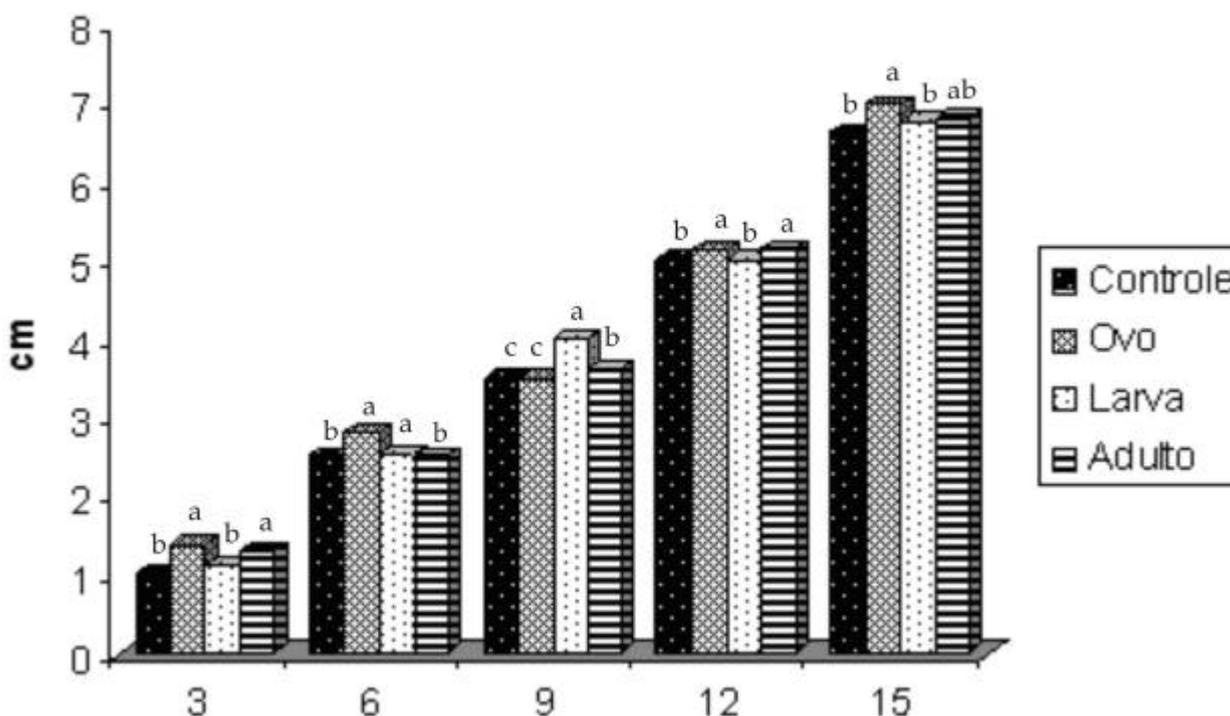
Fase	Esporulação no 12º dia
Controle	3.29 x 10 ⁷ b
Ovo	3.3 x 10 ⁷ b
Larva	3.95 x 10 ⁷ a
Adulto	3.97 x 10 ⁷ a
CV (%)	4,92

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.



Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Fig. 1 - Número médio de colônia de *Beauveria bassiana* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps* pós-infecção experimental.



Colunas seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Fig. 2 - Diâmetro médio de colônia de *Beauveria bassiana* após reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps*.

O experimento sobre a esporulação mostrou que o número médio de conídios do reisolado de larva e adultos foi diferente em relação ao controle (Tabela 2). Esses dados foram discordantes com os resultados de esporulação alcançados por PAIÃO *et al.* (2001) quando observaram os aspectos comportamentais de *B. bassiana*. Provavelmente, essas diferenças sejam

explicadas pela umidade relativa utilizada, pois, segundo ALVES (1998), os fatores abióticos são relevantes durante o processo de infecção nos insetos.

Análise das microestruturas de *Beauveria bassiana* antes e após o reisolamento de ovo, larva e adulto de *Chrysomya albiceps* pós-infecção experimental

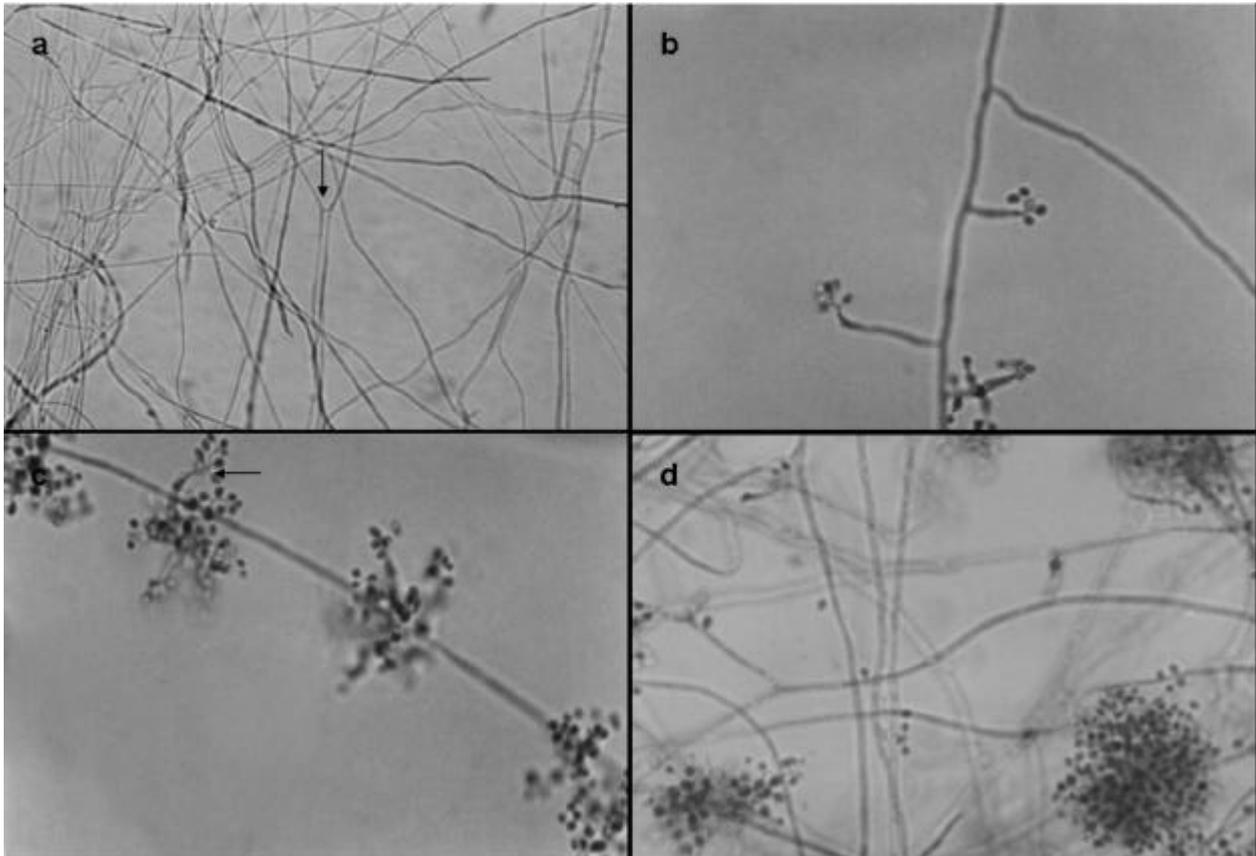


Fig. 3 - *Beauveria bassiana*. a) Anastomose reisolada de ovo de *Chrysomya albiceps*, 72h, 640x; b) Primórdio de conidióforo reisolado de larva de *Chrysomya albiceps*, 96h, 640x; c) Conidióforos e conídios ao longo do eixo hifal, mostrando célula coniogênica de terminação em zigue-zague (seta) reisolada de larva, 96h, 640x; d) Conidióforos maduros e conídios reisolados de adulto de *Chrysomya albiceps*, 120h, 640x.

Foi observada a formação de micélio nas primeiras 48 horas no reisolado de ovo, larva e adulto de *C. albiceps* e do controle. Às 72 horas foram observadas várias anastomoses (Fig. 3a), importantes para realização do ciclo parassexual (PACCOLA-MEIRELLES; AZEVEDO, 1991) no qual se processa através da plasmogamia, estabelecimento do heterocário e formação de diplóides e recombinantes mitóticos (AZEVEDO, 2001). Às 96 horas, foi constatada a presença de primórdios de conidióforos e conidióforos jovens no reisolado de ovo, larva e adulto. Estas observações foram confirmadas também no controle (Fig. 3b). Às 120 horas foram observados conidióforos ao longo do eixo hifal (Fig. 3c) e abundantes conidióforos maduros formando densos cachos de conídios globosos isolados, característicos da espécie (DE HOOG, 1972) (Fig. 3d). Não foram encontradas diferenças morfológicas entre os reisolados de ovo, larva, adulto e do controle, embora estas características tenham sido mais abundantes e intensas no reisolado oriundo de larva. As características observadas em relação ao tempo concordam com os resultados relatados por SOUSA (2002) quando estudaram o comportamento de *B. bassiana* "in vitro".

Foi observado 100% de conídios uninucleados, de formato globoso, antes e pós-passagem em ovo, larva e adultos de *C. albiceps*, pós-infecção experimental, não sendo observado variação na condição nuclear entre o controle e os reisolados das diferentes fases pós-embrionárias de *C. albiceps*. Estes resultados são semelhantes aos de PACCOLA-MEIRELLES; AZEVEDO (1991) e FERREIRA (2000) quando trabalharam com linhagens selvagens de *B. bassiana* em cultura, "in vitro".

CONCLUSÕES

Quanto ao comportamento de *Beauveria bassiana* após reisolamento, foi observada que a germinação dos conídios oriundos do fungo pós-passagem em ovo, larva e adulto não varia quando comparada com o controle; o número de conídios recuperados pós-passagem de adulto e larva é maior que o controle. O diâmetro das colônias do fungo pós-passagem em ovo, larva e adulto varia de acordo com o período avaliado.

Quanto à citologia, as estruturas vegetativas e reprodutivas pós-passagem em larva apresentaram-

se de forma mais intensa e abundante do que em ovo e em adulto. A condição uninucleada dos conídios e hifas permaneceu para o fungo pós-passagem em ovo, larva e adulto. Esses resultados mostram o alto grau de adaptação desse fungo, o que confirma a sua preferência no controle de inseto-praga que poderá ser extrapolado para *C. albiceps*, como uma alternativa de controle a ser investigada.

REFERÊNCIAS

- ABED-BENAMARA, M.; RODHAIN, F.; PEREZ-ELD, C. First case of human otomyiasis from *Chrysomya bezziana*. *Bulletin Société de Pathologie Exotique*, v. 90, p.172-175, 1996.
- ALMEIDA, J.C.; ALBUQUERQUE, A.C.; LUNA-ALVES LIMA, E.A. Viabilidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vull. Reisolado de ovos, larvas e adultos de *Anthonomus grandis* (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) artificialmente infectado. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, n.4, p.473-480, 2005.
- ALVES, S.B. *Controle Microbiano de Insetos*. São Paulo: FEALQ, 1998.
- ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M.; MOINO JUNIOR, A.; SIMAC, J.L.; PEREIRA, R.M. Use of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for control of *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) in pastures. *Ecossistema*, v.20, p.50-57, 1995.
- AZEVEDO, J.L. O uso dos fungos em biotecnologia. In: SERAFINE, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Eds.). *Biotecnologia na Agricultura e na Agroindústria*. Guaíba: Agropecuária, 2001. p.93-149.
- 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.
- BROWNBIGDE, M.; COSTA, S.; JARONSKI, S.T. Note: Effects of in vitro passage of *Beauveria bassiana* on virulence to *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.77, p.280-283, 2001.
- DE HOO, G.S. The Genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium* Gen. Nov. *Studies in Mycology*, v.1, p.1-41, 1972.
- ERZINCIOGLU, U.Z.; WHITCOMBE, R.P. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) in dung and causing myiasis in Oman. *Entomologist's Monthly Magazine*, v.119, p.51-52, 1983.
- FARGUES, J.; GOETTEL, M.S.; SMITS, N.; OUEDRAGO, A.; ROUGIER, M. Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins. *Mycologia*, v.89, p.383-392, 1997.
- FEIJÓ, F.M.C.; MELO, E.H.M.; MACIEL, M.V.; ATHAYDE, A.C.R.; LUNA-ALVES LIMA, E.A. Efeito de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* em adultos de *C. albiceps*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 30., 2002, Manaus, AM. *Resumos*. Manaus: 2002. CD-ROM.
- FERNANDEZ, S.; GRODEN, E.; VANDENBERG, J.D.; FURLONG, M.J. The effect of mode of exposure to *Beauveria bassiana* on conidia acquisition and host mortality of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.77, p.217-226, 2001.
- FERREIRA, U.L. *Crescimento e Condição nuclear de Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae e Metarhizium flavoviride em meio de cultura e substratos naturais diferentes*. 2000. 68f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, UFPE, 2000.
- GAGNÉ, R.J. *Chrysomya* spp. old world blowflies (Diptera: Calliphoridae), recently established in Americas. *Bulletin of the Entomological Society of America*, v.27, p.21-22, 1981.
- GUIMARÃES, A.M.T. *Efeitos de carrapaticidas químicos e observações citológicas em Metarhizium anisopliae*. 2002. 58f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.
- HAEJEK, A.K.; ST. LEGER R.J. Interactions between fungal pathogens and insects hosts. *Annual Review of Entomology*, v.39, p.293-322, 1994.
- INGLIS, G.D.; GRANT, M.D.; KAWCHUK, L.M.; GOETTEL, M.S. Influence as oscillatin temperatures on the competitive infection and colonization of the migratory Grasshopper by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium flavoviride*. *Biological Control*, v.14, p.111-120, 1999.
- KUMAR, V.; SINGH, G.P.; ABU, A.M.; AHSAN, M.M.; DATTA, R.K. Germination, penetration, and invasion of *Beauveria bassiana* on silkworm, *Bombyx mori*, causing white muscardine. *Italian Journal of Zoology*, v.66, p.39-43, 1999.
- LEITE, A.C.R.; MADEIRA, N.G.; GUIMARÃES, M.P.; LIMA, W.S. Primeira ocorrência no Brasil de míase em bezerro por *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.35, p.287-288, 1983.
- LECUONA, R.E. Control microbiano com hongos entomopatógenos em la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, v.58, p.301-306, 1999.
- LECUONA, R.E.; TURICA, M.; TAROCCO, F.; CRESPO, D.C. Microbial control of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) with selected strains of *Beauveria bassiana*. *Journal of Medical Entomology*, v.42, n.3, p.332-336.
- LEZAMA-GUTIERREZ, R.; TRUJILLO, A.L.; MOLINA-UCHOA, J.; REBOLLEDO-DOMINGUEZ, O.; PESCADOR, A.R.; LOPEZ-EDWARDS, M.; ALUJA, M. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): laboratory and field trials. *Journal of Economic Entomology*, v.93, p.1080-1084, 2000.
- LIU, N.; YUE, X. Insecticide resistance and cross-resistance in the house fly. *Journal of Economic Entomology*, v.93, p.1269-1275, 2000.
- LIU, H.; SKINNER, M.; BROWNBIGDE, M.; PARKER, B.L. Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v.82, p.139-147, 2003.
- LUNA-ALVES, LIMA, E.A. *Características citológicas e genéticas de linhagens selvagens, mutantes e diplóides de Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin*. 1985. 260f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1985.

- LUNA-ALVES LIMA, E.A. Aspectos taxonômicos e citológicos de Hyphomycetes (Deuteromycotina) entomopatogênicos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.84, p.17-20, 1989. Supelmento 3.
- LUNA-ALVES LIMA, E.A.; AZEVEDO, J.L. Técnicas para coloração nuclear em estruturas vegetativas de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Boletim do Grupo de Pesquisadores de Controle Biológico*, v.4, p.20-21, 1983.
- LUNA ALVES-LIMA, E.A.; TIGANO, M.S. Citologia de estruturas leveduriformes de *Beauveria bassiana* em meios de cultura líquidos e na hemolinfa de *Spodoptera frugiperda*. *Revista de Microbiologia*, v.20, p.85-94, 1989.
- LUZ, C.; TIGANO, M.S.; SILVA, I.G.; CORDEIRO, C.M.T.; ALJANABI, S.M. Selection of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates to control *Triatoma infestans*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.93, p.839-846, 1998.
- MACIEL, M.V. Ação do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no desenvolvimento pós-embrionário de *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae), sob condições controladas em laboratório. 2002. 58f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 2002.
- MACIEL, M.V.; LIMA, E.A.L.A.; ALVES, N.D. FEIJÓ, F.M.C. Ação do fungo *Beauveria bassiana* no desenvolvimento pós-embrionário de *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) em laboratório. *Caatinga*, Mossoró, v.18, n.1, p.1-5, 2005.
- MAGALHÃES, B.P.; GOETTEL, M.S.; FRAZÃO, H.S. Sporulation of *Metarhizium Anisopliae* var. *acridum* and *Beauveria bassiana* on *Rhammatocerus schistocercoides* under humid and dry conditions. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.31, p.162-164, 2000.
- MARCANDIER, S.; KHACHATOURIANS, G.G. Susceptibility of the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes* (Fab.) (Orthoptera: Acrididae), to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin (Hyphomycetes): Influence of relative humidity. *Canadian Entomologist*, v.119, 901-907, 1987.
- MELO, I.S. Recursos genéticos microbianos. In: MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C.; NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C. (Eds.). *Recursos genéticos & melhoramentos - Microrganismos*. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2002. p.2-48.
- MITCHELL, J.K. Development of a submerged liquid sporulation medium for the potential smart weed bioherbicide *Septaria polyganorum*. *Biological Control*, v.27, p.293-299, 2003.
- MILNER, R.J.; STAPLES, J.A.; LUTTON, G.G. The effect of humidity on germination and infection of termites by the hyphomycete, *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.69, p.64-69, 1997.
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; AZEVEDO, J.L. Parasexuality in *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.57, p.172-176, 1991.
- PAIÃO, J.C.V.; MONTEIRO, A.C.; KRONKA, S.N. Susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to isolates of the fungus *Beauveria bassiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.17, p.245-251, 2001.
- PAIVA, L.M.; PADOVAN, I.P.; LUNA-ALVES LIMA, E.A. Scanning electron microscopy of vegetative from *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. strain stored in mineral oil. *Boletín micológico*, v.11, p.81-86, 1996.
- RICHARD, R.D.; GERRISH, R.R. The first confirmed field case of myiasis produced by *Chrysomya* sp. (Diptera: Calliphoridae) in the continental United States. *Journal of Medical Entomology*, v.20, p.685, 1983.
- SANTOS, G.F.; NASCIMENTO, F.S.B.; ATHAYDE, A.C.R.; LUNA ALVES-LIMA, E.A. Viabilidade de *Paecilomyces lilacinus* após infecção experimental de *Boophilus Microplus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro, RJ. *Resumos*. Rio de Janeiro: 2002, CD-ROM
- SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. *Biocultura e na agroindústria*. Guaíba: Agropecuária, 2001.
- SOSA-GOMÉZ, D.R.; ALVES, S.B. Temperature and relative humidity requirements for conidiogenesis of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliaceae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.29, p.515-521, 2000.
- SOUSA, A.C.B. *Comportamento de Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch em cultura. 2002. 32f. Monografia (Especialização) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.
- ZUMPT, F. *Myiasis in man and animals in the old world*. Butterworths, London. 1965.

Recebido em 28/9/06

Aceito em 8/12/07