

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
ÁREA DE AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

CARLA SAMANTA PEGORINI

***SEGURANÇA E EFEITO DE METARHIZIUM ANISOPLIAE (METSCH.)
SOROKIN SOBRE ORYCTOLAGUS CUNICULUS***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2012

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE ZOOTECNIA**

CARLA SAMANTA PEGORINI

**SEGURANÇA E EFEITO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROKIN SOBRE *Oryctolagus cuniculus***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2012

CARLA SAMANTA PEGORINI

**SEGURANÇA E EFEITO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROKIN SOBRE *Oryctolagus cuniculus***

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado ao Curso de Zootecnia da
Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como
requisito parcial à obtenção do título de
ZOOTECNISTA

Orientador: Msc Prof^a Katia Atoji Henrique

Co-Orientador: Prof. Dr^a Michele Potrich

DOIS VIZINHOS

2012

Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Gerência de Ensino e Pesquisa
Curso de Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

TCC

***SEGURANÇA E EFEITO DE *Metarhizium anisopliae* (METSCH.)
SOROKIN SOBRE *Oryctolagus cuniculus****

Autor: Carla Samanta Pegorini

Orientador: Msc Prof^a Katia Atoji Henrique

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA em 18 de outubro de 2012.

Prof^a. Dr^a. Michele Potrich

Prof. Dr. Everton R. L. da Silva

**Msc Prof^a Katia Atoji Henrique
(Orientador)**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pela vida concedida. À meus pais, Noeli F. Lazzarin Pegorini e Lauri A. Pegorini, pelo amor, apoio e motivação durante estes anos de estudo. À minha irmã Jessica I. Pegorini pela parceria e ajuda prestada nos finais de semana no laboratório e à campo.

Agradeço aos amigos, que estiveram presentes em todos os momentos de minha vida, sempre pacientes e atenciosos.

Aos professores de graduação, pelos ensinamentos, estímulo e amizade.

Ao professor Alfredo de Gouvêa, pela orientação de pesquisa durante os últimos três anos.

Aos meus professores e co-orientadores, Michele Potrich e Everton R.L. da Silva, por serem esses grandes Doutores, que dividiram uma imensa carga de conhecimentos, mais que professores, grandes amigos e pela confiança cedida, por acreditar na minha capacidade para executar esse trabalho, e que sem vocês a realização deste não seria possível.

À professora Msc Prof a Katia Atoji Henrique pela disposição em orientar este trabalho.

Aos amigos, que colaboraram durante o período de instalação até a conclusão do trabalho, pela ajuda cedida à campo e laboratório: Daiane Luckmann, Dieli Simionatto, Aline Mara dos S. Telles, Silvana Simionato, pelas inúmeras horas no abatedouro, no laboratório com as análises e pelo companheirismo incondicional.

Aos colegas de curso, pelo companheirismo e amizade.

À UTFPR de Dois Vizinhos, com toda sua estrutura, sempre de portas abertas, possibilitando o desenvolvimento da pesquisa.

À empresa Itaforte Bio Produtos, pela doação do produto comercial utilizado.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Ainda que eu fale a língua dos homens
e dos anjos, se não tiver amor,
serei como o bronze que soa, ou como
o címbalo que retine.

Ainda que eu tenha o dom de profetizar
e conheça todos os mistérios e toda a ciência;
ainda que eu tenha tamanha fé a ponto
de transportar montanhas,
se não tiver amor nada serei.

Ainda que eu distribua todos os
meus bens entre os pobres
e ainda que entregue meu próprio
corpo para ser queimado,
se não tiver amor,
nada disso me aproveitará.”

Trecho da carta de São Paulo aos Coríntios

RESUMO

PEGORINI, Carla S. Segurança e efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre *Oryctolagus cuniculus*, 2012, 37 f. (Trabalho de Conclusão de Curso) – Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2012.

A cunicultura, no Brasil, é uma das atividades agropecuárias que pode ser desenvolvida em conjunto com a produção de alimentos orgânicos em pequenas propriedades. A alimentação de coelhos nestas propriedades é feita com forragens, sendo a rami e a alfafa as mais comumente utilizadas. A aplicação de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos praga destas culturas é prática comum de produtores de alimentos orgânicos. No entanto, não existem informações na literatura sobre a segurança da ingestão destes fungos em coelhos e seus possíveis efeitos. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a segurança e o efeito do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) da raça Nova Zelândia. O experimento foi realizado nas dependências da Unidade de Pesquisa e Extensão (UNEPE) de pequenos animais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV). O experimento foi executado em um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (testemunha, tratamento com fungos inativos e tratamento com fungos ativos) e sete repetições, totalizando 21 animais. Para garantir a ingestão dos fungos, 2g do fungo, foram fornecidos aos coelhos misturados à ração em sua primeira refeição diária, durante cinco dias, dentro do período de crescimento. Para determinar os efeitos sobre o desempenho, foram observados ganho de peso, conversão alimentar e avaliação de carcaça. Também foram observados alterações de comportamento e o possível surgimento de sinais clínicos. As fezes foram cultivadas para verificar a eliminação do fungo *M. anisopliae* viável nas fezes. Não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados quanto ao peso final, ganho médio diário e conversão alimentar, e os animais apresentaram uniformidade de carcaça, independente do tratamento. Os coelhos dos três tratamentos não apresentaram sinais de alergia de pele, anorexia, diarreia e/ou vômitos e, não houve ocorrência de alterações comportamentais. Observou-se que *M. anisopliae* apresentou-se viável após passar pelo trato gastrointestinal em até 48 horas após a última ingestão. O fungo *M. anisopliae* foi seguro para o organismo não-alvo *O. cuniculus*, que não apresentaram qualquer efeito negativo sobre o desempenho, ao exame visual e ao comportamento deste animal.

Palavras-chave: Produção Orgânica. *Oryctolagus cuniculus*. Fungos Entomopatogênicos. Organismo não alvo.

ABSTRACT

PEGORINI, Carla S. Security and effects of *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN on *Oryctolagus cuniculus*, 2012, 37 f. (Trabalho (Conclusão de Curso) – Programa de Graduação em Bacharelado em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2012.

Rabbit production is an agricultural activity that can be developed together with organic food production in small rural properties in Brazil. Rabbits are fed with vegetables, such as rami and alfafa, the most commonly used. Entomopathogenic fungi are commonly applied to control insects plague of these cultures by organic food producers. However, there is no information in literature about the safety and possible effects when these fungi are ingested by rabbits. Thus, the objective of the present work is to evaluate the safety and effects of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) New Zealand breed. The experiment was performed at the Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão (UNEPE) of small animals of Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV). The experimental design was totally randomized, with three treatments (control group, inactivated fungi and viable fungi) and seven replicates per treatment totaling 21 animals. In order to guarantee the intake of fungi, 2g were mixed in feed and supplied at the first meal of the day, observing total intake, during five days, within the growth period. Performance was determined with data from weight gain, food conversion and carcass evaluation. Behavior and clinical signs were also observed. Feces cultures were performed in order to verify the elimination of viable *M. anisopliae* in feces. The effects upon performance were determined with observations of weight gain, food conversion and carcass evaluation. Also, alterations on behavior and possible surging of clinical signs were observed. Feces were cultivated to verify the elimination of viable *M. anisopliae* in feces. There was no significant difference among evaluated treatments on weight gain, average daily gain and food conversion, and the animals presented good carcass uniformity, independent of treatment. Rabbits from three treatments did not present signs of allergy on skin, anorexia, diarrhoea and/or vomits and neither occurrence of behavior alterations. *M. anisopliae* was safe for, the non-target organism, *O. cuniculus* that showed any negative effect upon performance, visual exam and behavior of this animal.

Key-words: Organic Production. *Oryctolagus cuniculus*. Entomopathogenic Fungus. Non target Organism.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 OBJETIVO GERAL/ESPECÍFICO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Sistemas Alternativos de Produção.....	10
2.2 Cunicultura.....	13
2.2.1 Alimentação Alternativa: Alfafa e Rami.....	15
2.3 Fungos Entomopatogênicos.....	17
2.4 Segurança na Utilização de Fungos Entomopatogênicos.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Análise dos animais.....	23
3.2 Análise das fezes.....	23
3.3 Avaliação de carcaça.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Análise dos animais.....	26
4.2 Presença de <i>M. anisopliae</i> nas fezes de <i>O. cuniculus</i>	28
4.3 Avaliação de carcaça.....	30
5 CONCLUSÕES.....	30
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

A elevada procura por alimentos saudáveis tem sido observada na população brasileira, fazendo com que os produtores que abastecem os nichos comerciais adotem sistemas que garantam a produção e a qualidade de alimentos sem utilização de insumos convencionais. Isso faz com que a busca pelos sistemas alternativos de produção apresentem crescimento, tanto na pecuária, como na agricultura em geral. Um dos sistemas alternativos ao convencional é o sistema orgânico, mas como qualquer sistema que venha a passar ao sistema orgânico, este precisa ser convertido durante certo tempo, desde o início do manejo orgânico até a certificação das culturas ou plantéis (IFOAM, 1998).

A cunicultura, principalmente no Brasil, é uma das atividades que se encaixa dentro dos padrões de produção em pequenas propriedades, que usualmente são ou se tornam orgânicas, uma vez que esta diversifica sua produção e tem mão de obra familiar, facilitando o manejo orgânico das atividades desenvolvidas. A cunicultura se torna complementar quando a produção de uma cultura estiver em baixa. Isto vem mostrar que a criação de coelhos pode ser uma alternativa junto à cultura principal (PROJETOS...,2008).

Nas pequenas propriedades, a utilização de controles alternativos como a utilização de extratos vegetais para o controle de pragas é uma das formas que contribuem para a redução e/ou eliminação da aplicação de inseticidas sintéticos, os principais responsáveis pelo desequilíbrio em organismos benéficos e ao meio ambiente (MACHADO et al., 2007). Outra estratégia é a utilização de defensivos alternativos, como as caldas (calda bordalesa, calda viçosa, calda sulfocálcica, etc.), que agem como fungicida, inseticida, acaricida, repelentes e como adubação foliar, obtendo produtos agrícolas mais saudáveis e com segurança alimentar (PEREIRA et al., 2009). Os controles alternativos utilizados nas diferentes culturas são baseados na utilização de insumos a base de produtos naturais, sem proveniência alguma de origem química sintética. Outra estratégia de controle alternativo é o controle biológico, com destaque no emprego dos parasitoides e dos fungos entomopatogênicos (LOPES et al., 2004).

Dentre os fungos entomopatogênicos, os mais utilizados para controle de insetos praga são *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, os quais vêm sendo utilizados para controle das cigarrinhas das pastagens (*Deois flavopicta* Stall) (Hemiptera: Cercopidae), pragas da cultura da cana, como a cigarrinha da raiz (*Mahanarva fimbriolata* Stal) (Hemiptera: Cercopidae), pragas encontradas nas culturas da soja, como a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis* Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), e do milho, lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), entre outras (ALVES, 1998). Os fungos também estão sendo estudados como potenciais agentes de controle na pecuária, para o controle de ectoparasitas como os carrapatos, em animais (ATHAYDE et al., 2001). No entanto, há poucas informações sobre a segurança destes entomopatógenos a vertebrados.

Dentre estas poucas pesquisas, Costa et al. (2010) avaliaram a segurança de *B. bassiana* ao frango *Gallus domesticus* e verificaram que o mesmo é inócuo para esta ave, sendo que as aves não apresentaram nenhuma alteração de comportamentos ou lesões macroscópicas de pele, órgãos e mucosas.

Nas propriedades familiares e/ou orgânicas é comum o emprego de rami e alfafa, além de algumas hortaliças, na alimentação de coelhos. Também é comum nestas propriedades a aplicação de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos praga destas culturas. No entanto, esta aplicação, e posterior utilização dos vegetais para alimentação de coelhos, é realizada sem o conhecimento do efeito que estes fungos podem causar nestes mamíferos. Os efeitos podem não ser letais, mas podem interferir no comportamento e no desempenho do animal, gerando redução no seu desenvolvimento e conseqüente queda de produção e renda.

Assim, tendo em vista a utilização de fungos entomopatogênicos para controle de insetos praga, utilizados tanto sobre plantas como também em vertebrados, esse trabalho focou nos efeitos desses fungos quando aplicados diretamente na alimentação de coelhos, verificando a segurança alimentar dos mesmos.

1.1 OBJETIVO GERAL/ESPECÍFICO

Avaliar a segurança e o efeito do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre o coelho *Oryctolagus cuniculus*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sistemas Alternativos de Produção

Nas últimas décadas a agropecuária mudou sua característica através do emprego de tecnologias, máquinas agrícolas e indústria química. Isso impulsionou uma maior produção de alimentos, trazendo consigo alguns efeitos colaterais. Paralelamente à crescente desse movimento tem-se a preocupação com referência aos aspectos ambientais e de saúde humana, que alicerçados em uma legislação cada vez mais rigorosa, faz com que os produtores adotem métodos e processos agrícolas mais seguros e sustentáveis, os sistemas alternativos de produção. Estes sistemas conduzidos principalmente pela agricultura familiar são baseados na interação dinâmica entre solo, plantas, animais, pessoas e meio ambiente, sendo voltados para o melhoramento dos ciclos de vida natural ao invés de exaurir os recursos naturais (IFOAM, 1998).

A agricultura familiar está cada vez mais sendo valorizada nacionalmente, por possuir um importante papel na produção de alimentos, os quais se apresentam em formas diversificadas de produção. Isso se dá devido à monopolização de grandes áreas, as quais estão se tornando áreas comerciais, produzindo em escala cada vez maior, uma diversificação menor de produtos, tanto agrícola como pecuário (LIMA et al., 2007). Desta forma, para a obtenção de alimentos saudáveis, sem risco à natureza, são necessários conhecimentos de técnicas alternativas, permitindo que o agricultor trabalhe de forma harmonizada com o ambiente e ofereça alimentos

seguros consumidores, além de uma valorização destes alimentos produzidos sem o uso de produtos químicos (EMATER, 2012).

Os produtos oriundos desses sistemas de produção crescem significativamente, fortalecendo um “novo” mercado. Nesse contexto, o modelo de produção da pecuária orgânica certificada apresenta-se como uma alternativa que contribui para o desenvolvimento sustentável.

A pecuária orgânica certificada introduz novos valores de sustentabilidade ambiental e social dentro do sistema produtivo, no qual a propriedade rural é vista como um organismo equilibrado em todas as suas funções. Para um sistema de produção agropecuária orgânica, é necessário empregar tecnologias que venham a aperfeiçoar o uso de recursos naturais e econômicos, havendo autossustentação, maximizando os benefícios sociais e, principalmente, eliminando o uso de produtos fitossanitários sintéticos e insumos artificiais, mantendo a saúde ambiental e humana (KATIKI, 2005). Os métodos alternativos de controle de pragas, além do benefício ao ambiente e às populações de insetos benéficos, como inimigos naturais e polinizadores, é um método mais barato ao produtor, quando comparado aos métodos convencionais, e se encaixa na filosofia da produção sustentável (LOPES et al., 2004).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011), a Instrução Normativa nº 46, de 06 de outubro de 2011, substitui a normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008, sendo a primeira responsável pelas normas de produção orgânica animal e vegetal no Brasil. Uma das mudanças na nova normativa é sobre a produção de animais orgânicos, as quais se refere às criações de bovinos, bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos, aves, coelhos e abelhas, buscando o bem estar animal, mantendo sempre padrões higiênicos de manejo, controle sanitário adequado, alimentação que atenda às necessidades e, por último, melhoria do grupo de animais pelo trabalho com características genéticas. Segundo Signor et al. (2011), para o início de uma criação animal orgânica, é necessário que esta unidade de produção, que antes trabalhava com sistemas convencionais, passe por uma conversão. Essa conversão irá depender do tipo de exploração feita anteriormente, forma da utilização da área, situação ambiental atual e objetivos de produção.

Como exemplo tem-se a produção do leite orgânico, que é um produto certificado e acompanhado da origem ao mercado, e fornece ao consumidor a credibilidade de estar adquirindo realmente um produto saudável. Para isso, as propriedades devem possuir instalações que ofereçam conforto aos animais, bem como receber manejos adequados de sanidade e nutrição dentro dos padrões orgânicos (FERREIRA, 2004).

Como a produção orgânica vem tomando seu espaço no mercado, por apresentar uma qualidade superior aos produtos convencionais, os produtores se preocupam em garantir a qualidade dos mesmos. Assim, propriedades que trabalham com produção orgânica, cujos alimentos são focados no mercado, devem possuir certificação e selo de qualidade dos produtos, como uma forma de garantia. Para tanto, o MAPA determinou padrões de produção, processamento, comercialização e importação dos produtos de origem animal e vegetal, para que a produção orgânica pudesse receber certificação de qualidade do produto (ORMOND et al., 2008).

Ao contrário do que ocorre na produção orgânica, na convencional, o uso indevido de produtos químicos sintéticos tem levado a seleção de populações resistentes de insetos praga e fungos, fazendo com que ocorra um aumento no número de doses e aplicações destes produtos, bem como no desenvolvimento de novas formulações químicas, tornando assim os produtos mais agressivos, causando efeitos negativos sobre os inimigos naturais, organismos não alvos e o ambiente em geral. Muitas vezes, o uso indiscriminado e super dosagens têm elevado os riscos de contaminação por produtos químicos sintéticos, o que fez com que o uso desses no controle de pragas tem sido reduzido em várias partes do mundo, conseqüentemente, aumentando o interesse no controle alternativo, entre eles, o uso de fungos parasitas de insetos, conhecidos como fungos entomopatogênicos (ASSUNÇÃO; HPADHYAY, 1990; ZURDO; FRANCISCO, 2010). Quando esses fungos recebem condições para seu estabelecimento nas culturas, eles podem regular o crescimento de populações de insetos praga, impedindo o ressurgimento secundário, fazendo com que a utilização de produtos químicos diminua nas áreas cultivadas (ALVES et al., 2008).

Para exemplificar a amplitude e o potencial dos micro-organismos entomopatogênicos, pode-se citar alguns programas de controle de pragas já implantados no Brasil, como a utilização de fungos para o controle da cigarrinha da raiz na cana de açúcar (*M. fimbriolata*) e das pastagens (*D. flavopicta*) (ALVES, 1998), da broca da bananeira (*Cosmopolites sordidus* Germar), broca do café (*Hypothenemus hampei* Ferrari), percevejo de renda da seringueira (*Leptopharsa heveae* Drake & Poor) (FARIA; MAGALHÃES, 2001), para controle de gafanhoto verde (*Tropidacris grandis* Thunberg) (FARIA et al., 2002) e do gorgulho da cana (*Sphenophorus levis* Vaurie) (BACILIERI et al., 2006). É conhecida a utilização de vírus e bactérias no controle da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner) e da mandioca (*Erinnyis ello* Linnaeus) (ALVES, 1998), e nematoides no controle da vespa da madeira (*Sirex noctilio* F.) em pinus (FENILI et al., 2000; IEDE et al., 2000), entre outros. Além disso, o controle microbiano vem sendo utilizado com sucesso onde inseticidas químicos não são práticos ou aceitáveis, como em silvicultura (LORD, 2005) e, principalmente, na agricultura orgânica.

Nesse contexto, considerando-se o controle biológico, uma das possíveis soluções para o controle de pragas das pastagens, seria a aplicação de fungos entomopatogênicos nas forrageiras disponibilizadas aos coelhos, tendo a garantia de que os fungos não causariam problemas aos mesmos. Além disso, caso estes fungos fossem eliminados ainda viáveis nas fezes, as quais são utilizadas como forma de adubação propiciaria a manutenção do fungo no ambiente e conseqüentemente a manutenção do controle das pragas.

2.2 Cunicultura

A cunicultura é uma das atividades na qual os animais proporcionam maiores rendimentos produtivos ou que melhor satisfazem as condições ou produções dele exigidas, trazendo lucros ao criador (VIEIRA, 1995). O coelho doméstico, criado com fins lucrativos, é descendente do coelho silvestre europeu, *Oryctolagus cuniculus*. Nos Estados Unidos, existem diversas raças e variedades desse animal, o qual

valoriza tanto o mercado de carne como também o mercado de peles para confecções (MELLO; SILVA, 2003). Já no Brasil, a maioria dos criadores desenvolve a cunicultura juntamente com outras atividades principais na propriedade, tendo pequenos plantéis (SILVA, 2006). O estado do Paraná tem produção mensal de quatro a sete toneladas de carne, considerada carne nobre, tendo como principal consumidor o estado de São Paulo (SAIKI, 2008). Contabilizado em 2010, o plantel nacional estava em 226.359 animais, havendo um decréscimo de 4,16%, considerando-se o ano de 2009, que tinha plantel de 236.186 coelhos. O Paraná está com plantel estimado em 33.192 animais (14,66% do total nacional), colocando-se na condição de terceiro maior plantel do país, antecedido por Santa Catarina (2º lugar, com 38.212 animais e com 16,88% do total) e o Rio Grande do Sul (1º lugar - 86.021 animais e 38,0% do total nacional) (SILVA, 2012).

Os coelhos apresentam alta prolificidade, com ciclo produtivo curto, o que faz com que seja explorado comercialmente. Quanto a reprodução, os animais alcançam maturidade sexual com seis meses de idade, onde o método de acasalamento mais indicado é o natural, tendo parição cerca de 27 a 32 dias após a cobertura. Os láparos podem ser desmamados com 30 a 45 dias após nascimento, onde, conforme o sistema de criação irão receber pastagens como alfafa e rami suplementado ou não com ração (DUARTE, 2008).

Quanto sua fisiologia, o aparelho digestivo dos coelhos apresenta algumas particularidades, como a prática da cecotrofia, ou seja, ingestão dos cecotrófos, a qual é a digesta que é elaborada no ceco, sendo uma atividade vital para estes animais, fazendo parte da fisiologia digestiva dessa espécie (MELLO; SILVA, 2003). A cecotrofia é um mecanismo de adaptação às difíceis condições ambientais, cujo resultado da digestão realizada pelos coelhos é excretado de duas maneiras, sendo um eliminado na forma de fezes duras e outro na forma de fezes moles, diferenciados entre si pelo processo de formação e excreção (PROTO, 1984). Além de fornecer determinada quantidade de nutrientes para os animais, o cecotrófo, após a fermentação microbiana, permite a reciclagem de parte do alimento não digerido, o que possibilita um melhor aproveitamento de proteínas e vitaminas (PROTO, 1984; ALVES et al., 2010).

Geralmente a cecotrofia é realizada à noite, nas últimas quatro horas após a última ingestão dos alimentos, podendo acontecer também em outros horários. Nesse processo os cecotrófos vão para o estômago, onde permanecem por mais seis a oito horas, completando a digestão microbiana. Os mesmos são envolvidos por um muco com pH em torno de 6 a 6,5, sendo eficiente para a ação da flora microbiana e após a degradação desse muco, o material formador do cecotrófo juntamente com outros micro-organismos vão para o intestino delgado, passando por digestão enzimática e absorção (MELLO; SILVA, 2003).

Os coelhos exigem altos teores de fibra na ração, que têm a função de manter a consistência e o volume da digesta. Dessa forma, regula o trânsito digestivo distendendo a mucosa para a motilidade intestinal, além das fibras servirem também como substrato para a microbiota presente no ceco. Assim, as pastagens são fornecidas para atender as necessidades de fibras para os coelhos, fazendo com que a escolha da planta também venha a atender outras exigências como teor de proteína, vitaminas, minerais, etc. Dentre as pastagens mais utilizadas encontram-se a Alfafa (*Medicago sativa*) e o Rami (*Boehmeria nivea*) (MELLO; SILVA, 2003).

2.2.1 Alimentação Alternativa: Alfafa e Rami

Para trabalhar com manejo alimentar balanceado, fornecendo alimentação verde aos coelhos, juntamente com a ração, geralmente consorcia-se com rami e alfafa. No entanto, ambas forrageiras são atacadas por vários insetos praga e, sendo que para a cultura da alfafa, encontram-se a lagarta da soja *A. gemmatilis*, curuquerê dos capinzais *Mocis latipes* Guen (Lepidoptera: Noctuidae), lagarta do cartucho *S.* e borboleta da alfafa *Colias lesbia pyrrhothea* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (GALLO et al., 2002). Essas mariposas realizam postura nas folhas e na fase larval alimentam-se das folhas e hastes da alfafa, causando prejuízos por destruírem o limbo foliar das plantas, que são utilizadas como alimento.

Um dos controles recomendados é a utilização de fungos entomopatogênicos, em especial *M. anisopliae*, na forma inoculativa ou inundativa, variando-se as formulações e dosagens, no qual a concentração mínima recomendada é de $1,0 \times 10^{12}$ conídios por hectare, não deixando resíduos significantes nas plantas que serão consumidas por animais, ou quando presentes, considerados possivelmente inócuos (ALVES et al., 2008).

Na cultura do Rami, as pragas que predominam são mariposas de coloração amarela com manchas circulares *Pantherodes pardalaria* Hübner (Lepidoptera: Geometridae) e mariposas pequenas, de asas delicadas *Sylepta silicalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae). Enquanto estão na fase larval, causam danos nas folhas, quebrando a produção de massa verde. Para seu controle também é indicada a utilização de produtos biológicos, como bactérias e fungos entomopatogênicos, para evitar resíduos nas plantas (GALLO et al., 2002).

Atualmente, alguns trabalhos vêm sendo desenvolvidos sobre epizootiologia com os fungos do gênero *Beauveria* e *Metarhizium* para o controle de pragas de pastagens, sendo aplicados diretamente sobre as pragas e também para o controle de ectoparasitas em animais. Em testes com *M. anisopliae* sobre *S. frugiperda* na cultura do milho, verificou-se que houve diminuição do número de lagartas e, conseqüentemente, menor dano nas plantas avaliadas. Dentre os fungos utilizados, os isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* apresentaram patogenicidade sobre lagartas do cartucho do milho *S. frugiperda*, as quais atingiram médias de 50% de mortalidade (SILVA et al., 2008; THOMAZONI et al., 2009).

Já é comprovada a eficiência dos fungos entomopatogênicos para o controle dos insetos praga das pastagens utilizadas na alimentação de coelhos (THOMAZONI et al., 2009). Além de todas as vantagens associadas à utilização do controle biológico, destaca-se ainda a importância do poder residual destes fungos, uma vez que aplicados sobre as plantas, as quais são fornecidas aos animais, podem estar viáveis nas fezes destes. Com isso, estudos são necessários para verificar se, uma vez as fezes dos animais contendo os fungos ativos, como no caso dos coelhos, as mesmas poderiam ser utilizadas pelos produtores para adubação das pastagens, hortas e pomares, contribuindo para manutenção do fungo no ambiente.

Na agricultura orgânica, geralmente oriunda de pequenas propriedades, a mão de obra é familiar, e trabalha-se com diferentes culturas, sendo que os esterco gerados na propriedade são utilizados como fonte de adubação. O esterco dos coelhos é um excelente subproduto da produção podendo enriquecer as demais culturas na propriedade já que se trata de um esterco orgânico, e com a adição de fungos para o controle de insetos pragas, sua empregabilidade eleva seu potencial.

Em alguns países esse adubo, seco e pulverizado, tem grande aceitação, sobretudo em horticultura e fruticultura, podendo ser utilizado como adubo em pomares e outras diferentes culturas (VIEIRA et al., 2000). Como a cunicultura é desenvolvida em pequenas propriedades, paralela a outras atividades, o emprego de fungos entomopatogênicos viabilizaria toda a produção orgânica, desde pastagens orgânicas, as quais receberiam adubação oriunda de animais orgânicos, valorizando o produto pela qualidade final e sustentabilidade do agroecossistema.

2.3 Fungos Entomopatogênicos

A utilização de fungos entomopatogênicos vem ampliando-se no Brasil, pois há uma grande distribuição geográfica, tanto da diversidade de hospedeiros como de ocorrências em condições naturais (ALVES, 1998), no qual os agentes biológicos mais utilizados são da espécie *M. anisopliae* e *B. bassiana* (NUNES et al, 2002). Estes fungos com ação sobre insetos vêm diminuindo populações de pragas, tornando-se assim conhecidos como organismos controladores de pragas agrícolas de diversas ordens (ALVES et al., 2008).

Os artrópodes, em geral, são hospedeiros do gênero *Beauveria*, isso ocorre em mais de 200 espécies de insetos e ácaros, incluindo carrapatos. *B. bassiana* tem ocorrência generalizada em todos os países, destacando-se sobre os insetos e em amostras de solos, onde pode subsistir por longo tempo em saprogênese (ALVES, 1998).

Os fungos iniciam seu processo infeccioso quando seu propágulo entra em contato com um hospedeiro que apresente potencial para seu desenvolvimento. Sendo um meio propício, ocorre a germinação do fungo na cutícula do hospedeiro, penetrando e colonizando a hemocele do inseto. Essa infecção irá romper a cutícula, permitindo que o fungo se desenvolva externamente, formando os esporos que permitem a dispersão. Assim, os processos fisiológicos dos insetos são bloqueados durante a colonização da hemocele, levando-os, geralmente, à morte (ALVES, 1998; CASTRILLO; ROBERTS; VANDENBERG, 2005).

Durante este processo de infecção, os fungos produzem metabólitos secundários derivados de vários intermediários do metabolismo primário, na qual alguns apresentam atividades biocida, levando, conseqüentemente, o hospedeiro à morte mais rápida. Exemplos de metabólitos são oosporina, beauvericina e bassianolide, que são produzidos pelo fungo *B. bassiana* (ALVES, 1998).

Os fungos entomopatogênicos passaram a receber maior atenção e estudos depois de 1964, quando houve a ocorrência epizootica de *M. anisopliae* sobre as cigarrinhas da cana de açúcar *M. fimbriolata*, assim como também o controle da broca da bananeira *C. sordidus* e percevejo da soja *Nezara viridula* Linnaeus (Hemiptera: Pentatomidae) por *B. bassiana* (ALVES, 1998).

O potencial bioinseticida dos fungos proporciona um estabelecimento equilibrado das pastagens, reduzindo danos causados pelas pragas. Pereira et al. (2008) avaliaram a ação de *B. bassiana* sobre *M. latipes* e *Spodoptera* sp., realizando três aplicações de conídios sobre a pastagem de tifton (*Cynodon dactylon* L.) logo no início do ataque às folhas, à uma concentração de $2,0 \times 10^9$ conídios/g. Confirmaram que *B. bassiana* pode ser utilizado como bioinseticida, pois quando realizada a terceira aplicação, encontraram altos índices de lagartas esporuladas.

Quando aplicado *B. bassiana* e *M. anisopliae* na forma líquida, em diferentes concentrações, sobre a cultura do milho, Canini et al. (2008) verificaram que houve diminuição natural de *S. frugiperda*, o que indica o potencial inseticida que os fungos entomopatogênicos exercem, os quais, de uma forma equilibrada, controlam pragas diminuindo os riscos de contaminação.

A eficiência bioinseticida de *M. anisopliae* foi verificada sobre a cigarrinha da raiz, *M. fimbriolata*, diminuindo sua população, sendo esta uma das principais pragas

da cultura da cana de açúcar. *M. anisopliae*, aplicado em diferentes concentrações, causou diminuição significativa da população de ninfas na área, demonstrando assim o potencial deste em controlar a praga (SANO et al., 2008).

Apesar do sucesso desses entomopatógenos e da propaganda sobre a segurança dos produtos orgânicos, quando se trabalha com entomopatógenos deve-se levar em consideração esses aspectos de segurança, como a possibilidade desses agentes estarem afetando os vertebrados e também a disseminação descontrolada do mesmo no ambiente (PEREIRA; ALVES, 1998). Nesse caso, os coelhos ingerindo pastagens que tenham sido pulverizadas com *M. anisopliae* para o controle de determinada praga, podem sofrer distúrbios devido à ingestão dos conídios ou, os mesmos causarem efeito residual, quando disseminados através das fezes.

2.4 Segurança na Utilização de Fungos Entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos, quando manipulados sobre insetos, encontram um dos principais requisitos para seu desenvolvimento, a temperatura, pois pelo fato dos insetos não apresentarem controle interno de temperatura, os fungos se desenvolvem facilmente, uma vez que a temperatura ideal para seu desenvolvimento é abaixo de 30°C, bem como os insetos. Com isso, organismos que são adaptados para se desenvolver em insetos, normalmente, não possuem capacidade para desenvolvimento em vertebrados, o qual traz segurança na utilização de entomopatógenos sobre vertebrados (PEREIRA et al., 1998).

Outra característica importante que impede o crescimento de entomopatógenos nos vertebrados é o sistema imunológico dos mesmos, pois estes possuem um sistema mais complexo e eficiente. Os fungos possuem sistemas enzimáticos, toxinas e modo de crescimento que são adaptados para afetar mecanismos apresentados por insetos, tornando-se ineficientes quando encontram o corpo de vertebrados (PEREIRA et al., 1998).

A ave falcão quiriquiri, *Falco sparverius*, ingerindo *B. bassiana*, não apresentou alteração comportamental, lesões patológicas aparentes e nem redução

de peso, indicando que essas aves não são susceptíveis a *B. bassiana* (JOHNSON, 2002). Alves et al. (2008), estudando *Astynax scabripinis* (Pisces: Characidae), espécie de lambari, na fase jovem, observaram que *M. anisopliae* não causou nenhuma forma de alteração e nem mortalidade, mostrando assim ser seguro também para a espécie.

Costa et al. (2010), também em testes com *B. bassiana* sobre frangos de corte, *Gallus domesticus* L., para verificar a segurança do entomopatógeno, observaram que as aves não apresentaram lesões nos tecidos avaliados (coração, rim, fígado, intestino delgado e pulmão). Também, encontraram conídios viáveis nas fezes após 24 horas da última ingesta do fungo, o que caracteriza que não houve germinação do mesmo nas aves, indicando que *B. bassiana* é seguro para este organismo não alvo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio experimental foi realizado nas instalações da UNEPE (Unidade de Ensino e Pesquisa) de Pequenos Animais, do Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos – PR (UTFPR-DV), no período de fevereiro a março de 2012.

Foram utilizados 21 coelhos da raça Nova Zelândia (*O. cuniculus*) na fase de crescimento, com 30 dias de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e sete repetições cada, sendo cada animal considerado uma repetição. Estes coelhos foram individualizados em gaiolas de arame (Figura 1), de [35 cm (alt) x 50 cm (larg) x 80 cm (comp)], sendo que na parte inferior destas gaiolas foi disposto um sombrite para coleta das fezes.



Figura 1: A) Instalações e distribuição dos coelhos nas gaiolas; B) Coelho aos 30 dias de idade, início do experimento.

Foram utilizados dois gramas do isolado do fungo *M. anisopliae*, produto Metarril® WP Organic, equivalente a $1,0 \times 10^8$ conídios, contendo 500 milhões de conídios viáveis por grama, simulando-se uma aplicação a campo, uma vez que este produto comercial é utilizado para controle de tripes e cigarrinhas da cana de açúcar e pastagens.

Os tratamentos constaram: fungo inativo (ração + fungo inativado), fungo ativo (ração + fungo viável) e testemunha (ração + água destilada). Para o tratamento com fungo inativo, o produto comercial foi submetido à autoclavagem, à temperatura de 121°C , por 20 minutos e 1 atm de pressão. Posteriormente, os dois gramas do fungo inativo foram diluídos em 6,0 mL de água destilada esterilizada com Tween®

80 (0,01%), sendo a suspensão adicionada em 10g de ração, formando uma mistura pastosa para que o fungo tivesse aderência ao alimento. Para o tratamento com fungo viável, foi seguido o mesmo procedimento, exceto o processo de inativação em autoclave (Figura 2). A testemunha constou de 10g de ração e adição de 6,0 mL de água destilada esterilizada contendo Tween® 80 (0,01%).

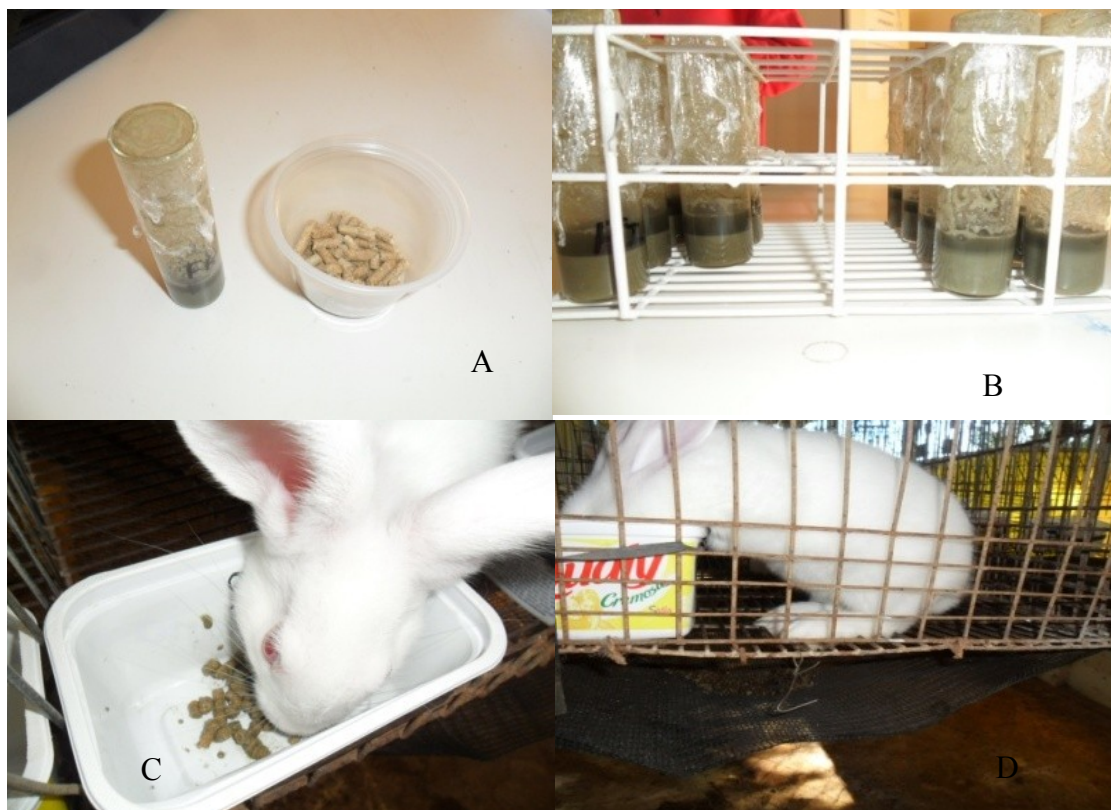


Figura 2: A) Fungo *M. anisopliae* (2 g), diluído em água destilada esterilizada com Tween® 80 e 10 g de ração; B) FI = Diluição do fungo inativado; FA = Diluição do fungo ativo; C) Coelho se alimentando nas primeiras horas da manhã, recebendo as 10 g de ração com o fungo; D) Sistema de sombrite sob a gaiola, para coleta das fezes.

Os coelhos, logo após o desmame, foram pesados e divididos em três grupos, referentes aos tratamentos. Durante 12 dias, receberam ração pastosa, sendo adicionada água destilada à ração para a adaptação a este tipo de alimentação. Passados os 12 dias de adaptação, os tratamentos foram incorporados à dieta dos coelhos por cinco dias. Para isto, 10g da ração, com o tratamento correspondente, foram fornecidos logo pela manhã, após a coleta das sobras de ração do dia anterior, sendo que 90g de ração pura foi fornecido logo após essa ingestão, totalizando 100g diárias de ração por animal. A adição do fungo em apenas 10g de

ração foi estrategicamente elaborada para que houvesse ingestão imediata e total, evitando a germinação do fungo por tempo de exposição em umidade e temperatura.

As fezes de cada coelho, alojadas nos sombrites, foram coletadas, durante os cinco dias de ingestão das dietas com os tratamentos e, também, dois dias após, nos primeiros horários da manhã. As fezes foram coletadas e armazenadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer (-10 °C) durante oito dias, para posteriores avaliações.

3.1 Análise dos animais

Após as coletas das fezes, os animais permaneceram por mais 18 dias sob observação, para verificar possíveis distúrbios locomotores, sinais clínicos, como anorexia, distúrbios gastrointestinais (vômito ou diarreia) e ainda lesões macroscópicas na pele, bem como total de sobrevivência e mortalidade (adaptado de COSTA et al.; 2010), sendo realizadas pesagens semanais. Para tal, os animais foram pesados semanalmente em balança digital, no período da manhã.

3.2 Análise das fezes

A fim de verificar a presença de fungos viáveis após a passagem pelo trato gastrointestinal dos coelhos, foram feitas 21 amostragens por tratamento, utilizando-se placas por animal/dia para inoculação das amostras coletadas. Para tal, utilizou-se 1g de fezes + 9 mL de água destilada esterilizada contendo Tween® 80 (0,01%), foram colocadas em tubos de vidro de fundo chato, agitadas em agitador tipo Vórtex. Um volume de 0,1 mL desta suspensão foi inoculada, com pipetador de volume ajustável, em placas Petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose, ágar) e, espalhada com alça de Drigalski, no método placa cheia, para o crescimento e

isolamento dos fungos (Figura 3). Estas placas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo B.O.D., à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 14 h de fotofase e U.R. de $60 \pm 10\%$, durante sete dias (ALVES, 1998). Após este período, avaliou-se a presença ou ausência de *M. anisopliae* e, o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por placa.

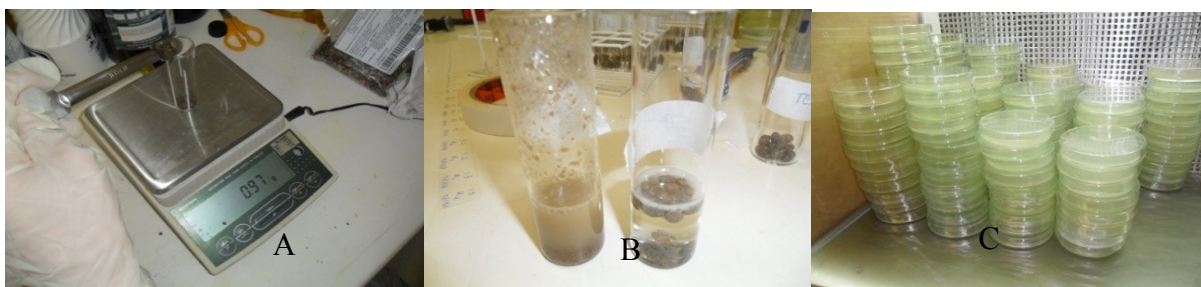


Figura 3: A) Pesagem de 1 g de fezes em tubos de vidro de fundo chato para posterior diluição; B) Amostras das fezes diluídas em água destilada e após agitação ; C) Placas de Petri com meio de cultura BDA para inoculação das amostras.

3.3 Avaliação de carcaça

Quando os coelhos atingiram 60 dias, foram abatidos no Abatedouro da UTFPR-DV, para avaliação de carcaça, pelo método de concussão cerebral, em seguida submetidos à sangria por corte das veias jugulares. A esola foi feita a partir dos membros posteriores, enquanto as patas dianteiras e a cabeça foram separadas. As pesagens de carcaça, de pele, de sangue (coletado durante sangria), parte distal da cauda, patas dianteiras e traseiras, trato gastrointestinal juntamente com o trato urogenital, cabeça, fígado, rins e órgãos do tórax e pescoço foram feitas com balança digital eletrônica para cálculo de rendimento (Figura 4).

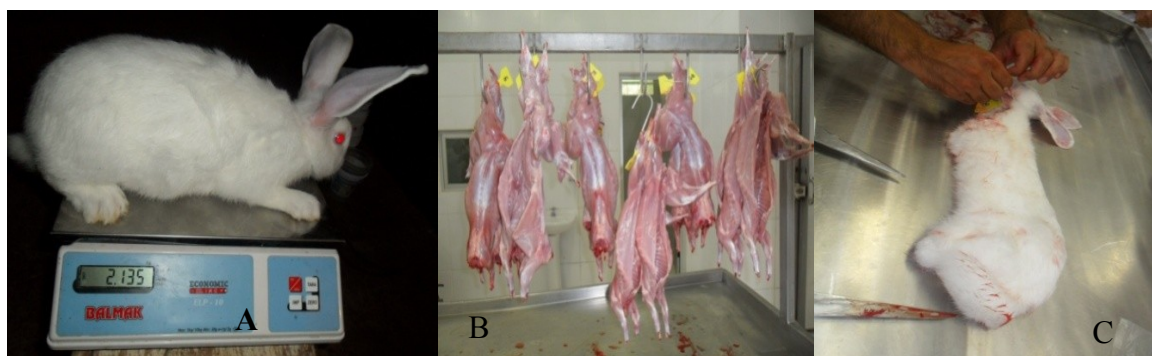




Figura 4: A) Animal com peso final ao abate; B) Carcaças quentes para pesagens; C – D – E – F) Pele, coleta de sangue, pesagem do sistema gastrointestinal e pesagens de fígados para determinação de rendimentos.

Depois do abate, as carcaças foram refrigeradas a temperatura entre 0 - 4°C, sendo a pesagem de carcaça fria feita 24 horas após abate. Com isso, verificou-se a perda por resfriamento; rendimento dos cortes (dianteiro, costela, lombo e traseiro); percentagem de músculo e de osso pela relação músculo/osso a partir do membro posterior direito, índices de compacidade de carcaça e de perna (adaptado de BLASCO e OUHAYOUN, 1993).

Para as análises de desempenho e rendimento (Figura 5), as seguintes equações foram utilizadas:

–Perda por resfriamento: $\text{Peso carcaça quente} - \text{Peso de carcaça fria}$;

- Rendimento dos cortes: ; onde: $CI =$

$$\% \text{ Cortes} = \frac{CI}{PCF} * 100 \quad \% \text{ Cortes} = \frac{CI}{PCF} * 100$$

corte individual, PCF = Peso de carcaça fria.

- Percentagem de músculo/osso: e , onde:

$$\frac{PM}{PP} * 100 \quad \frac{PM}{PP} * 100 \quad \frac{PO}{PP} * 100 \quad \frac{PO}{PP} * 100$$

PM = peso do músculo; PO = peso do osso; PP = peso da perna;

- Relação carne/osso: , onde: PM = peso de músculo; PO = peso de

$$\frac{PMPM}{PO PO}$$

osso;

- Índice de compacidade de carcaça: , onde: PCF = peso de

$$\frac{PCF}{CIC} * 100 \quad \frac{PCF}{CIC} * 100$$

carcaça fria; CIC = comprimento inteiro de carcaça;

- Índice de compacidade de perna: , onde: LG = largura de garupa; CP =

$$\frac{LGLG}{CPCP}$$

comprimento de perna.

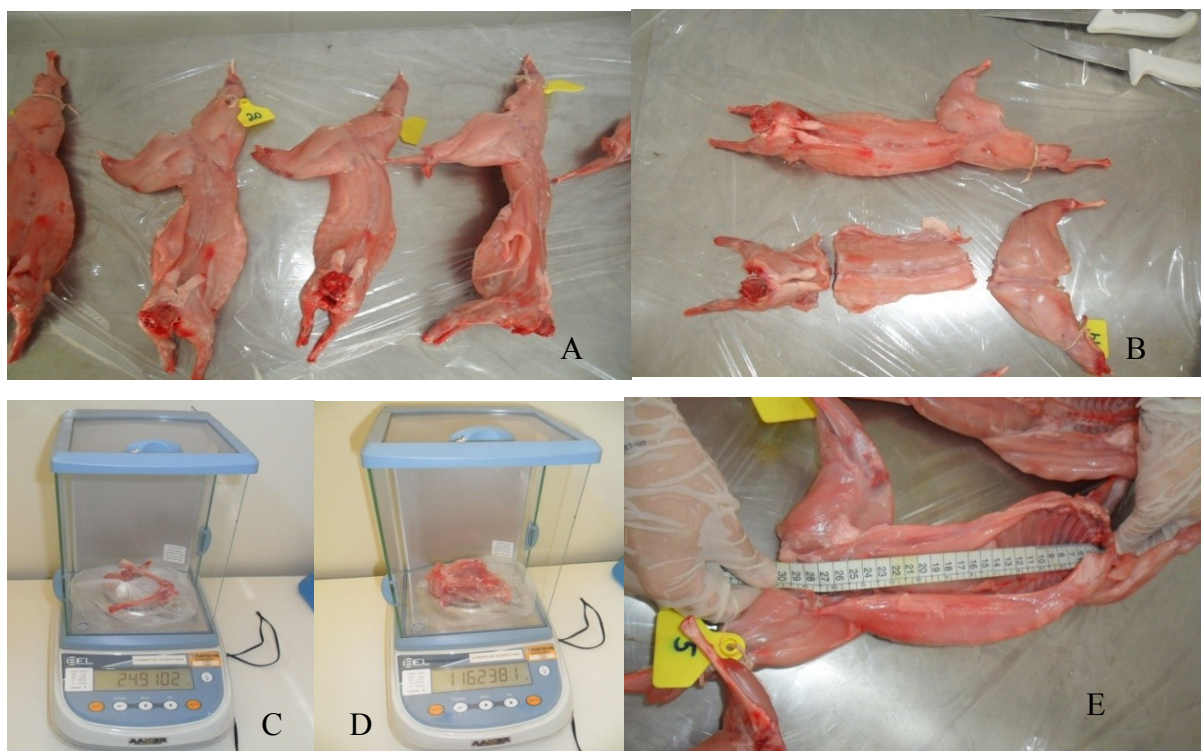


Figura 5: A) Carcaça resfriada após 24 horas, prontas para fazer os cortes; B) Principais cortes: dianteiro, lombo e traseiro; C - D) Pesagens de ossos e músculos para determinar relação carne/osso; E) Medidas de comprimento de carcaça para determinação de compactidade.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico Bioestat 5.0® (AYRES et al., 2007), e quando significativo, as médias foram analisadas pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de probabilidade de erro. Os dados qualitativos foram analisados por meio de estatística descritiva.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise dos animais:

Os coelhos dos três tratamentos não apresentaram macroscopicamente lesão de pele, anorexia, diarreia e/ou vômitos, não havendo também distúrbios locomotores e mortalidade (Tabela 1).

Tabela 1: Avaliação de comportamento e sobrevivência de *O. cuniculus* submetidos à adição de *M. anisopliae* ativo e inativo na alimentação durante cinco dias.

Tratamentos	Resultados Observados		
	Distúrbios Locomotores	Indivíduos Mortos	Sobrevivência (%)
Fungo Ativo	Negativo	0	100
Fungo Inativo	Negativo	0	100
Testemunha	Negativo	0	100

Segundo Pereira et al. (1998), a não alteração de comportamento e a sobrevivência de vertebrados quando expostos aos fungos ocorre pelo fato das condições de desenvolvimento do fungo, como temperatura, umidade e pH do sistema digestório, serem diferentes em vertebrados quando comparados aos hospedeiros alvos, como os insetos.

Alves et al. (2008), aplicando doses de *M. anisopliae* sobre peixes também não verificaram mortalidade e outros efeitos negativos, concluindo que o fungo se mostrou seguro para esse vertebrado não alvo.

Da mesma forma, frangos que receberam oralmente suspensões de *B. bassiana*, não apresentaram alteração, tanto comportamental como lesões nos órgãos (COSTA et al., 2010).

Os fungos entomopatogênicos apresentam alta capacidade de produção de enzimas, como lipases, proteases, amilases e quitinases, o que facilita a penetração do fungo através do tegumento dos insetos. Uma característica do *M. anisopliae*, é a produção de uma protease, a PR1, a qual degrada a cutícula do inseto, possibilitando a entrada do fungo, que com a produção de toxinas resultantes do seu crescimento na hemolinfa, leva à paralisação diversos órgãos dos insetos (ALVES; PEREIRA, 1998), sendo que esses processos ainda não apresentam relatos em vertebrados.

4.2 Presença de *M. anisopliae* nas fezes de *O. cuniculus*:

Durante os sete dias de avaliações das fezes, foram encontrados conídios viáveis de *M. anisopliae* somente no tratamento que recebeu o fungo ativo, demonstrando a passagem do fungo pelo trato gastrointestinal dos coelhos e, ressaltando a inexistência de alterações de comportamento e lesões visuais macroscópicas aos órgãos desses animais (Tabela 2). Foram encontrados conídios viáveis 48 horas após a última ingestão, o que indica que nesse período não houve germinação do mesmo no trato gastrointestinal dos coelhos, devido às condições inadequadas para que o fungo iniciasse tal processo (Figura 6).

Tabela 2: Presença/ausência de conídios viáveis nas fezes de *O. cuniculus* durante cinco dias e até 48 horas após a última ingestão de *M. anisopliae* ativo e inativo.

Tratamentos	Dias de avaliação							Total
	1	2	3	4	5	6	7	
Fungo Ativo 1	+	+	+	+	+	+	-	+
Fungo Ativo 2	+	+	+	-	+	+	+	+
Fungo Ativo 3	+	+	+	+	+	+	-	+
Fungo Ativo 4	+	+	+	-	+	+	-	+
Fungo Ativo 5	+	+	+	+	+	+	-	+
Fungo Ativo 6	+	+	+	+	+	-	+	+
Fungo Ativo 7	+	+	+	+	-	+	+	+
Fungo Inativo 1	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungo Inativo 2	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungo Inativo 3	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungo Inativo 4	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungo Inativo 5	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungo Inativo 6	-	-	-	-	-	-	-	-
Fungo Inativo 7	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 1	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 2	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 3	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 4	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 5	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 6	-	-	-	-	-	-	-	-
Testemunha 7	-	-	-	-	-	-	-	-

= presença de conídios nas fezes; - = ausência de conídios nas fezes.

Segundo Alves (1998), para a germinação dos fungos é necessário uma interação entre temperatura, umidade, oxigênio, pH e nutrição, sendo que o

processo de germinação de *M. anisopliae*, no trato digestório, não foi observado visualmente neste trabalho, pois o organismo dos coelhos não oferece as condições consideradas adequadas.

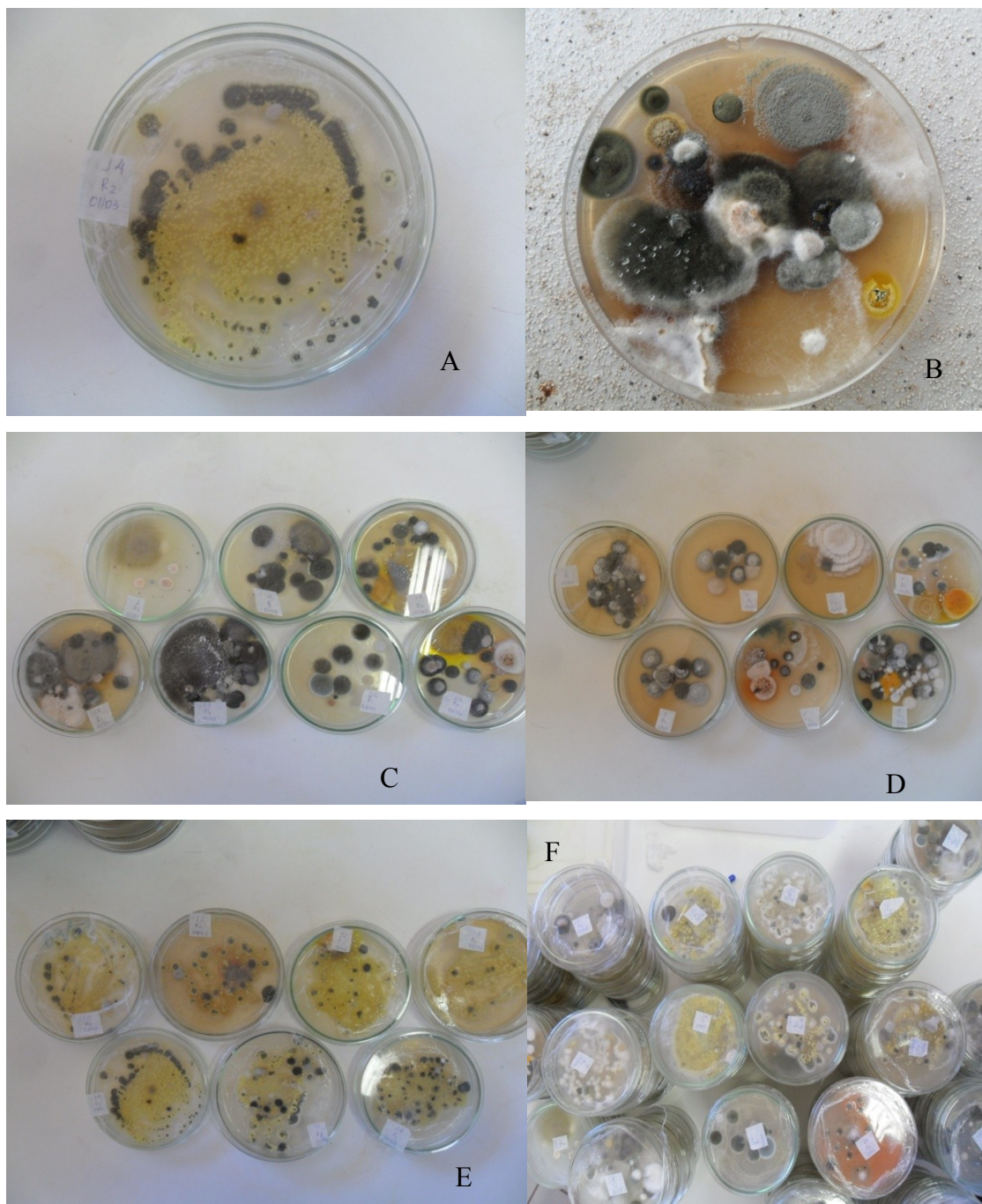


Figura 6: A) Presença de *M. anisopliae*; B) Ausência de *M. anisopliae* com presença de fungos contaminantes e saprofitos; C, D) Amostra do plaqueamento das fezes, do grupo testemunha e tratamento inativado respectivamente; E) Presença do fungo *M. anisopliae*; F) Todas as placas, com visão perceptível de *M. Anisopliae*.

4.3 Avaliação de carcaça:

Não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados quanto ao peso final, ganho médio diário e conversão alimentar, e os animais apresentaram uniformidade (Tabela 3), portanto não houve interferência do fungo *M. anisopliae*. Rezende (2009), aplicando suspensões de conídios viáveis de *B. bassiana*, *Cladosporium* sp. e *Trichoderma* sp. via oral e nasal à frangos, não encontrou diferença significativa nos ganhos de peso e consumo de ração.

Tabela 3: Médias (\pm EP) de peso final, ganho médio diário (GMD) e conversão alimentar (CA) de *O. cuniculus* submetidos à adição de *M. anisopliae* ativo e inativo na alimentação.

Variáveis			
Tratamentos	Peso Final (kg)	GMD (g/dia)	CA (kg)
Fungo Ativo	1,900 \pm 0,05 a	41,16 \pm 1,49 a	2,16 \pm 0,07 a
Fungo Inativo	1,935 \pm 0,04 a	43,38 \pm 1,39 a	2,00 \pm 0,04 a
Controle	1,922 \pm 0,04 a	42,43 \pm 0,97 a	2,02 \pm 0,05 a
<i>P</i>	0,8856	0,5021	0,1232

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Costa et al. (2010), em administração de *B. bassiana*, ativo e inativado sobre *G. domesticus*, não observaram implicações do fungo sobre o peso das aves nas duas primeiras avaliações. No entanto, a partir da segunda semana, as aves tratadas com fungo ativo apresentaram os maiores pesos quando comparados ao grupo controle, assim também como para ganho de peso das aves, o que indica que não houve alterações fisiológicas pela ingestão dos conídios.

Os coelhos são mamíferos de rápido crescimento, precocidade na reprodução e gestação curta, sendo uma espécie que exige manejos simples de criação e instalações, tornando-se uma atividade prática e, com isso, possibilita a produção de carne com os principais cortes comerciais, sendo eles, dianteiro, costela, lombo e traseiro (SIMONATO, 2008). Para verificar o rendimento destes cortes, foi feita avaliação de carcaça resfriada, adaptado de acordo com Blasco e Ouhayon (1993).

Com relação aos cortes de dianteiro, lombo e traseiro também foram avaliados e verificou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos.

Porém, quando avaliado os rendimentos de costela, o grupo controle apresentou diferença significativa, apresentando menor rendimento (Tabela 4). Essa diferença é dada pela pouca deposição de carne nesse corte, não sendo comercialmente importante, uma vez que as carcaças são comercializadas inteiras ou nos três principais cortes (dianteiro, lombo e traseiro). Os animais apresentaram uniformidade, que pôde ser observada pelo resultado não significativo dos cortes quando analisados separadamente dentro de cada grupo.

Tabela 4: Rendimentos médios (\pm EP) de dianteiro, costela, lombo e traseiro de *O. cuniculus* submetidos à adição de *M. anisopliae* ativo e inativo na alimentação.

Tratamentos	Variáveis analisadas			
	Dianteiro (%)	Costela (%)	Lombo (%)	Traseiro (%)
Fungo Ativo	27,9 \pm 0,28 a	15,4 \pm 0,39 a	31,6 \pm 0,29 a	39,8 \pm 0,30 a
Fungo Inativo	28,4 \pm 0,37 a	15,4 \pm 0,33 a	31,6 \pm 0,39 a	39,5 \pm 0,44 a
Controle	27,7 \pm 0,42 a	14,0 \pm 0,38 b	31,9 \pm 0,54 a	39,9 \pm 0,30 a
<i>P</i>	0,3153	0,0287	0,8595	0,6944

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Para determinação da relação carne/osso é utilizado o membro traseiro, que de acordo com Blasco e Ouhayon (1993) se obtém uma predição de carne em relação à carcaça. Na avaliação da relação carne/osso dos tratamentos, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5), indicando que houve um depósito de proteínas e minerais igualmente distribuídos entre os grupos, sem alterações pela presença de *M. anisopliae* na ração.

Tabela 5: Relação média (\pm EP) de carne/osso de *O. cuniculus* submetidos à adição de *M. anisopliae* ativo e inativo na alimentação.

Tratamentos	Variáveis analisadas		
	Carne (%)	Osso (%)	Relação carne/osso
Fungo Ativo	81,5 \pm 0,58 a	16,0 \pm 0,28 a	5,0 \pm 0,08 a
Fungo Inativo	82,6 \pm 0,45 a	16,2 \pm 0,29 a	5,0 \pm 0,09 a
Controle	82,9 \pm 0,59 a	15,6 \pm 0,34 a	5,3 \pm 0,12 a
<i>P</i>	0,1810	0,3549	0,2204

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Os índices de rendimento de carcaça, como compactidade de carcaça e de perna também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos avaliados. Estes resultados eram esperados uma vez que os animais avaliados eram da mesma idade e raça. As vísceras também apresentaram pouca variação de peso, pelo mesmo motivo anterior (Tabela 6). Rezende (2009) também não encontrou diferenças significativas quanto ao rendimento de carcaça e peso dos órgãos em aves avaliadas e sem lesões no pulmão e bursa de Fabrícus.

Tabela 6: Médias das características e rendimentos médios (\pm EP) de *O. cuniculus* submetidos à adição de *M. anisopliae* ativo e inativo na alimentação.

Tratamentos	Variáveis				
	PA (Kg)	RC (%)	V (%)	ÍCC (g/cm)	ÍCP (g/cm)
Fungo Ativo	1,8387 \pm 0,05 a	47,9 \pm 0,50 a	32,1 \pm 0,67 a	27,4 \pm 0,07 a	0,57 \pm 0,03 a
Fungo Inativo	1,8764 \pm 0,04 a	48,1 \pm 0,33 a	33,1 \pm 0,63 a	28,4 \pm 0,05 a	0,57 \pm 0,01 a
Controle	1,8663 \pm 0,05 a	47,5 \pm 0,72 a	32,8 \pm 0,56 a	27,6 \pm 0,07 a	0,59 \pm 0,02 a
P	0,8756	0,7695	0,5474	0,5256	0,6274

PA= Peso ao abate; RC= Rendimento de carcaça; V= Vísceras; ICC= Índice de compactidade da carcaça; ICP= Índice de compactidade da perna.

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05).

Rezende (2009), trabalhando com diferentes concentrações de conídios de *B. bassiana*, sobre frangos, também não encontrou diferença significativa entre os tratamentos e estes não diferiram do tratamento controle para os pesos absolutos e relativos de carcaça e órgãos, mostrando que o fungo não influencia no desenvolvimento da ave.

O fungo entomopatogênico *M. anisopliae* vem sendo amplamente utilizado em pastagens para o controle de pragas, sendo também estudado quanto à sua segurança na alimentação dos animais. Com o trabalho desenvolvido, quando em contato com organismos não alvos, nesse caso os mamíferos, não causam qualquer efeito, tanto comportamentais quanto de desempenho de coelhos. Além de amenizar problemas ambientais com resíduos químicos, gera valor agregado no produto, pela qualidade final que apresentam e, ainda são seguros para os animais da propriedade.

Esses resultados vêm reforçar a segurança da utilização de fungos entomopatogênicos sobre organismos não alvos, já observada em outros grupos de animais juntamente com o controle biológico de pragas. Tendo essa resposta positiva do fungo *M. anisopliae* sobre vertebrados, sem ter causado qualquer efeito negativo e saindo viáveis nas fezes dos animais, propicia a utilização do esterco oriundo da produção para o beneficiamento de pastagens, lavouras, onde estará em contato com as pragas e, indiretamente fazendo o controle de organismos alvos.

5 CONCLUSÕES

M. anisopliae apresentou-se viável nas fezes de *O. cuniculus* após passar pelo trato gastrointestinal e até 48 horas após a última ingestão.

M. anisopliae foi seguro para *O. cuniculus*, organismo não alvo, sem ter apresentado qualquer efeito negativo sobre o desempenho deste animal.

REFERÊNCIAS

ALVES, Sérgio B. **Controle Microbiano de Insetos**. Editora Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiróz, FEALQ, Piracicaba, SP, 1998.

ALVES, Sérgio B.; PEREIRA, Roberto M. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. Cap. 2, v. 4, p. 39-52. *In*: Controle Microbiano de Insetos. FEALQ, Piracicaba, SP, 1998.

ALVES, Sérgio B.; LOPES, Rogério B.; VIEIRA, Solange A.; TAMAI, Marco A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. Cap. 3, v. 14, p. 69-110. *In*: Controle Microbiano de Pragas na América Latina, Avanços e Desafios. FEALQ, Piracicaba, SP, 2008.

ALVES, L.F.S.; FELIX, G.A.; SENO, L.O.; ALMEIDA PAZ, I.C.L.; SANTANA, M.R.; NARIMATSU, K.H. Cecotrofia em Capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). Revisão de

Literatura. *In*: **SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS DA UNESP – DRACENA VII ENCONTRO DE ZOOTECNIA, 2010**. Simpósio de Ciências da Unesp, SP, 2010.

ALVES, Sérgio B; LOPES, Rogério B. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina – Avanços e Desafios**. Edição 14. Piracicaba, SP, FEALQ, 2008.

AYRES, M. & AYRES Jr., M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. BioEstat 5.0. **Aplicações Estatísticas nas áreas de Ciências Biológicas e Médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília. 2007.

ASSUNÇÃO, W.C.G.; HPADAYAY, H.P. Recentes avanços no uso de fungos como agentes de controle biológico de insetos e nematóides. *In*: SEMINÁRIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2., 1990, Brasília. **Resumos**. Brasília, p.113, 1990.

ATHAYDE, Ana C. R.; FERREIRA, Ubirany L.; LIMA, Elza A. L. A. Fungos Entomopatogênicos, uma alternativa para o controle do carrapato bovino – *Boophilus microplus*. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, n. 1, 2001.

BACILIERI, S. Controle Biológico de insetos e ácaros. **Instituto Biológico, Boletim Técnico**, v.15, jul 2006.

BLASCO, A; OUHAYOUN, J. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research revised proposal. **World Rabbit Science**, v. 4, n. 2, p. 93-99, 1993.

CANINI, Fabio L. S.; DANIELI, Thiago; VERCESI, Danilo B.; GOMES, Athos A. L.; RAIZARO, Valmor C.; PINTO, Alexandre de S. Eficiência dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* no controle da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* em milho de segunda safra. *In*: Congresso Brasileiro de Entomologia, 22, Uberlândia, MG, 2008. **Anais...** Congresso Brasileiro de Entomologia, MG, 2008.

CASTRILLO, L. A.; ROBERTS, D. W.; VANDENBERG, J. D. The fungal past, present, and future: Germination, ramification, and reproduction. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 46-56, 2005.

COSTA, Jucelaine H.; ALVES, Luis F. A.; DAROS, Alaxsandra A. Safety of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Gallus domesticus* L. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, v.53, n.2, p. 465-471, 2010.

DUARTE, M. Criação de Coelhos (cunicultura), 2008. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/zootecnia/criacao-de-coelhos-cunicultura/>>. Acesso: 25 out 2012.

EMATER, Manual Inseticida Natural. Práticas alternativas para a produção agropecuária agroecológica. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/52632975/Manual-inseticida-natural>>. Acesso em: 16 jul 2012.

FARIA, Marcos R.; MAGALHÃES, Bonifácio P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 22, p. 18-21, 2001.

FARIA, Marcos R. de; MAGALHÃES, Bonifácio P.; ALVES, Roberto T.; SCHMIDT, Francisco G.V.; SILVA, João B. T. da; FRAZÃO, Heloísa. Effect of two dosages of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* against *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n. 11, p. 1531-1539, 2002.

FENILI, R.; MENDES, C. J.; MIQUELLUTI, D. J.; MARIANO-DA-SILVA, S.; XAVIER, Y.; RIBAS, H. S.; FURLAN, G. *Deladenus siricidicola*, Bedding (Neotylenchidae) parasitism evaluation in adult *Sirex noctilio*, Fabricius, 1973 (Hymenoptera: siricidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 60, n. 4, p. 683-687, 2000.

FERREIRA, Luiz C.B. Leite Orgânico. 1ª Edição, Brasília, DF, EMATER, 2004.

GALLO, Domingos; NAKANO, Octavio; NETO, Sinval S. et al. Entomologia Agrícola. Editora Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiróz, FEALQ, Piracicaba, SP, volume 10, p. 519-541, 2002.

IEDE, Edson T.; PENTEADO, Susete do R. C.; FILHO, W. R.; SCHAITZA, E. G. Situação atual do Programa de Manejo Integrado de *Sirex noctilio* no Brasil. In: SIMPÓSIO DO CONE SUL SOBRE MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS DE PINUS, 1, 2000. **Anais...** Série Técnica IPEF, v. 13, n.323, p. 11-20, 2000.

IFOAM, INTERNATIONAL FEDERATION OF ORGANIC AGRICULTURE MOVEMENTS. Normas Básicas para a Produção e Processamento de Alimentos Orgânicos. **General Assembly em Mar Del Plata**, Argentina, 1998.

JOHNSON, Dan L. Assessment of health and growth of ring-necked pheasants following consumption of infected insects or conidia of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* and *Beauveria bassiana*, from Madagascar and North America. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Part A, v. 65, p. 2145-2162, 2002.

KATIKI, Luciana M. Produção Orgânica de Carne Bovina. FMVZ-Unesp. Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, 2005.

LIMA, D. A. L. L.; MORAES, C. L. A Viabilidade Da Cotonicultura Para A Agricultura Familiar No Sudoeste De Goiás, FESURV, Rio Verde, GO, 2007.

LOPES, P.S.N.; LEITE, G.L.D.; SÁ, V.G.M de.; SILVA, A.C da.; SOARES, M.A. Controle Fitossanitário Alternativo em Comunidades de pequenos Produtores Rurais no Norte de Minas Gerais. In: Encontro de Extensão da Universidade Federal de Minas Gerais, 7, Belo Horizonte, MG, 2004. **Anais...** Extensão da Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.

LORD, J. C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond. The path of microbial control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 19-29, 2005.

MACHADO, L.A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Instituto Biológico**, v. 6, n. 2, p. 103-106, São Paulo, 2007.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Orgânicos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/organicos>>. Acesso em: 07 out 2011.

MELLO, Hélcio V.; SILVA, José F. Criação de Coelhos. Aprenda Fácil Editora, Viçosa, MG, p. 71-101, 2003.

NUNES, Márcia S.; COSTA, Gisela L.; BITTENCOURT, Vânia R.E.P.; SOUZA, Edson J. Avaliação in vitro dos fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium corylophilum* em larvas de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Parasitologia Latinoamericana*, v.57, n.3/4, p.134-140, 2002.

ORMOND, José G. P.; PAULA, Sergio R. L. de; FILHO, Paulo F.; ROCHA, Luciana T. M. da. Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES Setorial**, n. 15, p. 3-34, Rio de Janeiro, 2008.

PEREIRA, Roberto M.; ALVES, Sérgio B. Segurança no emprego de entomopatógenos. Cap. 6, v.4, p. 171-194. *In: Controle Microbiano de Insetos*. FEALQ, 2º Edição, Piracicaba, SP, 1998.

PEREIRA, Marcelo F. A.; BASSAN, Edmar E. M.; BORGES, Rodrigo dos S.; DOTOLI, Wagner. Manejo de *Mocis latipes* e *Spodoptera sp.* com *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (ISOLADO IBCB 66), em pastagem de grama tifton. *In: Congresso Brasileiro de Entomologia*, 22, Uberlândia, MG, 2008. **Anais...** Congresso Brasileiro de Entomologia, MG, 2008.

PEREIRA, W. H.; MOREIRA, L. F.; FRANÇA, F. C. T. Práticas alternativas para a produção agropecuária, Agroecologia. **Manual Embrapa**, p. 134, Minas Gerais, 2009.

PROJETOS MULTIDISCIPLINARES. **A cunicultura no Brasil**. Disponível em: <<http://projetosmultidisciplinares.pbworks.com/w/page/19296408/A%20CUNICULTURA%20NO%20BRASIL%204>>. Acesso em: 04 out. 2011.

PROTO, V. Aspetti applicative della ciecotrofia nell allevamento del coniglio. **Rivista di Coniglicoltura**, v.11, p.26-35, 1984.

REZENDE, Sabrina R. F. Fungos Entomopatogênicos no controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) como estratégia de biossegurança na Avicultura. Instituto de Zootecnia, Programa de Pós Graduação em Zootecnia UFRRJ, **Dissertação**, Seropédica, RJ, 2009.

SAIKI, Lyrian. Criação de coelhos requer cuidados, 2008. Disponível em: <<http://www.parana-online.com.br/canal/rural/news/203397/?noticia=CRIACAO+DE+COELHO+REQUER+CUIDADOS>>. Acesso em: 26 de agos 2012.

SANO, Alexandre H.; ALMEIDA, José E. M. de.; LOPES, Eli S. Eficiência de bioinseticidas a base de *Metarhizium anisopliae* produzidos em fermentação líquida no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 22, Uberlândia, MG, 2008. **Anais...** Congresso Brasileiro de Entomologia, MG, 2008.

SIGNOR, Arcangelo A.; ZIBETTI, Ana P.; FEIDEN, Aldi. Produção Orgânica Animal. GFM Gráfica & Editora, Instituto Água Viva, Toledo, PR, 2011.

SILVA, Roberto A. Cunicultura, Breve Panorama. SEAB/DERAL, Curitiba, 2006.

SILVA, Aldeni B.; BESERRA, Eduardo B.; DANTAS, José P. Utilização de *Metarhizium anisopliae* e extratos vegetais para o controle de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. Engenharia Ambiental, Espírito Santo do Pinhal, v.5, n. 1, p. 77-85, 2008.

SILVA, Roberto de Andrade. A pecuária paranaense em destaque, 2012. Disponível em: <
http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/qas/uploads/2991/cunicultura_05mar2012.pdf>. Acesso em: 26 de agos 2012.

SIMONATO, M. T. Rendimento e qualidade da carcaça de coelhos submetidos a diferentes períodos de jejum pré-abate. **Dissertação**. Seropédica, RJ, 2008.

THOMAZONI, Dhyego; FORMENTINI, Marina A.; MAMPRIM, Ana P. Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* Visando o Controle da Lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Smith,1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, 2009.

VIEIRA, M. I. Produção de Coelhos: Caseira, Comercial, Industrial. Prata Editora e Distribuidora LTDA, 9ª Edição, São Paulo, SP, 1995.

VIEIRA, J.S.; DIONÍSIO, M.A.; PEREIRA, R.A.N.; SANTOS, E.C. Manual de Utilização de Subprodutos de Coelhos, 2000.

ZURDO, F.F.; FRANCISCO, O. Manejo Integrado de Pragas (MIP) em cultivares de café no município de Timburi, SP: Verificação do nível de conhecimento adquirido por cafeicultores, sua aplicação e eficiência. **Departamento de Ciências Biológicas FIO - Faculdades Integradas de Ourinhos, Ourinhos, SP, 2010.**

